

Inkorporation von konjugierten Linolsäuren in Körperlipide unter
besonderer Berücksichtigung der Isomerenverteilung



seit 1548

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt dem Rat der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Diplom-Trophologin

Jana Kraft

geboren am 17. Juli 1974 in Friedrichroda

Tag der Verteidigung: 04.02.2004

Betreuer: Prof. Dr. G. Jahreis

Gutachter: Prof. Dr. J. K. G. Kramer

Gutachter: Prof. Dr. K. Eder

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-------------|
| Abbildungsverzeichnis | IV |
| Tabellenverzeichnis | VI |
| Abkürzungsverzeichnis | VIII |
| 1 EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG | 9 |
| 2 THEORETISCHE GRUNDLAGEN ZU CLA – STAND DER FORSCHUNG | 9 |
| 2.1 Chemie und Nomenklatur | 9 |
| 2.1.1 Biosynthese im Pansen von Wiederkäuern..... | 9 |
| 2.1.2 Biosynthese im Gewebe..... | 9 |
| 2.1.3 Chemische Synthese | 9 |
| 2.2 Vorkommen und Aufnahme | 9 |
| 2.2.1 Vorkommen und Variation von CLA im Wiederkäuerfett..... | 9 |
| 2.2.2 CLA-Quellen in der Nahrung | 9 |
| 2.2.3 CLA-Aufnahme | 9 |
| 2.3 Physiologische Eigenschaften - Einfluss auf den Lipidstoffwechsel ... | 9 |
| 2.3.1 Einfluss von CLA auf das Fettgewebe..... | 9 |
| 2.3.2 Eicosanoid-Präkursoren | 9 |
| 2.3.3 PPAR (Peroxisomen-Proliferator aktivierte Rezeptoren)..... | 9 |
| 2.4 Analytik..... | 9 |
| 2.4.1 Kapillargaschromatographie-Flammenionisationsdetektion (GC-FID) | 9 |
| 2.4.2 Silberionen-Hochleistungsflüssigchromatographie (Ag ⁺ -HPLC) | 9 |
| 2.4.3 Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS), Gaschromatographie-Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometrie (GC-FTIR), Kernresonanzspektroskopie (NMR) | 9 |
| 3 MATERIAL UND METHODEN | 9 |
| 3.1 Humaninterventionsstudie (Absorptionsversuch)..... | 9 |
| 3.1.1 Probandencharakteristik..... | 9 |
| 3.1.2 Studiendesign..... | 9 |
| 3.1.3 Probenmaterial | 9 |

| | | |
|----------|---|----------|
| 3.2 | Rattenversuch..... | 9 |
| 3.2.1 | Tiermaterial, Haltung und Futter | 9 |
| 3.2.2 | Versuchsdesign | 9 |
| 3.2.3 | Probennahme..... | 9 |
| 3.3 | Versuch mit fistulierten Kühen | 9 |
| 3.3.1 | Tiere, Haltungsbedingungen und Futter | 9 |
| 3.3.2 | Versuchsdesign | 9 |
| 3.3.3 | Probennahme..... | 9 |
| 3.4 | Analytik..... | 9 |
| 3.4.1 | Präanalytik | 9 |
| 3.4.2 | Bestimmung der Nährstoffe und des physikalischen Brennwertes..... | 9 |
| 3.4.3 | Analytik der Fettsäurenverteilung einschließlich CLA-Isomeren | 9 |
| 3.4.3.1 | <i>Lipidextraktion</i> | 9 |
| 3.4.3.2 | <i>Derivatisierung</i> | 9 |
| 3.4.3.3 | <i>Dünnschichtchromatographische Reinigung</i> | 9 |
| 3.4.3.4 | <i>Chromatographische Analysenmethoden</i> | 9 |
| 3.4.4 | Indikatoren der Lipidperoxidation | 9 |
| 3.5 | Statistische Auswertung..... | 9 |
| 4 | ERGEBNISSE | 9 |
| 4.1 | Humaninterventionsstudie (Absorptionsversuch)..... | 9 |
| 4.1.1 | Aufnahme, Exkretion und scheinbare Verdaulichkeit..... | 9 |
| 4.1.2 | Fettsäurenverteilung in den Serumlipiden | 9 |
| 4.1.3 | Fettsäurenverteilung in den Fäzeslipiden..... | 9 |
| 4.2 | Rattenversuch..... | 9 |
| 4.2.1 | Futteraufnahme und Körpergewicht | 9 |
| 4.2.2 | Scheinbare Verdaulichkeit..... | 9 |
| 4.2.3 | Zusammensetzung der Karkassen..... | 9 |
| 4.2.4 | Fettsäurenverteilung in den Geweben, im Blut und in den Fäzes..... | 9 |
| 4.2.4.1 | <i>Gewebe</i> | 9 |
| 4.2.4.2 | <i>Serum, Erythrozytenmembran</i> | 9 |
| 4.2.4.3 | <i>Fäzes</i> | 9 |
| 4.2.5 | CLA-Isomerenverteilung im Gewebe, Blut und in den Fäzes..... | 9 |
| 4.2.5.1 | <i>Gewebe</i> | 9 |
| 4.2.5.2 | <i>Serum, Erythrozytenmembran</i> | 9 |
| 4.2.5.3 | <i>Fäzes</i> | 9 |

| | | |
|----------------------------------|--|----------|
| 4.2.6 | Kalkulation der <i>tVA</i> - und <i>cVA</i> -Konversion..... | 9 |
| 4.2.7 | Prostanoid- und Prostaglandin-Metabolite im Harn | 9 |
| 4.3 | Versuch mit fistulierten Kühen | 9 |
| 4.3.1 | Milchleistung und Milchhaltsstoffe | 9 |
| 4.3.2 | Fettsäurenverteilung im Milchfett..... | 9 |
| 4.3.3 | CLA-Isomerenverteilung im Milchfett | 9 |
| 5 | DISKUSSION | 9 |
| 5.1 | Humaninterventionsstudie (Absorptionsversuch)..... | 9 |
| 5.1.1 | Einfluss der CLA auf die Nährstoffbilanz | 9 |
| 5.1.2 | Einfluss der CLA auf die Fettsäurenzusammensetzung des Serums | 9 |
| 5.1.3 | Einfluss der CLA auf die fäkale Exkretion der Fettsäuren | 9 |
| 5.2 | Rattenversuch..... | 9 |
| 5.2.1 | Beeinflussung der Nährstoffbilanz und Karkasszusammensetzung | 9 |
| 5.2.2 | Akkumulation von <i>tVA</i> und <i>cVA</i> | 9 |
| 5.2.3 | Bildung von CLA..... | 9 |
| 5.2.4 | <i>tVA</i> und <i>cVA</i> als Präkursoren für CLA..... | 9 |
| 5.2.5 | Beurteilung der Desaturaseaktivität | 9 |
| 5.2.6 | Extrapolation der Ergebnisse auf den Menschen..... | 9 |
| 5.2.7 | Einfluss auf ausgewählte Fettsäuren | 9 |
| 5.2.8 | Prostanoid- und Prostaglandin-Metabolite als Biomarker der Lipidperoxidation..... | 9 |
| 5.3 | Versuch mit fistulierten Kühen | 9 |
| 6 | ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK | 9 |
| 7 | QUELLENVERZEICHNIS | 9 |
| ANHANG | | |
| Selbständigkeitserklärung | | |
| Danksagung | | |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|---|
| Abbildung 2-1: Strukturvergleich von <i>c9,t11</i> - und <i>t10,c12</i> -CLA | 9 |
| Abbildung 2-2: Biosynthese der CLA im Wiederkäuer | 9 |
| Abbildung 2-3: Desaturierung von <i>t</i> VA zu CLA | 9 |
| Abbildung 2-4: CLA-Quellen in der Ernährung des Menschen | 9 |
| Abbildung 2-5: Hypothetisches Modell zur Wirkung von <i>t10,c12</i> -CLA auf Prä- /Adipozyten | 9 |
| Abbildung 2-6: Metabolismus der LA im Vergleich zu <i>c9,t11</i> - und <i>t10,c12</i> -CLA | 9 |
| Abbildung 3-1: Studiendesign der Humanstudie | 9 |
| Abbildung 3-2: Haltung der Ratten in Einzeltier-Stoffwechselkäfigen | 9 |
| Abbildung 3-3: Versuchsdesign und zeitlicher Verlauf des Rattenversuches | 9 |
| Abbildung 3-4: Prinzip der duodenalen Infusion | 9 |
| Abbildung 4-1: CLA-Gehalt (mg/g Fett) im Serum während der Kontroll- und CLA-Zulage-Periode | 9 |
| Abbildung 4-2: Zusammenhang zwischen CLA-Aufnahme und CLA-Gehalt im Serum (N = 8; <i>P</i> < 0,01) | 9 |
| Abbildung 4-3: Mittlere CLA-Exkretion in mg/g T und in mg/d bei normierter Fettausscheidung (5 g Fett/d) | 9 |
| Abbildung 4-4: Gewichtsentwicklung der Ratten | 9 |
| Abbildung 4-5: Prozentuale Konzentrationsänderungen an MUFA und PUFA in den verschiedenen Geweben bei höchster VA-Zulage | 9 |
| Abbildung 4-6: Netto-Zunahme an CLA im Rattenkörper und in den einzelnen Geweben | 9 |
| Abbildung 4-7: Prozentuale Verteilung der Isomerenanteile und <i>c9,t11</i> in den Lipiden des Serums und der Erythrozytenmembran in Abhängigkeit von der Supplementation [in % der Σ -CLA] | 9 |
| Abbildung 4-8: Prozentuale Verteilung der Isomerenanteile und ausgewählter CLA-Isomeren in den Fäzeslipiden in Abhängigkeit von der Supplementation [in % der Σ -CLA] | 9 |
| Abbildung 4-9: Prostanoid- und Prostaglandin-Metabolite im Harn | 9 |
| Abbildung 4-10: Einfluss der CLA-Infusion auf die Milchleistung und den Milchfettgehalt | 9 |

| | |
|---|---|
| Abbildung 4-11: Zusammenhang zwischen den Gehalten an CLA und <i>t</i> -C18:1 im Milchfett ($P < 0,01$) | 9 |
| Abbildung 4-12: Verteilung der CLA-Isomerenanteile im Milchfett während der Versuchsperioden | 9 |
| Abbildung 5-1: Ag ⁺ -HPLC-Chromatogramme zur CLA-Isomerenverteilung verschiedener Gewebelipide im Vergleich zu Fäzeslipiden | 9 |
| Abbildung 5-2: Quantitative Beziehung zwischen aufgenommener <i>t</i> VA-Menge und <i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA-Gehalt im Rattenkörper und in der Leber (N = 24, $P < 0,001$) | 9 |
| Abbildung 5-3: Möglicher Bildungsweg von <i>c</i> 9, <i>c</i> 11-C18:2 im Gewebe | 9 |
| Abbildung 5-4: Enzymatische und nicht-enzymatische Fettsäureoxidation | 9 |
| Abbildung 5-5: CLA-Isomeren-Chromatogramme von Milchproben vor, während und nach duodenaler Infusion eines CLA-Isomerengemisches | 9 |

Tabellenverzeichnis

| | | |
|---------------|---|---|
| Tabelle 2-1: | Mittlerer CLA-Gehalt in verschiedenen Lebensmittelgruppen | 9 |
| Tabelle 2-2: | Geschätzte CLA-Aufnahme in verschiedenen Ländern (mg/d) | 9 |
| Tabelle 2-3: | Entdeckungsgeschichte der CLA-Eigenschaften | 9 |
| Tabelle 3-1: | Probandencharakteristik zu Beginn der Studie (N = 8) | 9 |
| Tabelle 3-2: | Rohnährstoffgehalte des Ratten-Alleinfutters | 9 |
| Tabelle 3-3: | Experimentelles Design des Infusionsversuches | 9 |
| Tabelle 4-1: | Mittlere Aufnahme von Lebensmitteln, Nährstoffen und CLA pro Person und Tag | 9 |
| Tabelle 4-2: | Mittlere fäkale und renale Ausscheidung pro Person und Tag | 9 |
| Tabelle 4-3: | Mittlere Bilanz, scheinbare Verdaulichkeit und Wiederfindung der Nährstoffe pro Person und Tag | 9 |
| Tabelle 4-4: | Mittlere CLA-Isomeren-Verteilung im Serum (mg/g Fett; % der Σ -CLA) | 9 |
| Tabelle 4-5: | Mittlere tägliche fäkale Exkretion an CLA-Isomeren (mg/d; % der Σ -CLA) bei normierter Fettausscheidung von 5 g/d | 9 |
| Tabelle 4-6: | Körpergewicht, Futterraufnahme und <i>t</i> VA- bzw. <i>c</i> VA-Aufnahme | 9 |
| Tabelle 4-7: | Aufnahme, Exkretion und scheinbare Verdaulichkeit der Nährstoffe | 9 |
| Tabelle 4-8: | Zusammensetzung der Karkassen | 9 |
| Tabelle 4-9: | Gehalt an <i>t</i> VA und <i>c</i> VA in ausgewählten Geweben der Kontrollgruppe und der Zulagegruppen [mg/g Fett] | 9 |
| Tabelle 4-10: | Gehalte an Gesamt-CLA in den Geweben, Blut und Fäzes [mg/g Fett] | 9 |
| Tabelle 4-11: | Anteile an <i>t,t</i> -, <i>c/t</i> - und <i>c,c</i> -Isomeren in den verschiedenen Geweben [% der Σ -CLA] | 9 |
| Tabelle 4-12: | Scheinbare Wiederfindung von <i>t</i> 11- und <i>c</i> 11-Fettsäuren im Rattenkörper und Fettgewebe [%] | 9 |
| Tabelle 4-13: | Konversionsrate der im Gewebe gespeicherten <i>t</i> VA zu <i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA im Rattenkörper und in verschiedenen Geweben [%] | 9 |
| Tabelle 4-14: | Milchleistung und Milch Inhaltsstoffe während der Versuchsperioden | 9 |

| | | |
|--------------|--|---|
| Tabelle 5-1: | Literaturangaben zum CLA-Gehalt im peripheren Blut beim Menschen | 9 |
| Tabelle 5-2: | Einfluss von CLA auf die Serumfettsäuren | 9 |
| Tabelle 5-3: | Übersicht zum Fettsäuregehalt bzw. zur Fettsäurenverteilung in den Fäzeslipiden | 9 |
| Tabelle 5-4: | Studien zur Konversion von <i>t</i> VA in CLA an Mäusen (Karkass) | 9 |
| Tabelle 5-5: | Studien zur Konversion von <i>t</i> VA in CLA an Ratten (Karkass) | 9 |
| Tabelle 5-6: | Humanstudien zur Umwandlung von <i>t</i> VA zu <i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA | 9 |
| Tabelle 5-7: | Transferrate von CLA-Isomerenanteilen bzw. einzelnen CLA-Isomeren in die Milchlipide | 9 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------------------|---|
| AA | Arachidonsäure (arachidonic acid) |
| ACC | Actetyl-CoA-Carboxylase |
| Ag ⁺ -HPLC | Silberionen-Hochleistungs-Flüssigchromatographie (silver-ion high pressure liquid chromatography) |
| Ag ⁺ -TLC | Silberionen-Dünnschicht-Chromatographie (silver-ion-thin-layer-chromatography) |
| bFG | braunes Fettgewebe |
| <i>c,c</i> -Isomeren | <i>cis,cis</i> -konfigurierte Isomeren |
| CFA | <i>cis</i> -Fettsäure (<i>cis</i> -fatty acids) |
| CLA | konjugierte Linolsäuren (conjugated linoleic acids) |
| <i>c,t</i> -Isomeren | <i>cis,trans</i> -konfigurierte Isomeren |
| <i>c/t</i> -Isomeren | <i>cis,trans/trans,cis</i> -konfigurierte Isomeren (Mischisomeren) |
| <i>c</i> VA | <i>cis</i> -Vaccensäure |
| D-/MG-Lipase | Diacyl-/Monoacylglycerid-Lipase |
| FABP | Fettsäuren-bindendes Protein (fatty acid binding protein) |
| FAME | Fettsäurenmethylester (fatty acid methyl esters) |
| FAS | Fettsäurensynthetase (fatty acid synthetase) |
| GC-FID | Kapillargaschromatographie gekoppelt mit Flammenionisationsdetektor |
| GC-MS | Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometer |
| GC-FTIR | Gaschromatographie gekoppelt mit Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometer |
| GPAT | Glycerolphosphat-Acyltransferase |
| LA | Linolsäure (linoleic acid) |
| LCFA | langkettige Fettsäuren (long chain fatty acids) |
| LCMUFA | langkettige einfach ungesättigte Fettsäuren (long chain monounsaturated fatty acids) |
| LCPUFA | langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren (long chain polyunsaturated fatty acids) |
| LPL | Lipoproteinlipase |
| mV | Millivolt |
| MCFA | mittelkettige Fettsäuren (medium chain fatty acids) |

| | |
|----------------------|---|
| MFD | Milchfettdepression (milk fat depression) |
| MUFA | einfach ungesättigte Fettsäuren (monounsaturated fatty acids) |
| NMR | Kernresonanzspektroskopie (nuclear-magnetic resonance spectroscopy) |
| PGE ₂ | Prostaglandin E ₂ |
| PPAR | Peroxisomen-Proliferator-aktivierter Rezeptor |
| SCD | Δ 9-Desaturase (stearoyl CoA desaturase) |
| SCFA | kurzkettige Fettsäuren (short chain fatty acids) |
| SFA | gesättigte Fettsäuren (saturated fatty acids) |
| TBME | tert-Butylmethylether |
| TGL | Triacylglyceridlipase |
| TMG | Tetramethylguanidin |
| TMS-DAM | Trimethylsilyl-Diazomethan |
| <i>t</i> -C18:1 | <i>trans</i> -Isomeren der Ölsäure |
| <i>t,c</i> -Isomeren | <i>trans,cis</i> -konfigurierte Isomeren |
| <i>t,t</i> -Isomeren | <i>trans,trans</i> -konfigurierte Isomeren |
| TFA | <i>trans</i> -Fettsäuren (<i>trans</i> fatty acids) |
| TNF- α | Tumornekrosefaktor- α |
| <i>t</i> VA | <i>trans</i> -Vaccensäure (<i>trans</i> vaccenic acid) |
| VA | Vaccensäure (vaccenic acid) |
| wFG | weißes Fettgewebe |
| Δ 9-DI | Δ 9-Desaturaseindex |
| Σ -CLA | gesamt-CLA |

1 EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG

Im Jahre 1935 wurde erstmals das Vorkommen von Fettsäuren mit konjugierten Doppelbindungen in Wiederkäuerprodukten beschrieben (BOOTH et al. 1935). Ende der 80er Jahre isolierte die Arbeitsgruppe von Pariza aus einem Extrakt von gegrilltem Rindfleisch eine Substanzgruppe, die später als konjugierte Linolsäuren (conjugated linoleic acids, CLA) klassifiziert wurde (HA et al. 1987). CLA gehören unter physiologischem Gesichtspunkt zur Gruppe der *trans*-Fettsäuren (TFA). Während für TFA überwiegend negative Effekte beschrieben werden, erbrachten zahlreiche Untersuchungen - vor allem an Zelllinien und an Tiermodellen - gut gesicherte Nachweise, dass CLA einen positiven Einfluss auf den Stoffwechsel ausüben. Ein wachsendes wissenschaftliches Interesse an CLA wird durch die besonders in den letzten fünf Jahren exponentiell steigende Publikationszahl deutlich. Bereits im letzten Jahr erschienen mehr als 200 Veröffentlichungen zu CLA. Im Mittelpunkt der Forschungen stehen derzeit die antikanzerogenen, antidiabetogenen, immun- und die Körperzusammensetzung modulierenden Wirkungen der CLA. Obwohl bis heute die genauen Wirkmechanismen der CLA nicht vollständig aufgeklärt sind, haben es methodische Fortschritte in der CLA-Analytik ermöglicht (komplementäre Verwendung von GC und Ag⁺-HPLC zur Separation und Quantifizierung einzelner CLA-Isomeren) zahlreiche neue Erkenntnisse zu CLA zu erlangen.

Verschiedene Untersuchungen am Menschen belegen die Unbedenklichkeit der CLA (BERVEN et al. 2000, BLANKSON et al. 2000, BENITO et al. 2001a,b). Da bereits vergleichsweise geringe Mengen an CLA ausreichen um physiologische Effekte zu erzielen, könnte diese Substanzklasse, als nutritiver und nicht-pharmakologischer Bestandteil von Lebensmitteln, vor allem in präventivmedizinischer Hinsicht eingesetzt werden. Die durchschnittliche Aufnahme an CLA liegt in Deutschland, in Abhängigkeit vom Geschlecht, Alter und der Ernährungsweise, zwischen 300 und 500 mg/d (JAHREIS 1997, FRITSCHKE & STEINHART 1998, FREMANN et al. 2002). Die im Tierversuch (ein geeignetes Tiermodell für den Menschen ist das Schwein) ermittelte wirksame CLA-Konzentration liegt - extrapoliert auf den Menschen - deutlich über der mit dem Verzehr an Wiederkäuerprodukten erreichbaren CLA-Menge. Die in den Tierexperimenten adäquate Verzehrsmenge an Trockensubstanz beträgt beim Menschen durchschnittlich 400 bis 500 g/d. Daraus leitet sich eine zusätzliche CLA-Menge von 2,5 bis 5 g CLA je Tag und Person ab. Unter dem Gesichtspunkt der gegenwärtigen Forschung stehen drei effektive Möglichkeiten zur

Disposition um die genannte CLA-Dosis zu gewährleisten und entsprechend die CLA-Aufnahme bzw. den CLA-Körperbestand des Menschen deutlich zu erhöhen. Eine Anreicherung der Körperlipide des Menschen ist denkbar über:

1. CLA-Präkursoren,
2. CLA-Supplemente oder
3. CLA-angereicherte Produkte.

Bisherige Untersuchungen hinsichtlich CLA-Anreicherung in Körperlipiden beschränken sich weitgehend auf den CLA-Gesamtgehalt. Bis dato liegen in der Literatur sehr wenige Nachweise zur Inkorporation bzw. Akkumulation einzelner CLA-Isomeren in verschiedenen Lipiden vor.

Die Wirkmechanismen der CLA lassen sich vermutlich auf die strukturellen Unterschiede der einzelnen Isomeren zurückführen (PARIZA et al. 2001). Die jeweiligen Effekte der CLA leiten sich hauptsächlich von Einzelisomeren ab, obwohl synergistische Mechanismen mehrerer Isomeren denkbar sind. Bis heute wird lediglich den beiden CLA-Isomeren *c9,t11* und *t10,c12* eine biologische Aktivität zugeschrieben. Kritik an den bisher vorliegenden Studien besteht darin, dass nur diese Isomeren in der Forschung Beachtung fanden und weitere Isomeren in den Hintergrund traten bzw. vernachlässigt wurden. Es ist nicht auszuschließen, dass auch Isomeren wie z. B. *t11,c13* funktionelle Eigenschaften besitzen. Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, Kenntnisse zur Inkorporation von CLA in Körperlipide unter besonderer Berücksichtigung der CLA-Isomerenverteilung zu erlangen. In diesem Rahmen wurden folgende Versuchsansätze mit entsprechenden Fragestellungen konzipiert:

1. Humaninterventionsstudie zur Absorption eines CLA-Isomerengemisches.

Die Studie wurde mit dem Ziel durchgeführt den Einfluss eines CLA-Isomerengemisches auf die Absorption und insbesondere die Interaktion mit anderen Fettsäuren zu untersuchen. Dabei sollte geprüft werden, ob die verschiedenen Isomeren im Blut wiedergefunden werden und somit zur Anreicherung im Körper beitragen. Anhand der Fäzeslipide sollte eine Einschätzung zum Metabolismus der CLA-Isomeren erfolgen. Zum Einfluss von CLA auf die Nährstoffbilanz gibt es keinerlei Literaturdaten, so dass dieser Fragestellung nachgegangen werden sollte.

2. *Studie am Tiermodell Ratte zur Anreicherung von CLA in die Körperlipide infolge Bildung aus CLA-Vorstufen.*

Verschiedene Studien haben die Bildung von CLA aus *trans*-Vaccensäure (*tVA*) nachgewiesen. In dieser Studie sollte untersucht werden, in welchem Umfang *tVA* zu CLA desaturiert wird. Da die endogene Synthese von CLA speziell für das Isomere *c9,t11* nachgewiesen wurde, sollte geprüft werden, ob aus *cis*-Vaccensäure (*cVA*) *c9,c11*-CLA metabolisiert wird und ob weitere CLA-Isomeren, infolge Isomerisierungsreaktionen, entstehen. Von besonderem Interesse war die Frage, ob sich die Erythrozytenmembran als Biomarker für die Umwandlung von *tVA* zu CLA eignet. Obwohl zu erwarten ist, dass *tVA* in den verschiedenen Gewebearten einem differenzierten Metabolismus unterliegt, gibt es bisher dazu keine Untersuchungen. Es existieren lediglich Angaben die sich auf den Gesamtkörper oder auf ausgewählte Gewebearten, wie Leber, Fett- und Brustgewebe, beziehen. Die vorliegende Studie wurde durchgeführt, um diese Lücke in der Literatur zu schließen.

3. *Studie zur Anreicherung von CLA in Milchlipiden unter Umgehung der Pansenfermentation durch der duodenale Infusion von CLA-Isomeren.*

Zahlreiche Fütterungsstudien mit Milchkühen haben gezeigt, dass sich der CLA-Gehalt der Milchlipide in Abhängigkeit von der Fütterung modifizieren lässt. Die Studie wurde speziell mit fistulierten Milchkühen durchgeführt, um direkt die Inkorporation der einzelnen CLA-Isomeren aus einem Mischisomeren-Präparat zu verifizieren. Ferner sollte geprüft werden, ob das CLA-Präparat die Milchbestandteile sowie die Fettsäurezusammensetzung der Milchlipide nachhaltig beeinflusst.

2 THEORETISCHE GRUNDLAGEN ZU CLA – STAND DER FORSCHUNG

2.1 Chemie und Nomenklatur

Das Akronym CLA steht für eine Substanzklasse von Fettsäuren, bestehend aus 18 Kohlenstoffatomen und zwei Doppelbindungen in Konjugation an verschiedenen Positionen im Molekül. In mehrfach ungesättigten Fettsäuren liegen Doppelbindungen in der Regel isoliert vor, so dass sich zwischen den Doppelbindungen eine Methylengruppe befindet (z. B. $\Delta 9,12$). Doppelbindungen in CLA hingegen sind nur durch eine Einfachbindung unterbrochen (lat. *con-iungo*: unter einem Joch, zusammenhängend). CLA bestehen aus geometrischen und Positionsisomeren. Die konjugierten Doppelbindungen können sich theoretisch an den Positionen 2,4 bis 15,17 der Kohlenstoffkette befinden. Jede dieser Doppelbindungen kann in *cis,cis*-, *trans,trans*-, *cis,trans*- oder *trans,cis*-Konfiguration im Molekül vorliegen, so dass 56 Isomeren der CLA denkbar sind. Bisher sind Doppelbindungen an folgenden Kohlenstoffatomen identifiziert worden: 6,8; 7,9; 8,10; 9,11; 10,12; 11,13; 12,14 und 13,15 (FRITSCHÉ et al. 2001, ROACH et al. 2002). Die bedeutendsten Isomeren sind *c9,t11*- und *t10,c12*-CLA (Abb. 2-1).

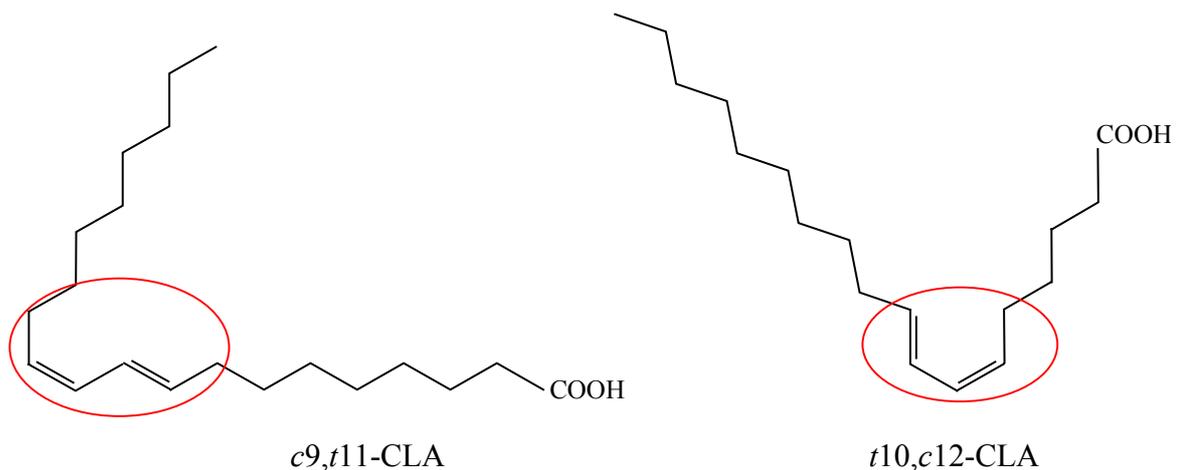


Abbildung 2-1: Strukturvergleich von *c9,t11*- und *t10,c12*-CLA

2.1.1 Biosynthese im Pansen von Wiederkäuern

CLA werden im Pansen von Wiederkäuern als Intermediat generiert (Abb. 2-2). KEPLER und TOVE (1967) zeigten, dass das Gram-negative Pansenbakterium *Butyrivibrio fibrisolvens* das Isomere $c9,t11$ während der Biohydrierung von Linolsäure (LA) bildet. In der Initialreaktion wird die $c12$ -Doppelbindung der LA zur $t11$ isomerisiert. Das Enzym LA-Isomerase (EC 5.2.1.5) ist in der Lage aus dem isolierten ein konjugiertes Doppelbindungssystem zu bilden. Die Initialbindung am Enzym resultiert aus einer Interaktion von π -Elektronen der Substratdoppelbindung mit einer elektrophilen Gruppe am Enzym und einer zusätzlichen Wasserstoffbindung der undissoziierten Carboxylgruppe des Substrates mit einer elektronegativen Region des Enzyms. Die Konformationsinduktion des Enzym-Substratkomplexes ist die Folge der Abstraktion eines Protons durch die Substratcarboxylgruppe am Kohlenstoffatom 11 und stereospezifischem Angriff durch das Proton der konjugierten Säure des Enzyms am Kohlenstoffatom 13 des Substrates (KEPLER et al. 1971). Unter diesen Prämissen entsteht $c9,t11$ -CLA.

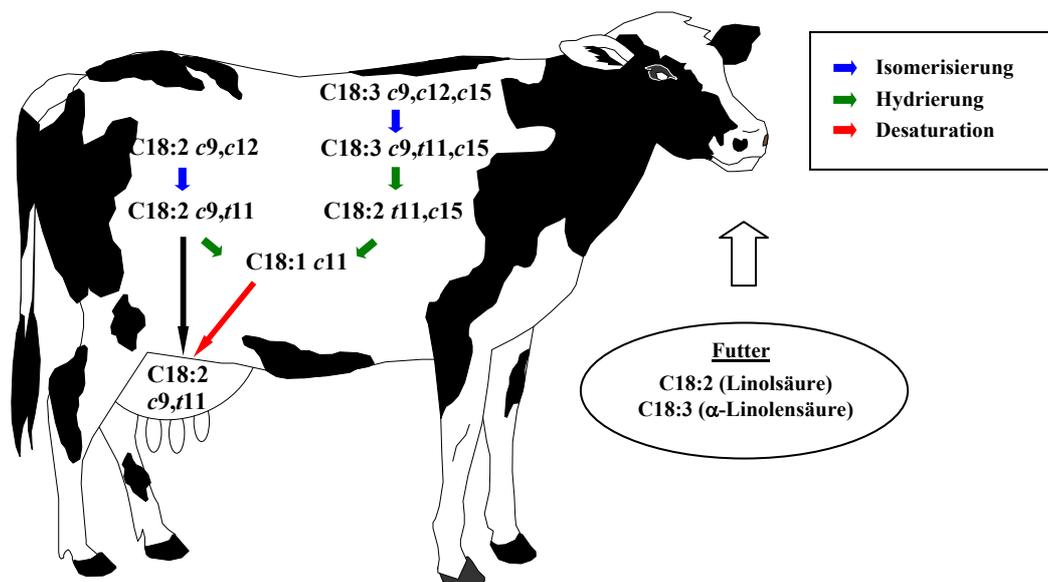


Abbildung 2-2: Biosynthese der CLA im Wiederkäuer

Das Isomere $c9,t11$ wird absorbiert oder infolge Reduktion in das entsprechende Monoen $t11$ -C18:1 (*trans*-Vaccensäure, *tVA*) konvertiert. Anschließend wird diese Fettsäure zu Stearinsäure (C18:0) hydriert. Letztere Reduktion scheint bei der vollständigen Biohydrierung die geschwindigkeitsbegrenzende Reaktion zu sein, folglich akkumuliert *tVA* im Pansen (SINGH & HAWKE 1979). α - und γ -Linolensäure ($c9,c12,c15$ und $c6,c9,c12$ C18:3)

werden nach ähnlichem Modus metabolisiert, *c9,t11*-CLA spielt als Intermediat keine Rolle (GRINARI & BAUMAN 1999). Allerdings besteht die Möglichkeit, dass geringe Mengen an *t11,c15*-C18:2 zu *t11,c13*-CLA isomerisiert werden können (KRAFT et al. 2003). Aufgrund des Bildungsortes und des hohen Anteils in Wiederkäuerprodukten (bis zu 90 % der Gesamt-CLA) wird das CLA-Isomere *c9,t11* auch als *rumenic acid* ("Pansensäure") bezeichnet (KRAMER et al. 1998a).

Die Vielzahl von Bakterien im Pansen (z. B. *Selenomonas ruminantium*, *Megasphaera elsdenii*, *Ruminococcus albus* F2/6), die verschiedene spezifische *cis,trans*-Isomerasen besitzen, bewirken eine Vielfalt von CLA-Isomeren in den Wiederkäuerprodukten (HARFOOT & HAZELWOOD 1988, FUJIMOTO et al. 1993, KEMP et al. 1975, KIM et al. 2002). Beispielsweise wird LA unter dem Einfluss der *c9,t10*-Isomerase zu *t10,c12* CLA isomerisiert. Die Bildung von *trans*-konfigurierten CLA-Isomeren resultiert aus einer Verschiebung der Doppelbindungen (SELTZER 1972).

2.1.2 Biosynthese im Gewebe

Eine weitere Möglichkeit der CLA-Genese ist die endogene Bildung im Gewebe. Bereits 1972 wurde *In-vitro* belegt, dass CLA im Milchdrüsengewebe von Rindern aus *tVA* via Stearoyl-CoA-Desaturase (Δ^9 -Desaturase, EC 1.14.99.5) metabolisiert werden können (KINSELLA 1972). Inzwischen konnte nachgewiesen werden, dass *tVA* im Pansen akkumuliert und ein Teil der weiteren Biohydrierung entgeht. Dieser wird im Verdauungstrakt absorbiert und von unterschiedlichen Geweben, einschließlich der Milchdrüse, genutzt. Im Gewebe kann *tVA* zu CLA desaturiert und in Milchlipide inkorporiert bzw. in andere Gewebe transportiert werden (GRINARI et al. 2000a). Die endogene Synthese von CLA aus *tVA* wurde auch bei Monogastriden, wie Nagern, Schweinen und beim Menschen, direkt nachgewiesen (SANTORA et al. 2000, LOOR et al. 2002a, GLÄSER et al. 2000, SALMINEN et al. 1998, TURPEINEN et al. 2002).

Die oxidative Reaktion bei der Biokonversion von *tVA* wird von einem Desaturase-System katalysiert, das aus verschiedenen Komponenten besteht: NAD(P)H-Cytochrom- b_5 -Reduktase, Cytochrom b_5 , Acyl-CoA-Synthetase und dem mikrosomalen Enzym Δ^9 -Desaturase (Abb. 2-3). Mit Hilfe dieses Systems kann eine *cis*-Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 9 und 10 eingefügt werden. Während der Desaturierung fließen die Elektronen sequentiell von NAD(P)H, über NADH-Cytochrom- b_5 -Reduktase zu Cytoch-

rom b5, zur terminalen $\Delta 9$ -Desaturase und schließlich zum aktiven Sauerstoff, welcher zu Wasser reduziert wird (NTAMBI 1995).

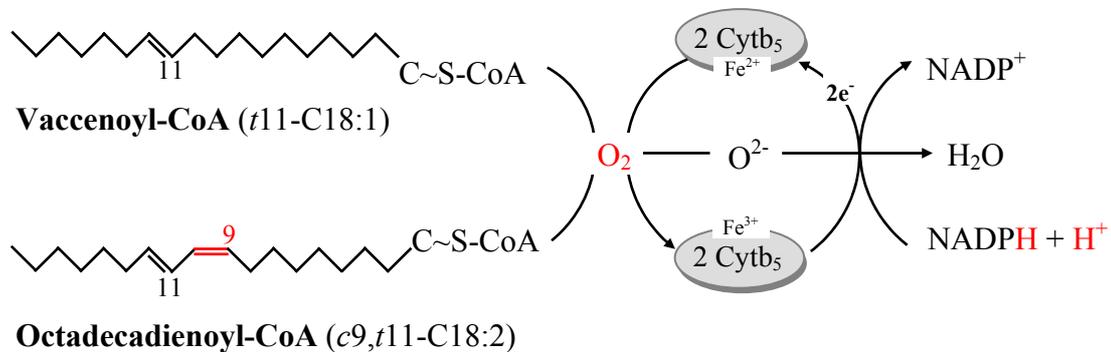


Abbildung 2-3: Desaturierung von tVA zu CLA

2.1.3 Chemische Synthese

Chemisch werden CLA entweder durch alkalische Isomerisierung LA-reicher Pflanzenöle (Soja-, Saflor- oder Sonnenblumenöl) oder durch Verwendung selektiver Lipasen synthetisiert. Diese Präparationen bestehen aus komplexen CLA-Gemischen mit einer Vielzahl von Minorisomeren. Der CLA-Gehalt im Produkt hängt von der LA-Konzentration im Ausgangsmaterial ab. Durch fraktionierte Kristallisation oder Aufreinigung an Austauschermatrizes ist eine Erhöhung des LA-Gehaltes möglich. Infolge des Einsatzes unterschiedlicher Katalysatoren (NaOH, LiOH, KOH) oder Lösungsmittel (Dimethylsulfoxid, Ethylenglycol, Glycerin, t-Butanol, Wasser, Dimethylsulfoxid, Propylenglycol) lassen sich CLA-Gemische aus verseiften Ölen mit einer geringen Anzahl an Einzelisomeren synthetisieren. Durch fraktionierte Kristallisation in Aceton war es BERDEAUX et al. (1998) möglich, zwei Einzelisomeren ($c9,t11$ und $t10,c12$) in hoher Reinheit in Mengen bis zu 70 g zu synthetisieren. LEHMANN (2001) gelang über eine stereoselektive Synthese die Herstellung von $t9,t11$, $c9,c11$, $c9,t11$, $t10,c12$ und $t7,c9$. In größeren Mengen lässt sich $c9,t11$ -CLA auch aus Ricinolsäure herstellen (ZABOLOTSKIJ et al. 1994).

Ferner gibt es die Möglichkeit der mikrobiellen Produktion mit Kulturen von *Lactobacillus* sp. (OGAWA et al. 2001), *Eubacterium lentum* (EYSSEN & VERHULST 1984) oder *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermannii* (RAINO et al. 2001, 2002). Mit Hilfe von gen-

technologischen Verfahren könnte die Synthese einzelner CLA-Isomeren in größeren Mengen umgesetzt werden.

2.2 Vorkommen und Aufnahme

2.2.1 Vorkommen und Variation von CLA im Wiederkäuerfett

CLA kommen entsprechend ihrer Genese primär in Wiederkäuern vor. Nichtwiederkäuer enthalten nur wenig CLA bzw. sind CLA-frei. Beim Menschen wurden im Fettgewebe, Blutserum und Darmsaft sowie in der Muttermilch und Galle geringe Mengen an CLA nachgewiesen (CAWOOD et al. 1983; HARRISON et al. 1985, JAHREIS et al. 1999, JIANG et al. 1999, SALMINEN et al. 1998).

Der CLA-Gehalt im Milchfett unterliegt einer außerordentlichen Variation in Abhängigkeit von der Spezies (JAHREIS et al. 1998, 1999), der genetischen Disposition (WHITE et al. 2001, LAWLESS et al. 1999, KELLY et al. 1998, PETERSON et al. 2002, KELSEY et al. 2002), der Fütterung (OFFER et al. 1999, GRINARI et al. 2000b, RAMASWAMY et al. 2001) und den Haltungsbedingungen (JAHREIS et al. 1997) sowie von der Anzahl der Laktationen (STANTON et al. 2000) und dem Laktationsstadium (KELSEY et al. 2002).

2.2.2 CLA-Quellen in der Nahrung

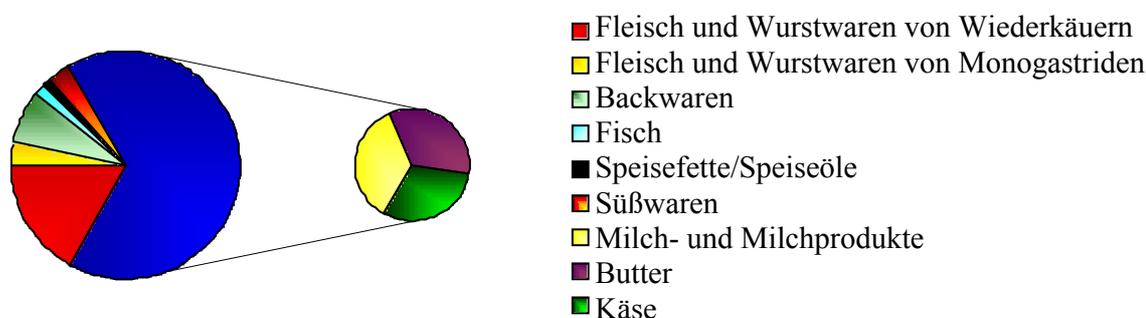
Bis heute gibt es nur zwei umfassende Untersuchungen, die Lebensmittelwarenkörbe hinsichtlich ihres CLA-Gehaltes analysierten. Weitere in der Literatur beschriebene Bestimmungen wurden nur an einzelnen Produktgruppen durchgeführt. CHIN et al. (1992) untersuchten in den USA einen Lebensmittelwarenkorb von 90 Produkten. Repräsentativ für Deutschland prüften FRITSCHÉ & STEINHART (1998) 139 Nahrungsmittel auf ihren CLA-Gehalt. Tabelle 2-1 zeigt einen Vergleich beider Untersuchungen. Die von CHIN et al. (1992) ermittelten Werte liegen meist unter denen von FRITSCHÉ & STEINHART (1998). Diese Abweichungen könnten auf die unterschiedlichen Fütterungsregime der Tiere oder auf die verschiedenen analytischen Methoden zurückzuführen sein.

Tabelle 2-1: Mittlerer CLA-Gehalt in verschiedenen Lebensmittelgruppen

| Lebensmittelgruppe | CLA-Gehalt (% der FAME) | |
|--------------------------|---------------------------|------------------|
| | FRITSCH & STEINHART 1998* | CHIN et al. 1992 |
| Wiederkäuerfleisch | 0,43 - 1,20 | 0,27 - 0,56 |
| Nichtwiederkäuerfleisch | 0,11 - 0,20 | 0,06 - 0,25 |
| Wurstwaren | 0,27 - 0,44 | 0,08 - 0,33 |
| Fisch, maritime Produkte | 0,01 - 0,09 | 0,03 - 0,06 |
| Milch und Milchprodukte | 0,77 - 1,16 | 0,06 - 0,70 |
| Butter | 0,94 | 0,47 |
| Käse | 0,40 - 1,70 | 0,29 - 0,71 |
| Speisefette/Öle | < 0,01 | 0,01 - 0,07 |
| Backwaren | 0,02 - 0,55 | n. b. |
| Süßwaren, Snacks | < 0,01 - 0,15 | n. b. |

* bestimmt als *c9,t11*-CLA n. b. nicht bestimmt

In der Ernährung des Menschen werden über Butter, Milch und Milchprodukte weit über die Hälfte der aufgenommenen CLA-Menge zugeführt (Abb. 2-4). In Abhängigkeit von den oben genannten Einflussgrößen sowie Verarbeitungsparametern (Pasteurisierung, Fermentation etc.) unterliegt der CLA-Gehalt einer starken Variation.

**Abbildung 2-4:** CLA-Quellen in der Ernährung des Menschen

Wiederkäuerfleisch ist analog zum Milchfett CLA-reich. Fleisch von Nichtwiederkäuern, wie Schweine- und Geflügelfleisch, enthält deutlich geringere Mengen an CLA. Fisch und maritime Produkte spielen in der CLA-Versorgung aufgrund sehr geringer Gehalte keine Rolle. Eine weitere wichtige CLA-Quelle sind Verarbeitungsprodukte wie Kuchen, Snacks, Gebäck und Schokolade, deren CLA-Gehalt in Abhängigkeit von der verwendeten Milchfettmenge stark variiert. Pflanzenfette enthalten nur Spuren an CLA. In Margarinen

wurden CLA nachgewiesen, die scheinbar von der Prozessführung abhängen (MOSSOBA et al. 1991). Pflanzenöle und Margarinen haben mengenmäßig keine Bedeutung für die Gesamtzufuhr an CLA.

2.2.3 CLA-Aufnahme

Die durchschnittliche CLA-Aufnahme mit der Nahrung wird über Verzehrerhebungen (Ernährungsprotokoll, Ernährungsanamnese) in Verbindung mit den ermittelten CLA-Gehalten in Lebensmitteln, die zum Teil in Lebensmitteldatenbanken gespeichert sind, abgeschätzt. Die Angaben in der Literatur variieren, in Abhängigkeit von der verwendeten Evaluationsmethode, von 50 bis 1500 mg CLA pro Person und Tag (Tab. 2-2). Je nach Land und Lebensmittelauswahl bestehen große Unterschiede in der zugeführten Menge an CLA. Während in Deutschland täglich 300 bis 450 mg aufgenommen werden, sind es in den USA lediglich 150 mg.

Tabelle 2-2: Geschätzte CLA-Aufnahme in verschiedenen Ländern (mg/d)

| Land | CLA-Aufnahme | | Referenz |
|-------------|--------------|--------|------------------------------|
| | Frauen | Männer | |
| Australien | 500 - 1500 | | PARODI (1994) |
| Deutschland | - | 310 | JAHREIS (1997) |
| Deutschland | 350 | 430 | FRITSCHKE & STEINHART (1998) |
| USA | 127 | | HERBEL et al. (1998) |
| Finnland | 40 - 310 | | SALMINEN et al. (1998) |
| Kanada | 295 | 332 | HEALTH CANADA (1998) |
| USA | 150 | 210 | RITZENTHALER et al. (2001) |
| Kanada | 95 ± 41 | | ENS et al. (2001) |
| England | 157 | | LAWSEN et al. (2001) |
| Niederlande | 200 | - | VOORRIPS et al. (2002) |
| Deutschland | 399 | 512 | FREMANN et al. (2002) |

Die Schätzwerte geben einen guten Einblick in die individuellen Verzehrsgewohnheiten der Bevölkerung in Abhängigkeit von der Kultur. Auf Grund des niedrigen Fettverzehr in den USA werden im Vergleich zu Deutschland weniger CLA aufgenommen. Ferner weisen amerikanische Wiederkäuerprodukte meist geringere CLA-Gehalte auf. Dies lässt sich auf das Fütterungsregime zurückführen. Es ist anzunehmen, dass Kulturen, die durch einen hohen Verzehr an Schaf(milch)fett gekennzeichnet sind (z. B. Bulgarien, Neuseeland) ent-

sprechend mehr CLA aufnehmen. Alter und Geschlecht spielen ebenfalls eine wesentliche Rolle bei der CLA-Zufuhr. Weibliche Personen und junge Menschen nehmen weniger CLA auf als männliche Personen und Menschen > 30 Jahre (MCGUIRE et al. 1999). Die Angaben zur aufgenommenen CLA-Menge umfassen den CLA-Gesamtgehalt oder das *c9,t11*-Isomere. Daten zur CLA-Aufnahme hinsichtlich der CLA-Isomerenverteilung fehlen. Darüber hinaus liegen noch keine Ergebnisse von Untersuchungen vor, welche die CLA-Zufuhr hinsichtlich Alterstruktur (Säuglinge, Kinder, Jugendliche und Erwachsene) differenziert betrachten.

2.3 Physiologische Eigenschaften - Einfluss auf den Lipidstoffwechsel

Zahlreiche Untersuchungen belegen auf molekularbiologischer Ebene (Dickdarm- Haut-, Magen- und Brustkrebszelllinien) sowie in verschiedenen Tiermodellen (Nager, Geflügel, Schwein) positive physiologische Wirkungen der CLA (Tab. 2-3). Auf eine Abhandlung der einzelnen physiologischen Wirkungen soll in diesem Rahmen verzichtet werden. Umfassende Literaturübersichten zu diesen Thema sind bei JAHREIS et al. (2000), PARIZA et al. (2001), KRAFT & JAHREIS (2001) und PARODI (2002) zu finden. Nachfolgend soll der Wirkmechanismus der CLA im Lipidstoffwechsel näher charakterisiert werden.

Tabelle 2-3: *Entdeckungsgeschichte der CLA-Eigenschaften*

| Jahr | Physiologische Wirkung |
|------|---|
| 1987 | Antikanzerogene Eigenschaften (HA et al. 1987) |
| 1993 | Immunmodulierende Eigenschaften (COOK et al. 1993) |
| 1994 | Antiatherogene Eigenschaften (LEE et al. 1994) |
| 1995 | Anabole Eigenschaften (PARK et al. 1995) |
| 1997 | Modulation der Knochenmasse (SEIFERT & WATKINS 1997) |
| 1998 | Antidiabetogene Eigenschaften (HOUSEKNECHT et al. 1998) |
| 1999 | Antithrombotische Eigenschaften (TRUITT et al. 1999) |

2.3.1 Einfluss von CLA auf das Fettgewebe

Der Einfluss von *t10,c12*-CLA und dessen Metaboliten auf (Prä-)Adipozyten ist multifunktional (Abb. 2-5). CLA induzierten im Gewebe von Mäusen (TSUBOYAMA-KASAOKA et al. 2000, MINER et al. 2001) und in kultivierten 3T3-L1-Präadipozyten (EVANS et al. 2002) Apoptose, die mit der Lipodystrophie positiv korrelierte. Apoptose wird mit einer erhöhten

mRNA-Expression des Tumornekrosefaktors (TNF- α) und des Entkopplungsproteins-2 (UCP-2) in Zusammenhang gebracht.

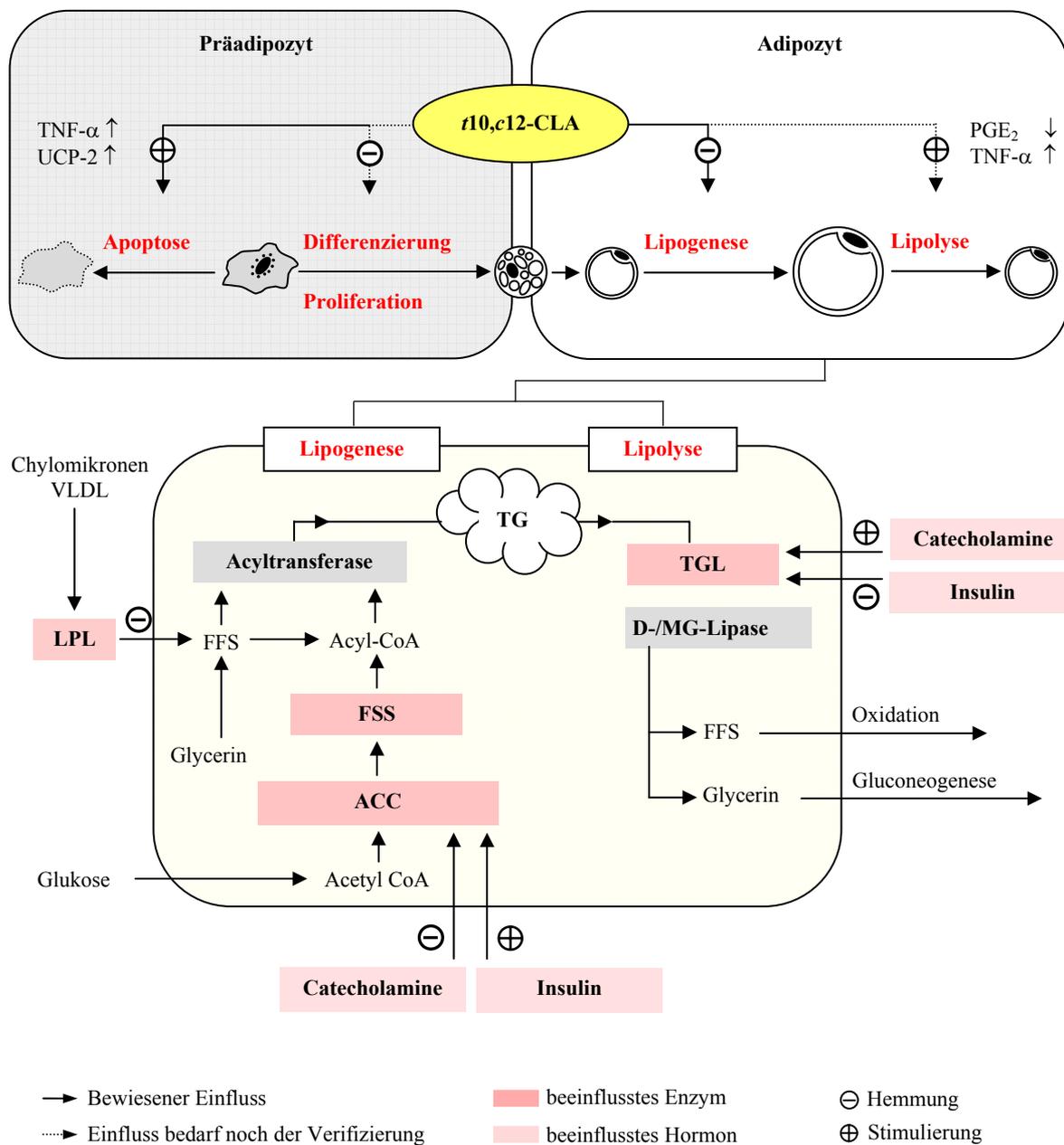


Abbildung 2-5: Hypothetisches Modell zur Wirkung von $t10,c12$ -CLA auf Prä-/Adipozyten (modifiziert nach PARIZA et al. 2001 und REHNER & DANIEL 1999)

Fettgewebe kann durch die Erhöhung der Adipozytenzahl vermehrt werden. Differenzierte Adipozyten können nicht proliferieren. Präadipozyten hingegen proliferieren, differenzieren anschließend aus und können mit Triacylglyceriden gefüllt werden. CLA greifen in die Adipozytengenese ein, indem Proliferation (SATORY & SMITH 1999) und Differenzierung (BRODIE et al. 1999, EVANS et al. 2000) des Präadipozyten gehemmt werden. Letzteres ist mit einer verminderten mRNA-Expression der Transkriptionsfaktoren PPAR γ (Peroxisomen-Proliferator-aktivierter Rezeptor γ) und CCATT enhancer binding protein (C/EBP α) und des Fettsäuren-bindenden Proteins (aP2) assoziiert. Besonders interessant ist die Tatsache, dass CLA nicht die Adipozytenzahl, sondern deren Größe vermindern (AZAIN et al. 2000, BROWN et al. 2001a). Eine Reihe von *In-vitro* Studien zeigen, dass CLA die Lipogenese hemmen. CLA supprimieren die Desaturierung und Elongation der Fettsäuren durch verminderte Stearoyl-CoA-Desaturase-(SCD)-Aktivität und -Expression. Eine geringere SCD-Expression hat ein erhöhtes SFA : MUFA-Verhältnis zur Folge bei gleichzeitiger Hemmung der *De-novo*- und Triacylglyceridsynthese (BROWN et al. 2001b, BROWN et al. 2002). Der Anteil an Triacylglyceriden in den Adipozyten sinkt infolge erhöhter Fettsäureoxidation (EVANS et al. 2001). Ein Erklärungsansatz wäre, dass CLA die Freisetzung von TNF- α stimuliert, der die mRNA-Expression lipogener Enzyme, wie Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC), Lipoproteinlipase (LPL) und Fettsäuresynthase (FAS) downreguliert und in einer Hemmung der Lipogenese resultiert. In der Literatur wird auch eine CLA-vermittelte Stimulation der Lipolyse diskutiert (PARK et al. 1999a), die eine Verminderung des Triacylglyceridanteils im Adipozyten zur Folge hat. Dieser Effekt wird auf die Einschränkung der Prostaglandin E₂-(PGE₂)-Synthese in Gegenwart der CLA zurückgeführt (KAVANAUGH et al. 1999). Denkbar ist ebenso, dass CLA die Catecholamin-vermittelte Aktivierung der Triacylglycerid-Lipase (TGL) stimulieren und demzufolge die Lipolyserate steigern. Ferner besteht die Möglichkeit, dass eine CLA-induzierte erhöhte Ausschüttung an TNF- α lipolytisch wirken könnte (HAUNER et al. 1995).

Das Protein Leptin (gr. leptos: dünn) wird ausschließlich in den Adipozyten des weißen Fettgewebes, besonders während der Phase aktiver Lipogenese, generiert. Dieses Fettgewebshormon wird in das Blut sezerniert, gelangt zum Hypothalamus, bindet dort an Leptinrezeptoren wodurch das verzehrsregulierende Neuropeptid Y (NPY) gehemmt wird und somit Sättigungssignale ausgelöst werden. Ferner übt das Hormon auch eine Wirkung auf periphere Gewebe aus. Die gebildete Menge an Leptin hängt von der Größe des Adipozyten ab und die Plasmakonzentration an Leptin von der Fettgewebsmasse. Es gilt als gesi-

chert, dass die mRNA-Konzentration des Leptins im Fettgewebe und der Plasmaleptinspiegel mit der Körperfettmasse und dem Körper-Masse-Index eng korrelieren (CONSIDINE et al. 1996, von LOEFFELHOLZ et al. 2003). Bei Mäusen (DELANY et al. 1999), Ratten (RAHMANN et al. 2001) und Menschen (MEDINA et al. 2000, von LOEFFELHOLZ et al. 2003) wurden verminderte Plasmaleptinspiegel beobachtet, die direkt proportional zur Veränderung der Fettgewebssmasse sind.

In jungen wachsenden Tieren hemmt *t10,c12*-CLA die Körperfettzunahme, vermindert aber nicht zwangsläufig den Körperfettanteil der vor der CLA-Supplementation deponiert wurde. In ausgewachsenen Individuen scheint *t10,c12*-CLA nicht anabol zu wirken. Möglicherweise reagieren nicht alle Adipozyten gleichartig auf diese molekularen Signale. Vielmehr ist es möglich, dass der Einfluss auf einen Adipozyten von dessen Lokalisation, Mikroumwelt und physiologischer Funktion abhängt (PARIZA et al. 2001).

2.3.2 Eicosanoid-Präkursoren

CLA sind auch in den Metabolismus von Fettsäuren wie LA, Arachidonsäure (AA) und deren Eicosanoidderivate involviert. Offensichtlich hemmen CLA deren Bildung. Damit verbunden ist eine Suppression der Triacylglycerid-Esterbildung, die Umwandlung in Phospholipide und/oder die Synthese von Fett-second-messengern die an der Regulation der Adipogenese beteiligt sind. LA wird über Elongation und Desaturation zu AA metabolisiert. SEBEDIO et al. (1997) lieferten bereits den Beweis, dass *c9,t11*- und *t10,c12*-CLA analog wie LA elongiert und desaturiert werden und ebenfalls Präkursoren für Eicosanoide liefern (Abb. 2-6).

CLA konkurrieren mit diesen ungesättigten Fettsäuren um Phospholipase-, Cyclooxygenase- und Lipoxygenase-Enzymfamilien. CLA werden in Phospholipide eingebaut (BELURY & KEMPA-STECKO 1997, BANNI et al. 1999a). Der Anteil an CLA steigt zuungunsten der AA an, während sich der Gehalt an Linolensäure nur unbedeutend vermindert (COOK et al. 1993, KRÄMER et al. 1999). Der erhöhte CLA-Anteil in Neutral- und Phospholipiden der Plasmamembran modifiziert die Synthese der Prostaglandine durch die Bereitstellung anderer Fettsäuren-Substrate für die COX. Dies wirkt sich nicht nur auf die Immunfunktion sondern auch auf den Muskelkatabolismus aus. CLA konkurrieren mit LA um die $\Delta 6$ -Desaturase, dem Hauptenzym, welches für die Umwandlung von LA zur AA verantwortlich ist (HA et al. 1987). Es gibt inzwischen Hinweise, dass auch C20-CLA-Metabolite Vorläufer für Eicosanoidprodukte sein können. Denkbar ist ebenso, dass diese Metabolite

mit der AA um Prostanoidenzyme konkurrieren und demzufolge die PGE₂-Synthese hemmen.

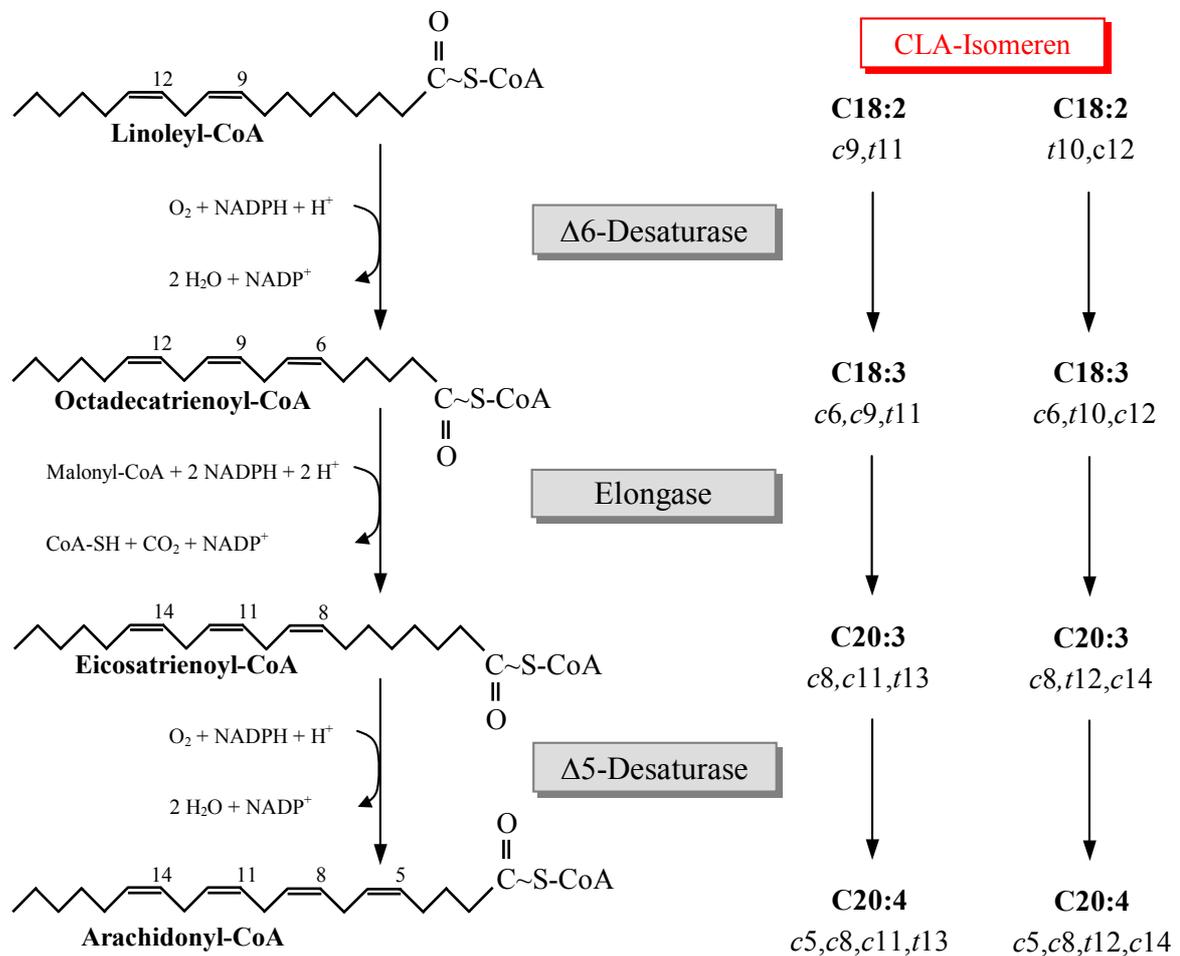


Abbildung 2-6: Metabolismus der LA im Vergleich zu c9,t11- und t10,c12-CLA

2.3.3 PPAR (Peroxisomen-Proliferator aktivierte Rezeptoren)

CLA scheinen direkten Einfluss auf die Gentranskription zu haben. PPAR gehören zur nukleären Superfamilie der Transkriptionsfaktoren, welche von verschiedenen Liganden, einschließlich ungesättigter Fettsäuren, aktiviert werden (KERSTEN et al. 2000). PPAR regulieren die Expression zahlreicher Gene, die in der Zellproliferation, Apoptose, Entzündungsreaktion, Glukosehomöostase und im Lipidmetabolismus eine entscheidende Rolle spielen (VANDEN HEUVEL 1999). PPAR bilden mit dem c9-Retinsäure-Rezeptor (RXR) einen Heterodimerkomplex und binden an so genannte Responselemente, die im Promotor des Zielgenes lokalisiert sind. Erst 1990 wurden PPAR entdeckt (ISSEMAN & GREEN

1990). Bis heute sind drei PPAR-Subtypen im Säuger identifiziert: α , β (δ) und γ . PPAR α wird vorwiegend in Herz, Niere, Leber, Monozyten und T-Lymphozyten exprimiert, PPAR γ im Fettgewebe, Immunsystem, Prostata, Brustdrüse und Kolon. PPAR β kommt ubiquitär vor (BRAISSANT et al. 1995). Die Verteilung der PPAR-Subtypen in den unterschiedlichen Geweben reflektiert die verschiedenen Wirkungen der PPAR. Es gilt als allgemein anerkannt, dass PPAR α vorwiegend im hepatischen Lipidmetabolismus und PPAR γ in der Adipogenese und Entzündungsreaktion eine entscheidende Rolle spielen. PPAR β ist noch weitestgehend unerforscht. CLA-Isomeren besitzen eine moderate Affinität zur Bindung und Aktivierung von PPAR, so dass zahlreiche CLA-Effekte auch auf molekularer Ebene reguliert werden.

CLA beeinflussen den Lipoproteinmetabolismus über PPAR α -Aktivierung in der Leber (BELURY et al. 1997, MOYA-CAMARENA & BELURY 1999). PPAR α reguliert die Expression verschiedener Gene, die in den hepatischen Lipidmetabolismus involviert sind (Acetyl-CoA-Oxidase, Cytochrom P450 4A1, ACoA-Synthetase, LPL und Fettsäuren-Transport-Protein).

PPAR γ besitzt im Fettgewebe eine Schlüsselrolle indem er die Expression verschiedener Gene reguliert, welche die Adipogenese, Insulinsensitivität und den Lipidmetabolismus kontrollieren (LOWELL 1998). Die Isoform PPAR γ 2 wird zur Adipozytendifferenzierung genutzt (NTAMBI & KIM 2000). Zur Interaktion zwischen CLA und PPAR γ im Fettgewebe liegen teilweise widersprüchliche Ergebnisse vor. Während BRODIE et al. (1999) in 3T3-L1-Prädipozyten eine CLA-vermittelte Suppression von PPAR γ 2 und der Aktivator-Protein-2-mRNA-Expression feststellten, konnten CHOI et al. (2000) keinen signifikanten CLA-Einfluss auf PPAR γ und die Aktivator-Protein-2-mRNA-Expression nachweisen. Der Mechanismus der PPAR-vermittelten Wirkung der CLA ist nicht genau bekannt. Es wird angenommen, dass der Effekt durch einen erhöhten Spiegel des PPAR γ -Proteins zustande kommt (EVANS et al. 2000). BELURY et al. (2002) gehen davon aus, dass CLA-Metaboliten (Elongations- und Desaturationsprodukte) PPAR γ aktivieren. CLA modulieren die Transkription von PPAR γ -responsiven Genen im Fettgewebe. Dies wurde *In-vitro* (YU et al. 2002) und *In-vivo* (HOUSEKNECHT et al. 1998, MOYA-CAMARENA & BELURY 1999) nachgewiesen. Infolge stimulierter Expression PPAR γ -responsiver Gene (LPL, Aktivator-Protein 2, ACoA-Synthetase, Fettsäuren-Transportprotein), wird die Clearance der Plasma-Triacylglyceride, die im Fettgewebe gespeichert würden, gefördert. Eine Studie an Mäusen von TSUBOYAMA-KASAOKA et al. (2000) steht im Widerspruch dazu und zeigt eine indu-

zierte Hyperlipidämie. Diese wird mit einer verminderten mRNA-Expression an PPAR γ in Verbindung gebracht. Jüngste Untersuchungen von BELURY et al. (2002) geben Anlass zu der Annahme, dass eine erhöhte PPAR γ -Aktivierung durch die Bildung von $\Delta 6$ -desaturierten CLA-Metaboliten, *c6,c9,t11*-CLA oder *c6,t10c12*-CLA, induziert wird. Die Wirkung der CLA auf PPAR wird in der Literatur kontrovers diskutiert. PPAR sind in Bezug auf ihre Entdeckungsgeschichte als jung einzuordnen. Aus diesem Grunde ist bisher noch sehr wenig zur Wirkungsweise vor allem im Zusammenhang mit CLA bekannt. Die wenigen Ergebnisse und Hypothesen bedürfen der Verifizierung.

2.4 Analytik

Aufgrund der Komplexität der CLA, der sehr geringen Gehalte in den biologischen Matri-ces (< 1 % der Gesamt-Fettsäurenmethylester - FAME) und der konjugierten Doppelbin- dung in der aliphatischen Kette, die das Molekül sehr instabil macht, sind Methoden der herkömmlichen Fettsäurenbestimmung ungeeignet (BANNI & MARTIN 1998). Zur Analyse der CLA stehen gaschromatographische und flüssig-chromatographische Verfahren unter Verwendung verschiedener Detektionsmethoden zur Verfügung. Für eine Gesamtanalyse der CLA sollten GC-FID und Ag⁺-HPLC-UV/DAD als komplementäre Techniken gewählt werden. Diese Kombination kann qualitative und quantitative Aussagen liefern. Die Wahl der GC-Säule hängt von der Intention des Vorhabens ab. Eine kurze Säule bzw. eine Säule mittlerer Polarität reicht aus, wenn nur die Hauptisomeren (*c9,t11* und *t10,c12*) getrennt werden sollen, oder sich eine Ag⁺-HPLC zur isomerenspezifischen Separation anschließt.

2.4.1 Kapillargaschromatographie-Flammenionisationsdetektion (GC-FID)

Die am häufigsten angewendete Methode zur Analyse der Fettsäurenverteilung ist die GC gekoppelt mit einem FID. Dieses Verfahren kann auch effektiv eingesetzt werden um den CLA-Gesamtgehalt zu quantifizieren. Zur Trennung der CLA werden lange (100 m) hoch- polare Cyanopropyl-Siloxan-Kapillarsäulen (CP Sil 88, BPX70, SP 2560) empfohlen (KRAMER et al. 2001). Diese zeichnen sich durch ihre hohe Selektivität für Isomeren aus. Kurze Kapillarsäulen bzw. Säulen mit einer geringen Polarität, z. B. vom Carbowaxtyp, eignen sich zur CLA-Identifikation aufgrund unzureichender Auflösung der Peaks nicht (KRAMER et al. 1999, CHRISTIE 2001). Obwohl die GC-FID die übliche Methode zur Ana- lyse von Fettsäuren ist, sollte diese nicht ausschließlich zur Bestimmung von CLA ver-

wendet werden. Untersuchungen haben gezeigt, dass Fettsäuren wie C21:0, C18:4 oder Isomeren der C20:2, in Abhängigkeit von der Säule und dem Temperaturprogramm, im Bereich der CLA eluieren (KRAMER et al. 1998b, EULITZ et al. 1999, PRECHT & MOLKENTIN 2000, FRITSCHKE et al. 2000, ROACH et al. 2002). Ferner beobachtete DIONISI et al. (1999) interferierende Methoxyartefakte. Bis zu 8 *cis/trans*-Isomeren können mittels GC ausreichend getrennt werden unter der Prämisse, dass deren Konzentration annähernd gleich ist. Ist die relative Konzentration der Isomeren ungleichmäßig, wie in natürlichen Produkten, werden die Minorisomeren von den Hauptisomeren maskiert. Unter Verwendung einer 100 m CP-SIL 88-Säule, werden die Positionsisomeren *t7,c9* bzw. *t8,c10* und *c9,t11* nicht voneinander getrennt (EULITZ et al. 1999). Bis heute gibt es keine GC-Säulen bzw. -Bedingungen, die adäquat die FAME der CLA separieren, charakterisieren und somit eine Quantifizierung ermöglichen.

2.4.2 Silberionen-Hochleistungsflüssigchromatographie (Ag^+ -HPLC)

Die Entwicklung der Ag^+ -HPLC-Methode hat die CLA-Analytik entscheidend vorangebracht (ADLOF 1996; SEHAT et al. 1998). Dieses Verfahren ermöglicht die Trennung der CLA in ihre Positions- und Stellungsisomeren in Form von Methylestern oder als freie Säuren.

Silberionenchromatographie ("Argentations-Chromatographie") ist eine Technologie, die seit mehr als 50 Jahren in der Lipidanalytik ihre Anwendung findet. CHRISTIE (1987) entwickelte eine Säule, deren stationäre Phase ein Kieselgel-basiertes (Kat-)Ionenaustauscher-Medium (chemisch gebundene Phenylsulfonsäuregruppen) ist, an dem Silberionen ionisch gebunden sind. Da etwa 30 % der original Silanolgruppen frei vorliegen, zeigen die Säulen einen partiellen Normal-Phasen-Charakter (ADLOF 1997). Dieser Säulentyp ist heute kommerziell bei CHROMPACK (Middelburg, Niederlande) erhältlich. Das Verfahren der Silberionenchromatographie basiert darauf, dass die π -Elektronen der Fettsäuredoppelbindung (Elektronendonator) reversibel polare Komplexe mit den Ag^+ -Ionen (Elektronenakzeptor) bilden, die unterschiedlich stabil sind (CHRISTIE 1998). Eine Sigma-Bindung wird von den besetzten $2p \pi^*$ -Elektronen der Doppelbindung und den freien $5s$ - und $5p$ -Orbitalen des Silberions gebildet. Die Stabilität des Komplexes wird durch die Zugänglichkeit der Elektronen in den gefüllten Orbitalen und der sterischen Hinderung der Orbitale bestimmt (DOBSON 1998). Da sowohl die Konfiguration als auch die Position der Doppelbindung das Retentionsverhalten der ungesättigten Moleküle beeinflussen, ergibt

sich für CLA eine charakteristische Elutionsfolge. *Cis*-Doppelbindungen werden an der stationären Phase länger zurückgehalten als *trans*-Doppelbindungen. Je geringer der Abstand der Doppelbindung zur Carboxylgruppe ist, umso länger wird das Molekül an der stationären Phase gebunden. Die Anzahl der Säulen ist entscheidend für die Trennleistung. Die Trennung der CLA-Isomeren verbessert sich deutlich mit steigender Säulenzahl. In der Literatur ist die Verwendung von bis zu 6 Säulen beschrieben (SEHAT et al. 1999). Hinsichtlich Kosten, Analysendauer und Praktikabilität gewährleisten drei Säulen eine adäquate Trennung. In der Routineanalytik sollten zwei Säulen ausreichen. Konjugierte Diene werden selektiv bei ihrer charakteristischen UV-Absorption von 233 nm detektiert. Ferner gibt es die Möglichkeit, CLA-Isomerengemische mittels semipräparativer HPLC zu differenzieren. Dabei werden die Isomeren vorgetrennt, konzentriert und störende Substanzen, die häufig in biologischen Proben vorkommen, entfernt.

2.4.3 Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS), Gaschromatographie-Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometrie (GC-FTIR), Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Zur Strukturaufklärung der CLA werden massenselektive (MS) und infrarotspektroskopische Detektoren (FTIR) verwendet. Die Lokalisation der Doppelbindung wird mit Hilfe der GC-MS identifiziert. Durch 4,4-Dimethyl-oxazolin(DMOX)-Derivate oder Methyltriazolindion(MTAD)-Addukte der Fettsäuren werden charakteristische Fragmente erhalten, die eine eindeutige Lokalisierung der Doppelbindung ermöglichen (SPITZER 1997, DOBSON 1998). FAME eignen sich für dieses Verfahren nicht, denn während des Ionisationsprozesses kommt es zur Migration der Doppelbindung entlang der Kohlenstoffkette, so dass die Doppelbindung nicht eindeutig lokalisiert werden kann (ZHANG et al. 1988). Mittels GC-FTIR kann die Doppelbindungskonfiguration im CLA-Molekül ermittelt werden. Infolge der unterschiedlichen relativen Intensität der =C-H-Streckschwingung im Bereich von 3040 bis 3000 cm^{-1} kann eine Differenzierung der konfigurierten Doppelbindungen nach *trans,trans*; *trans,cis*; *cis,trans* und *cis,cis* erreicht werden (MOSSOBA 2001). Eine Unterscheidung zwischen *cis,trans*- und *trans,cis*-Isomeren hingegen ist nicht möglich. Die ^{13}C -NMR-Spektroskopie bietet die Möglichkeit, sowohl die Position als auch die Konfiguration der konjugierten Doppelbindung in einem Analysenverfahren zu ermitteln (LIE KEN JIE et al. 1997, DAVIS et al. 1999). Jedoch eignet sich dieses Verfahren nur für synthetisch hergestellte CLA-Isomerengemische. Aufgrund der geringen CLA-Menge ist es bei Gewebeproben nicht anwendbar.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Humaninterventionsstudie (Absorptionsversuch)

3.1.1 Probandencharakteristik

Die Humanstudie wurde bei der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena eingereicht, auf ihre Durchführbarkeit geprüft und genehmigt. Die Teilnahme der Probanden erfolgte auf freiwilliger Basis. An der Studie nahmen 8 gesunde männliche Probanden teil (Tab. 3-1).

Table 3-1: Probandencharakteristik zu Beginn der Studie (N = 8)

| | MW \pm SD | Variationsbreite |
|--------------------------|-------------|------------------|
| Alter [a] | 36 \pm 10 | 23 \pm 55 |
| Körpergröße [cm] | 175 \pm 5 | 166 \pm 182 |
| Körpergewicht [kg] | 78 \pm 13 | 58 \pm 95 |
| BMI [kg/m ²] | 25 \pm 3 | 20 \pm 30 |

3.1.2 Studiendesign

Die Studie bestand aus zwei Perioden von jeweils einer Woche (Abb. 3-1). Periode I diente als Kontrollperiode zur Ermittlung der individuellen Ausgangswerte in Blut, Fäzes und Urin, in Periode II erfolgte die Intervention. In beiden Versuchsperioden wurde den Probanden eine standardisierte Kost bereitgestellt (Tab. A-1). Nur die zur Verfügung gestellten Lebensmittel und Getränke durften verzehrt werden. Die Zusammensetzung der Diäten erfolgte auf Grundlage der Nährstoffempfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE 1991) unter Anpassung an die individuelle Energiezufuhr. Nicht verzehrte Lebensmittel bzw. nicht verzehrbare Anteile der Lebensmittel wurden zurückgewogen und protokolliert. In der Interventionsperiode erhielten die Probanden täglich 3 g eines CLA-Mischisomerenpräparates. Hierbei handelte es sich um ein Triacylglycerid der Firma BASF mit dem Namen *Selin-TG*[®]. Die Verwendung eines CLA-Triacylglycerides sollte den theoretischen Vorteil einer besseren Bioverfügbarkeit gegenüber freien Fettsäuren auf-

grund einer höheren Stabilität im Magen-Darm-Trakt haben. Das Präparat lag nicht in Form von Gelatinekapseln vor; es wurde den Probanden mit Hilfe einer Dosierpumpe dreimal täglich (jeweils 1 g) *per os* appliziert. Die Fettsäurezusammensetzung des Präparates ist im Anhang in Tabelle A-2 dokumentiert.

3.1.3 Probenmaterial

Nach einer zweitägigen Ausschleusphase (zum Ausschluss von Überlagerungseffekten durch Diäten vorangegangener Tage und der Schaffung gleicher Voraussetzungen für alle Probanden) erfolgte über fünf Tage eine quantitative Urin- und Fäzessammlung. Die Exkremente wurden bei -20 °C tiefgefroren und nach der Studie gepoolt, homogenisiert und aliquotiert. Jeweils am letzten Tag der Versuchsperioden wurde den Probanden morgens nüchtern ca. 10 mL Blut aus der *Vena mediana cubiti* abgenommen. Von den während der standardisierten Kost ausgegebenen Lebensmitteln wurden aliquote Teile gesammelt und bis zur Analyse bei -20 °C eingefroren.

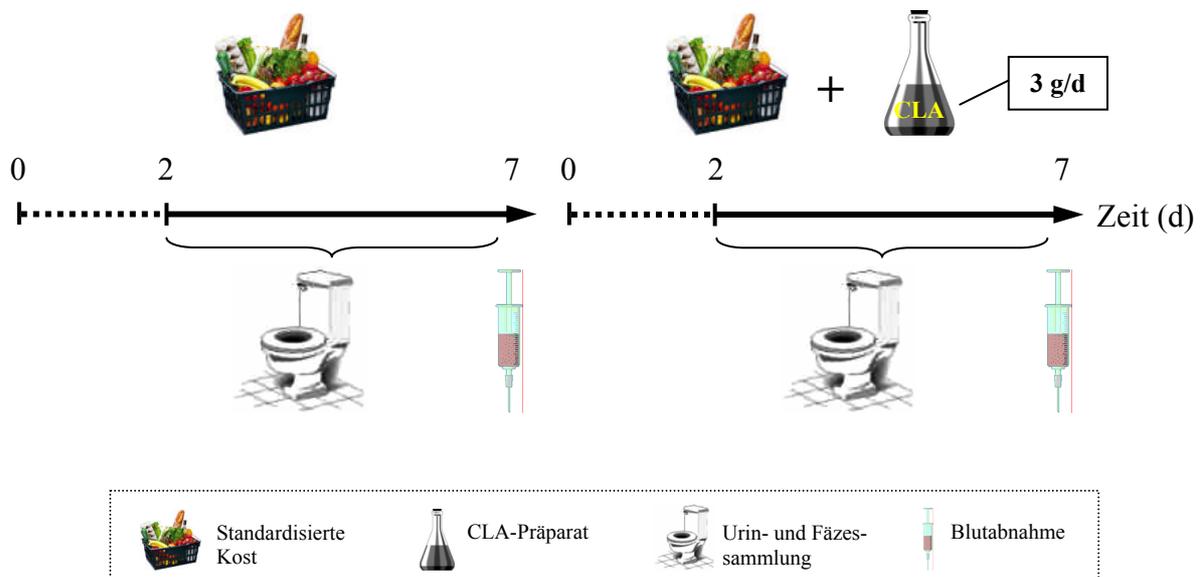


Abbildung 3-1: Studiendesign der Humanstudie

3.2 Rattenversuch

Das Versuchsvorhaben wurde nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes beim Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz (Abteilung Gesundheitlicher Verbraucherschutz, Veterinärwesen) angemeldet und unter der Registrierungsnummer 02-02/02 genehmigt.

3.2.1 Tiermaterial, Haltung und Futter

Je 12 männliche und weibliche Hanwist-Albino-Ratten (Inzuchtstamm) wurden vom Institut für Pharmakologie und Toxikologie der medizinischen Fakultät Jena zur Verfügung gestellt. Die Tiere sind mit 32 Tagen vom Muttertier abgesetzt worden. Zu Beginn des Versuches betrug das Alter der Ratten 36 Tage und das durchschnittliche Körpergewicht 106 ± 12 g.

Die Haltung der Tiere erfolgte die ersten 9 Tage in mit Weichholzgranulat eingestreuten Standardkäfigen. Das Futter sowie das Trinkwasser (Leitungswasser) standen den Tieren *ad libitum* zur Verfügung. Am 10. Tag wurden die Tiere in Einzeltier-Stoffwechselkäfige umgesetzt. Der Stoffwechselkäfig bestand aus 2 Teilen, die durch einen Gitterboden voneinander getrennt waren. Im oberen Bereich hielt sich die Ratte auf. Über den Gitterboden gelangten abgesetzte Kotboli und Harn in separate Sammelbehältnisse (Abb. 3-2).



Abbildung 3-2: Haltung der Ratten in Einzeltier-Stoffwechselkäfigen

Im Tierraum herrschte ständiger Luftwechsel, bei einer Raumtemperatur von 24 °C und einer Luftfeuchte von 60 %. Die Beleuchtungsperiode erstreckte sich von 6 bis 18 Uhr. Alle Käfige waren denselben Bedingungen ausgesetzt (Beleuchtung, Temperatur, Luftfeuchte). Als Basisfutter wurde handelsübliches pelletiertes Ratten-Alleinfutter (RM/H 10 mm) von der Firma SSNIFF SPEZIALDIÄTEN GmbH (Soest) verwendet (Tab. 3-2).

Tabelle 3-2: *Rohnährstoffgehalte des Ratten-Alleinfutters*

| Inhaltstoffe | Menge |
|---------------|---------|
| Rohprotein | 19,0 % |
| Rohfett | 3,3 % |
| Rohfaser | 4,9 % |
| Rohasche | 6,7 % |
| Energie je kg | 12,2 MJ |

Dem Futter wurden 0 %, 0,5 % bzw. 1 % Prüfsubstanz untergemischt. Um eine iso-energetische Ration mit gleichem Fettgehalt zu erhalten wurde bei den verschiedenen Futtermischungen die entsprechende Differenz durch Sojaöl ausgeglichen, so dass sich folgende Mischungen ergaben: 1 % Sojaöl (Kontrolle), 0,5 % Prüfsubstanz plus 0,5 % Sojaöl und 1 % Prüfsubstanz.

Die Prüfsubstanz wurde bei NATURAL LIPIDS Ltd. (Hovdebygda, Norwegen) unter den Namen "*Vaccenic acid 30 % - FFA*" (VA) gekauft. Hierbei handelte es sich um ein Fettsäurengemisch, dessen Anteil an *tVA* und *cVA* 31 % bzw. 11 % der FAME betrug. Die Fettsäurenverteilung der Prüfsubstanz (Tab. A-3) und der einzelnen Futtermischungen (Tab. A-4) ist dem Anhang zu entnehmen.

3.2.2 Versuchsdesign

Der Versuch wurde in eine Adaptations- und eine Sammelphase unterteilt. Beide Phasen dauerten jeweils 9 Tage. Mit der Auswahl des Versuchszeitraumes konnte auch die Entwicklung der Tiere dokumentiert werden. Die Adaptationsphase diente zur Gewöhnung der Tiere an die Käfige und das Futter, die Sammelphase zur quantitativen Erfassung von Kot und Harn. Zu Beginn des Versuches wurden die 24 Ratten geschlechtsgetrennt in 3 Supplementationsgruppen (0 % VA, 0,5 % und 1 % VA) aufgeteilt, wobei die Auswahl randomisiert stattfand (Abb. 3-3). Für die Sammelphase wurden die Tiere in die Stoffwechseleinzelkäfige umgesetzt.

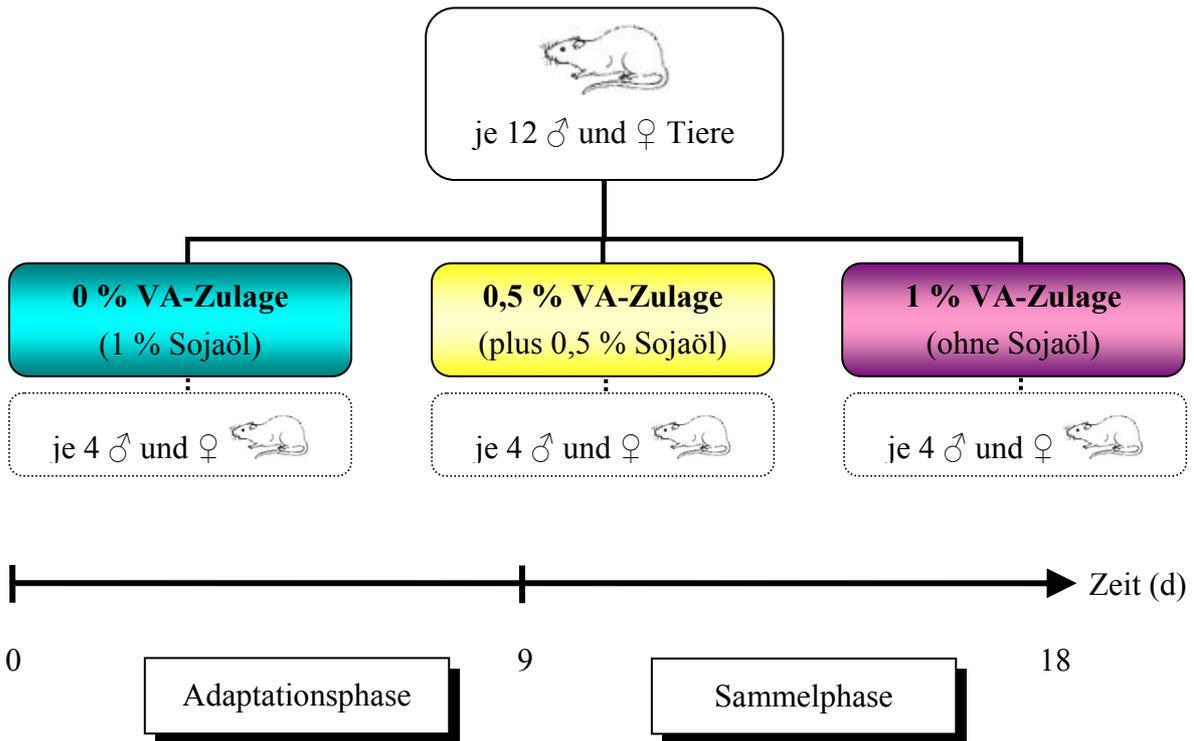


Abbildung 3-3: Versuchsdesign und zeitlicher Verlauf des Rattenversuches

3.2.3 Probennahme

Die Bestimmung des Körpergewichts und der Futteraufnahme erfolgten täglich. Während der letzten fünf Tage der Sammelphase wurden in einem 24-stündigen Rhythmus Kot und Harn quantitativ erfasst, gesammelt, gepoolt und bis zur weiteren Analyse bei -20 °C konserviert. Am Ende der Sammelphase wurden die Tiere durch Inhalationsanästhesie (CO_2 -Gas) und Entblutung getötet. Blutproben wurden durch Punktion der *Vena cava superior* gewonnen. Als Gewebe- bzw. Organproben wurden von jedem Tier Muskel (*M. quadriceps femoris*), Leber, Nieren, Herz, Thymus, Gonaden, Gehirn, braunes und weißes Fettgewebe entnommen und von 2 Tieren pro Gruppe eine Körperhälfte ohne Organe (Karkass). Mit Ausnahme der Lebern und Karkassen wurden alle Organe und Gewebe aufgrund der geringen Menge für jede Gruppe geschlechtsgetrennt gepoolt. Die Proben wurden bis zur Analyse bei -20 °C tiefgefroren.

3.3 Versuch mit fistulierten Kühen

3.3.1 Tiere, Haltungsbedingungen und Futter

Als Tiermaterial standen für den Versuch vier Kühe der Rasse Deutsche Holstein mit einer durchschnittlichen Lebendmasse von 566 ± 33 kg zur Verfügung. Jedes der Tiere war mit einer Kunststofffistel im dorsalen Pansensack (\varnothing 10 cm) und einer T-Kunststoffkanüle im proximalen Duodenum (2 cm, ca. 30 cm hinter dem Labmagenausgang) versehen. Die Tiere befanden sich zum Zeitpunkt des Versuches im zweiten bzw. letzten Laktationsdrittel. Die mittlere Milchleistung der Kühe betrug zum Versuchsbeginn $20,7 \pm 7,6$ kg FCM pro Tier und Tag. Die Kühe waren in Einzelanbindung strohlos auf Spaltenböden aufgestellt. Zweimal pro Tag wurden sie gefüttert und gemolken (5.30 und 16.00 Uhr). Als Grundfutter erhielten die Tiere angewelkte Grassilage (10 kg T je Tier und Tag); als Kraftfutter wurde eine Mischung gefüttert, die aus 25 % Sojaschrot, 20 % Gerste, 27 % Weizen und 23 % Trockenschnitzel bestand. Die Kraftfutterzulage war der Milchleistung der Tiere angepasst. Zusätzlich erhielten die Tiere täglich 200 g eines Mineralstoffgemisches (ADE Super 5, DEUTSCHE VILOMIX). Wasser stand über Tränken ad libitum zur Verfügung.

3.3.2 Versuchsdesign

Der Versuch wurde in 3 Perioden (I, II, III) unterteilt, die jeweils fünf Tage dauerten (Tab. 3-3). Die erste Periode diente als Kontrollperiode - ohne Prüfsubstanzzusatz. In der zweiten Periode wurden in einem 24-Stunden-Intervall kontinuierlich 200 g eines CLA-Gemisches über eine peristaltische Pumpe in das proximale Duodenum infundiert (Abb. 3-4). Die Flussrate des infundierten Supplementes betrug 9,2 ml/h. Periode III diente als Auswaschperiode, in der kein Supplement appliziert wurde.

Tabelle 3-3: *Experimentelles Design des Infusionsversuches*

| Versuchsperiode | Tage | N | Behandlung |
|-----------------|----------|---|-------------------|
| I | 01....05 | 4 | Kontrolle |
| II | 06....10 | 4 | 200 g CLA-Gemisch |
| III | 11....15 | 4 | Kontrolle |

Bei der verwendeten Prüfsubstanz handelte es sich um ein CLA-Gemisch der FIRMA NATURAL LIPIDS Ltd. (Hovdebygda, Norwegen). Das Gemisch mit dem Handelsnamen *Tonalin*[®], enthielt 57 % CLA der Gesamt-FAME, welche in freier Form vorlagen. Die Fettsäurezusammensetzung der Prüfsubstanz ist im Anhang in Tabelle A-2 dargestellt.

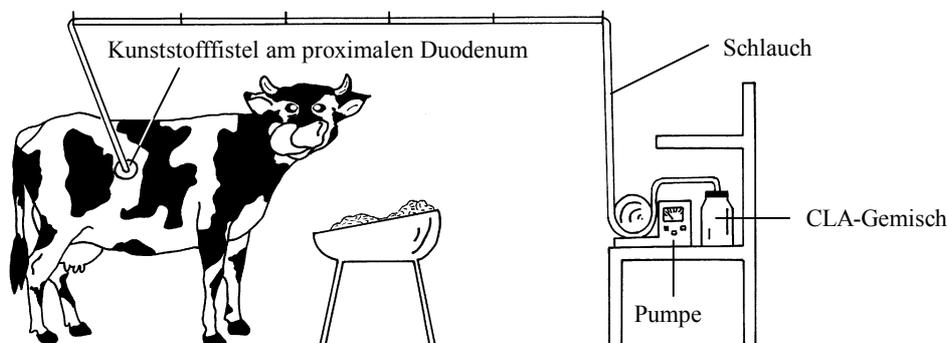


Abbildung 3-4: Prinzip der duodenalen Infusion

3.3.3 Probennahme

Die Milchmenge wurde nach jedem Melkvorgang erfasst. Zur Bestimmung der Milchinhaltstoffe wurden nach jedem Melkvorgang Aliquote gebildet. Für die Fettsäureanalytik wurden Aliquote der Tagesmengen gebildet und bei -20 °C bis zur weiteren Analyse tiefgefroren. Die Bestimmung der Milchinhaltstoffe (Laktose, Fett, Protein) erfolgte täglich mittels automatisierter Infrarotanalyse über einen MILCOSCAN[®] (FOSS ELECTRIC, Hillerød, Dänemark).

3.4 Analytik

3.4.1 Präanalytik

Gewinnung von Plasma, Serum und Erythrozyten

Venöses Blut wurde in Serum- und EDTA-Monovetten gesammelt. Plasma und Erythrozyten wurden durch eine 10-minütige Zentrifugation bei 3000 U/min voneinander getrennt. Das Plasma wurde abgenommen und die Erythrozyten dreimal mit einer physiologischen Kochsalzlösung gewaschen. Das Serum wurde nach einer 15-minütigen Koagulationszeit

bei 3000 U/min 20 Minuten zentrifugiert und abgenommen. Bis zur weiteren Analyse verblieben alle Proben bei -80 °C im Tiefkühlschrank.

Lebensmittel-, Milch-, Gewebe- und Fäzesproben

Die einzelnen Lebensmittel-, Milch-, Gewebe- und Fäzesproben wurden nach dem Auftauen lyophilisiert und anschließend in einer Labormühle zerkleinert bzw. homogenisiert. Von jeder Probe wurden entsprechende Aliquote für die Analyse gebildet.

3.4.2 Bestimmung der Nährstoffe und des physikalischen Brennwertes

Die Bestimmung der Trockensubstanz und einzelnen Nährstoffe erfolgte nach den Methoden der VDLUFA (NAUMANN & BASLER 1976). Der Trockensubstanzgehalt der Proben wurde durch Trocknung (103 ± 2 °C) und Wägung des Rückstandes ermittelt.

Der Gesamtproteingehalt wurde nach der Methode von Kjeldahl durch Erfassung des Stickstoffgehaltes bestimmt. Nach Säureaufschluss der Untersuchungssubstanz mit konzentrierter Schwefelsäure und Zugabe eines Katalysatoremisches wurde das mittels Wasserdampfdestillation freigesetzte Ammoniak in Borsäurevorlage aufgenommen und titriert. Aus dem ermittelten Stickstoffgehalt der Proben wurde durch Multiplikation mit einem definierten Faktor (6,25) der Gehalt an Rohprotein errechnet.

Die Gesamtlipide (Etherextrakt) der Proben wurde mittels der Methoden nach Weibull-Stoldt und Soxhlet erfasst. Die Proben wurden durch Kochen mit Salzsäure hydrolytisch aufgeschlossen. Das durch Filtration abgetrennte Fett wurde in einer Soxhlet-Apparatur mit Petrolether extrahiert. Der getrocknete Etherextrakt wurde gravimetrisch bestimmt.

Die Bestimmung des Bruttoenergiegehaltes im Kot und in den Karkassen wurde mittels Bombenkalorimeter PARR 1261 (PARR INSTRUMENT Co.) durchgeführt. Dafür wurden 600 mg gefriergetrocknete Probensubstanz zu einer Tablette gepresst und im Kalorimeter verbrannt. Nach der Messung wurde die in der Bombe enthaltene Flüssigkeit nach Zugabe von Tashiro-Indikator mit Natronlauge titriert. Der Brennwert der Probe wurde am Kalorimeter unter der Berücksichtigung der Zünddrahtlänge, Probeneinwaage und des NaOH-Verbrauches berechnet.

3.4.3 Analytik der Fettsäurenverteilung einschließlich CLA-Isomeren

3.4.3.1 *Lipidextraktion*

Die Isolation, Extraktion und quantitative Bestimmung der Lipide erfolgte nach der Methode von FOLCH et al. (1957) unter Modifikation der Bedingungen.

Lebensmittel-, Milch-, Gewebe- und Fäzesproben

Ein Aliquot von 10 g gefriergetrocknetem, homogenisiertem Probenmaterial wurde mit Chloroform/Methanol (2:1, v/v) versetzt und mittels ULTRA-TURRAX® homogenisiert. Um eine vollständige Denaturierung der Zellwände zu gewährleisten wurde die Probe 24 Stunden stehen gelassen. Nach Zugabe von 30 mL 2 %iger Natriumchloridlösung wurde die Probe bis zur vollständigen Phasentrennung stehen gelassen. Anschließend wurde die obere methanolische Phase abgesaugt, verworfen und die untere Phase wurde mit 2 g Natriumsulfat versetzt und filtriert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und die verbleibenden Gesamtlipide zurückgewogen.

Plasma, Serum und Erythrozyten

2 mL Methanol wurden in ein Röhrchen vorgelegt und 500 µL Probe zugetropft, anschließend mit 4 mL Chloroform versetzt und 20 Minuten im Ultraschallbad gemischt. Nach 24 Stunden Standzeit wurden 2 mL 2 %iger Natriumchloridlösung zugegeben, geschüttelt und 20 Minuten bei 6000 U/min zentrifugiert. Die obere Phase und der Proteinring wurden abgenommen und verworfen, die untere Phase mit 0,5 g Natriumsulfat versetzt, geschüttelt und 10 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde über einen Spritzenfilter filtriert und anschließend unter Stickstoffatmosphäre zur Trockene eingedampft und rückgewogen.

3.4.3.2 *Derivatisierung*

Die Methylierung ist das am häufigsten angewandte Derivatisierungsverfahren in der Fettsäureanalytik. Die Fettsäuren werden mit Hilfe von Methylierungsreagenzien in ihre entsprechenden Methylester derivatisiert, so dass das Fettsäurenmuster der Probe chromatographisch qualitativ und quantitativ bestimmt werden kann. FAME eignen sich für die Analyse an GC und Ag⁺-HPLC. In der Literatur werden zahlreiche säure- und basenkatalysierte Methylierungsverfahren beschrieben. Eine Vielzahl von Untersuchungen zeigte, dass säure- aber auch basenkatalysierte Methylierungen zu einer CLA-Intraisomerisierung zu-

gunsten der *t,t*-konfigurierten CLA sowie zu einem Verlust an Dienen durch verstärkte Methoxyartefaktbildung führen können (CHIN et al. 1992, KRAMER & ZHOU 2001). Im Rahmen eines Projektes wurden verschiedene Methylierungsverfahren auf die Fettsäuren- und CLA-Isomerenverteilung in verschiedenen biologischen Matrices geprüft, evaluiert und optimiert. Die nachstehend beschriebenen Verfahren resultieren aus dieser Untersuchung.

CLA-Präparat (Tonalin[®]), VA-Präparat, Rattenfutter

Die Veresterung der freien Fettsäuren erfolgte mit Trimethylsilyl-Diazomethan (TMS-DAM). Hierzu wurden 50 mg Probe in 2 mL *n*-Hexan/TBME (1:1, v/v) und 0,5 mL Methanol gelöst und mit 0,2 mL TMS-DAM versetzt. Die Probelösung wurde anschließend 30 Minuten im Ultraschallbad gemischt. Nach Zugabe von 2 Tropfen Eisessig und 0,5 g Natriumhydrogencarbonat erfolgte eine Zentrifugation bei 5000 U/min über 10 Minuten. Der Überstand wurde abgenommen und unter Stickstoffatmosphäre zur Trockene eingengt. Der FAME-Extrakt wurde zurückgewogen, in eine definierte Menge *n*-Hexan aufgenommen und bis zur Injektion bei 4 °C aufbewahrt.

Lebensmittel-, Gewebe-, Fäzes- und Blutproben, CLA-Präparat (Selin-TG[®])

Die Umesterung erfolgte mit Tetramethylguanidin (TMG). Als Grundlage diente die von SCHUCHARDT und LOPES (1988) entwickelte Methode. 50 mg Lipidextrakt wurden mit 800 µL Methanol und 200 µL TMG versetzt, gemischt und fünf Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur erfolgte eine Zugabe von jeweils 2 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung und *n*-Hexan. Das Gemisch wurde 10 Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert und der Überstand gesammelt. Nach zweimaliger Wiederholung des Extraktionsschrittes mit je 1 mL Hexan erfolgte unter Stickstoffatmosphäre eine Einengung der organischen Phase. Der FAME-Extrakt wurde zurückgewogen und nachfolgend in einer definierten *n*-Hexan-Menge aufgenommen.

Milchproben

100 mg Lipidextrakt wurden in 2,5 mL *n*-Hexan gelöst und anschließend mit 0,5 mL Natriummethylat-Lösung derivatisiert. Nach NaHSO₄-Zugabe erfolgte eine 10-minütige Zentrifugation bei 5000 U/min. Die obere Phase wurde abgenommen und bis zur Injektion bei 4 °C aufbewahrt.

3.4.3.3 *Dünnschichtchromatographische Reinigung*

Blut- und Fäzesproben enthalten eine Vielzahl von Substanzen (z. B. Chromophoren), die eine chromatographische Analyse (GC, HPLC) stören. Aus diesem Grunde schloss sich an die Methylierung eine dünnschichtchromatographische Reinigung an. Auf vorkonditionierten Kieselgelplatten (Kieselgel 60 F₂₅₄ 20 x 20 cm) wurden 500 µL methylierte Probe bandförmig (5 cm) und 20 µL eines Vergleichssubstanzgemisches punktförmig aufgetragen. Anschließend wurden die Platten in die Trennkammer gestellt, die als Laufmittel *n*-Hexan/Diethylether/Eisessig (85 mL/15 mL/1 mL) enthielt. Die Entwicklungsdauer der Platten betrug 30 Minuten (Laufstrecke ca. 10 cm). Die entwickelten Platten wurden getrocknet und mit einem Sprühreagenz (0,2 % 1,2 Dichlorfluorescein in Ethanol) besprüht. Es bildeten sich mit den Substanzonen gefärbte Komplexe, die unter UV-Licht bei 254 nm detektiert wurden. Mit Hilfe des Vergleichssubstanzgemisches konnte zusätzlich die Effizienz des Derivatisierungsverfahrens überprüft werden. Die Bande der FAME wurde abgekratzt und in jeweils 2 mL Chloroform und *n*-Hexan aufgenommen und gelöst. Nach 10 Minuten Zentrifugation bei 5000 U/min wurde der Überstand abgenommen und gesammelt. Dieser Extraktionsschritt wurde zweimal mit der halben Lösungsmittelmenge wiederholt. Die gesammelten Extrakte wurden unter Stickstoffatmosphäre zur Trockene eingedampft, zurückgewogen und anschließend in einer definierten *n*-Hexan-Menge aufgenommen.

3.4.3.4 *Chromatographische Analysenmethoden*

Die durch Umesterung gewonnenen FAME wurden nach zwei unterschiedlichen GC-Verfahren und mittels Ag⁺-HPLC analytisch bestimmt. Die Kombination beider Methoden ist notwendig um alle Fettsäuren, einschließlich *cis*- und *trans*-Isomeren der Ölsäure, und CLA-Isomeren zu trennen (KRAMER et al. 1999, KRAMER et al. 2001, YURAWECZ & MOREHOUSE 2001).

Für die Quantifizierung wurde Trtricosanoylglycerid (LARODAN FINE CHEMICALS AB, Malmö, Schweden) als interner Standard verwendet (ca. 10 % der Gesamt-FAME). Diese Fettsäure wurde aufgrund der Lage im Chromatogramm, der Ähnlichkeit zu den Analyten und des sehr seltenen Vorkommens (0,03 %) ausgewählt. Um eine repräsentative Probe zu gewährleisten, wurde der interne Standard vor dem Methylierungsprozeß zugesetzt.

Hinsichtlich der Reproduzierbarkeit, Linearität, Wiederfindung und Empfindlichkeit wurden die verschiedenen chromatographischen Analysenmethoden mehrmals geprüft.

GC-FID

Die gaschromatographischen Analysen erfolgten am GC 17-A (SHIMADZU, Kyoto, Japan). Die angewendeten GC-Bedingungen sind im Anhang (Tab. A-5) dokumentiert.

1. GC-Analyse: An einer kurzen Säule mittlerer Polarität (CP Select[®] DB 225 ms, CHROMPACK Inc., Niederlande; 30 m x 0,25 mm, 0,20 µm df) konnten die FAME in 60 Fettsäuren separiert und quantifiziert werden. Diese Säule war geeignet, um eine erfolgreiche Trennung der FAME von C4 bis C25 (einschließlich verzweigt-kettiger Strukturen) in relativ kurzer Zeit (ca. 1 h) zu gewährleisten. Darüber hinaus war es möglich *c9,t11/t8,c10*-CLA von anderen CLA-Isomeren ohne weitere störende Peaks zu separieren. Eine detaillierte Analyse der Minor-CLA-Isomeren wurde mit Hilfe der Ag⁺-HPLC erreicht.

2. GC-Analyse: Die Trennung der geometrischen und Positionsisomeren der Octadecensäure (C18:1) wurde an einer hochpolaren langen Säule (CP SIL 88, CHROMPACK Inc., Niederlande; 100 m x 0,25 mm, 0,25 µm df) erreicht.

Die Kalibrierung erfolgte mit Referenzsubstanzen (SIGMA, Deisenhofen, Deutschland; LARODAN FINE CHEMICALS AB, Malmö, Schweden) über sechs verschiedene Levels. Als CLA-Standards wurden *c9,t11*, *t10,c12*, *c9,c11* und *t9,t11* (MATREYA, Pleasant Gap, PA, USA) eingesetzt. Die Validierung der Methode erfolgte unter Verwendung von hausinternen und zertifizierten Standards (BCR-Standard: CRM 164). Die Auswertung wurde mit der Software CLASS VP 5.0 der Firma SHIMADZU (Kyoto, Japan) vorgenommen. Die Identifikation der Fettsäuren erfolgte durch den Vergleich mit den Referenzsubstanzen, die einzelnen Fettsäuren ließen sich anhand der Retentionszeiten zuordnen. Mit Hilfe der jeweiligen Peakflächen wurde die Fettsäurenverteilung der Probe bestimmt. Die Quantifizierung der FAME wurde auf Grundlage eines Korrekturfaktors, basierend auf dem internen Standard, für jeden FAME durchgeführt. Die Wiederfindung betrug > 95 %. Die Teilnahme an einer internationalen Laborvergleichsuntersuchung der Deutschen Gesellschaft für Fettforschung ergab eine sehr gute Übereinstimmung der Ergebnisse mit anderen Laboratorien (DGF 2001). Die Ergebnisse der kurzen Säule wurden mit denen der langen Säule verrechnet.

Ag⁺-HPLC

Die Trennung der CLA-FAME wurde an einer LC-10 HPLC der Firma SHIMADZU (Kyoto, Japan) durchgeführt. Drei ChromSpher 5 Lipids (4,6 mm i.d. × 250 mm Stahl, 5 µm Partikelgröße; VARIAN-CHROMPACK International, Middleburg, Niederlande), analytisch Silberimprägnierte Säulen wurden in Reihe verwendet. Die Detektion erfolgte an einem UV(Vis)-Detektor bei 234 nm Wellenlänge. Der Eluent, 0,1 % Acetonitril und 0,5 % Diethylether in *n*-Hexan wurde täglich frisch hergestellt und ständig über einen Magnetrührer bewegt, um eine Entmischung der Lösungsmittel zu vermeiden. Diethylether wurde benutzt um eine Verschiebung der Retentionszeiten zu vermeiden (CORL et al. 2002). Das System arbeitete isokratisch bei einem Fluss von 1 mL/min. Das Injektionsvolumen der Test-/Probenlösungen betrug 5 - 20 µL (repräsentativ für < 250 µg Fett). Die Identifikation der einzelnen CLA-Isomeren erfolgte durch Koinjektion mit kommerziellen Referenzsubstanzen, über die relative Retentionszeit oder mittels Vergleichs der Elutionsreihenfolge der CLA-Isomeren mit verfügbaren Literaturangaben (YURAWECZ et al. 1998, KRAMER et al. 1999). Als CLA-Referenzmaterial wurde ein Mischstandard der Firma SIGMA (Deisenhofen, Deutschland) sowie reine Einzelisomeren der Firmen MATREYA (Pleasant Gap, PA, USA: *c9,t11*; *t10,c12*; *t9,t11*; *t10,t12*; *c9,c11*) und LARODAN FINE CHEMICALS AB (Malmö, Schweden: *t8,t10*; *c11,t13*) verwendet.

Die Auswertung der Chromatogramme wurde über die Peakfläche vorgenommen. Die einzelnen Isomeren wurden als prozentualer Anteil der Gesamt-CLA ermittelt. Der Gehalt der einzelnen CLA-Isomeren an den Gesamtfettsäuren wurde mit Hilfe der GC-Daten kalkuliert. Das Haupt-CLA-Isomere *c9,t11* koeluiert bei der GC-Methode mit dem Isomere *t8,c10* (JAHREIS et al. 2000). Der Gehalt der einzelnen CLA-Isomeren wurde mit Hilfe der GC-Daten berechnet: die Flächen der beiden Peaks (*c9,t11* + *t8,c10*) der HPLC-Analyse wurden summiert und ins Verhältnis zu dem "zwei-Isomeren"-Peak (*c9,t11/t8,c10*) der GC-Analyse gesetzt:

$$\text{"Zwei-Isomeren"-Peakfläche}_{\text{GC}} = (c9,t11 + t8,c10)\text{-Peakfläche}_{\text{HPLC}}$$

Die Gehalte der anderen Isomeren im Untersuchungsmaterial wurden berechnet, indem deren Peakfläche ins Verhältnis zur Fläche des Hauptisomeren *c9,t11* gesetzt wurde. Unter Verwendung des internen Standards aus der ersten GC-Analyse wurden die Ergebnisse als absolute Werte in mg/g Fett angegeben.

3.4.4 Indikatoren der Lipidperoxidation

8-iso-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (8-iso-PGF $_{2\alpha}$), bzw. 15-keto-dihydro-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (15-keto-DH-PGF $_{2\alpha}$), sind Indikatoren der nicht enzymatisch bzw. enzymatisch katalysierten Lipidperoxidation. Im Harn der Ratten erfolgte die Bestimmung beider Substanzen mittels eines hochspezifischen und sensitiven Radioimmunoassays (BASU 1998a,b). Die Analyse wurde dankenswerterweise von Dr. Basu von der Sektion Geriatrie/Klinische Ernährungsforschung der medizinischen Fakultät an der Universität Uppsala in Schweden durchgeführt.

3.5 Statistische Auswertung

Die Erfassung der Daten erfolgte mit Microsoft Excel 98 (V. 7.0; MICROSOFT CORPORATION, Redmond, WA 98052-6399 USA). Für die Datenanalyse und statistische Auswertung wurde SPSS (V. 10.0; SPSS Inc., Chicago, Illinois 60606 USA) verwendet. Die Gewebe, Karkassen, Seren und Erythrozytenmembranen aus dem Rattenversuch mussten aufgrund der geringen Masse gepoolt werden. Die daraus resultierende geringe Probenanzahl ermöglichte in diesen Fällen keine statistische Datenauswertung. Daten des Rattenversuches, die von jedem Tier erfasst werden konnten, sowie die Parameter aus dem Versuch mit fistulierten Kühen wurden unter Verwendung der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) ausgewertet. Die Prüfung signifikanter Differenzen zwischen den Mittelwerten der verschiedenen Gruppen bzw. Perioden erfolgte im Post-Hoc-Verfahren mittels Scheffé-Test. Zur Prüfung des Periodeneffektes auf Signifikanz wurde für die annähernd normalverteilten Analysenwerte aus der Humanstudie eine GLM Messwiederholung durchgeführt. Dieses Verfahren eliminiert die individuelle Varianz. Das heißt, der Signifikanzberechnung liegen nicht die Mittelwerte sondern die Differenzen zwischen den Messwiederholungen (Perioden) zugrunde.

Die Prüfung von Zusammenhängen zwischen verschiedenen quantitativen Merkmalen erfolgte mit Hilfe von Korrelationsanalysen.

Für die numerischen Ergebnisse wurden Mittelwerte und (bei $N > 2$) die Standardabweichungen angegeben. Zur Kennzeichnung signifikanter Unterschiede ($P < 0,05$) zwischen den Mittelwerten dienten unterschiedliche Indizes.

4 ERGEBNISSE

4.1 Humaninterventionsstudie (Absorptionsversuch)

4.1.1 Aufnahme, Exkretion und scheinbare Verdaulichkeit

Die zugeführte Menge an Frischsubstanz, Trockensubstanz bzw. Wasser unterschied sich zwischen den Perioden nicht (Tab. 4-1). Auch hinsichtlich der Nährstoffaufnahme (Lipide, Stickstoff, Protein) war keine Änderung zu verzeichnen. Die tägliche CLA-Aufnahme über die Lebensmittel betrug im Mittel 468 mg (Kontrollperiode) bzw. 476 mg (CLA-Zulageperiode). Individuell, wurden in Abhängigkeit von der verzehrten Butter-, Milch- und Milchproduktmenge, zwischen 280 mg und 665 mg CLA pro Tag aufgenommen. In der Zulageperiode stieg die CLA-Aufnahme, entsprechend der Studienfrage, um das Fünffache an.

Tabelle 4-1: *Mittlere Aufnahme von Lebensmitteln, Nährstoffen und CLA pro Person und Tag*

| | Kontroll-Periode | CLA-Zulage-Periode |
|-----------------------------|------------------|--------------------|
| Lebensmittel/Getränke [g/d] | | |
| Frischsubstanz | 1371 ± 247 | 1374 ± 299 |
| Trockensubstanz | 528 ± 97 | 540 ± 101 |
| Wasser | 2942 ± 584 | 2955 ± 745 |
| Nährstoffe [g/d] | | |
| Lipide | 112 ± 26 | 112 ± 27 |
| Stickstoff | 14 ± 2 | 15 ± 2 |
| Protein (N x 6,25) | 88 ± 12 | 91 ± 13 |
| CLA [mg/d] | | |
| Lebensmittel | 468 ± 142 | 476 ± 154 |
| Gesamt (incl. Präparat) | 468 ± 142 | 2397 ± 192* |

* signifikante Unterschiede ($P < 0,05$)

Für die Ausscheidung an Frisch- und Trockensubstanz ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Perioden (Tab. 4-2). Der Anteil an fäkal ausgeschiedenem Stickstoff blieb

ebenfalls unbeeinflusst. Über die Fäzes wurden in der Zulageperiode tendenziell weniger Lipide ausgeschieden ($P = 0,10$). Bedingt durch die CLA-Supplementation war die fäkale CLA-Exkretion im Vergleich zur Kontrollperiode signifikant erhöht ($P < 0,05$). Die Urinmenge lag in der Zulageperiode vergleichsweise höher. Dieses Ergebnis ist auf die hohe Standardabweichung zurückzuführen (1195 g/d vs. 2675 g/d), die sich aus der individuell variierenden Flüssigkeitsaufnahme ergeben. In der Zulageperiode stieg die renale Stickstoffexkretion signifikant an ($P < 0,05$).

Tabelle 4-2: *Mittlere fäkale und renale Ausscheidung pro Person und Tag*

| | Kontroll-Periode | CLA-Zulage-Periode |
|-------------------|------------------|--------------------|
| Stuhl [g/d] | | |
| Frischsubstanz | 135 ± 53 | 135 ± 48 |
| Trockensubstanz | 33 ± 8 | 32 ± 7 |
| Urin [g/d] | 1576 ± 382 | 1768 ± 590 |
| Nährstoffe [g/d] | | |
| Lipide, fäkal | 6 ± 2 | 5 ± 1 |
| Stickstoff, fäkal | 2 ± 1 | 2 ± 1 |
| Stickstoff, renal | 11 ± 2 | 13 ± 2* |
| CLA, fäkal [mg/d] | 12 ± 6 | 25 ± 15* |

* signifikante Unterschiede ($P < 0,05$)

Die Bilanz eines Nährstoffs stellt das Verhältnis zwischen Aufnahme und Exkretion dar. In die Berechnung der Bilanz wurden die Aufnahme vom zweiten bis zum vorletzten Tag der standardisierten Kost und die um einen Tag versetzten Ausscheidungen einbezogen. Auf diese Weise wurde der Passagezeit der Nahrung im Magen-Darm-Trakt Rechnung getragen. Die Bilanz der Lipide unterschied sich zwischen den Perioden nicht (Tab. 4-3). Demgegenüber war die Stickstoffbilanz während der Zulageperiode signifikant vermindert. Die Kalkulation der Stickstoff-Wiederfindung spiegelt diese Beobachtungen ebenfalls wider (93 % Kontrollperiode vs. 101 % Zulage-Periode). Beide Ergebnisse resultierten aus der höheren renalen Stickstoffausscheidung in der Zulageperiode. Für die scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz, der Lipide und des Stickstoffs ergaben sich keine signifikanten Änderungen zwischen den Versuchsperioden.

Tabelle 4-3: *Mittlere Bilanz, scheinbare Verdaulichkeit und Wiederfindung der Nährstoffe pro Person und Tag*

| | Kontroll-Periode | CLA-Zulage-Periode |
|-------------------------------|------------------|--------------------|
| Bilanz [g/d] | | |
| Lipide | 105 ± 26 | 107 ± 27 |
| Stickstoff | 1,0 ± 1,3 | -0,1 ± 1,5* |
| CLA | 0,5 ± 0,1 | 2,4 ± 0,2* |
| Scheinbare Verdaulichkeit [%] | | |
| Trockensubstanz | 94 ± 2 | 94 ± 1 |
| Lipide | 94 ± 2 | 95 ± 1 |
| Stickstoff | 88 ± 4 | 88 ± 3 |
| Wiederfindung [%] | | |
| Stickstoff | 93 ± 10 | 101 ± 11* |

* signifikante Unterschiede ($P < 0,05$)

4.1.2 Fettsäurenverteilung in den Serumlipiden

Sowohl für den SFA-Gehalt als auch für den PUFA-Gehalt des Serums, nicht jedoch für den MUFA-Gehalt, konnten signifikante Unterschiede in Abhängigkeit von der CLA-Zulage nachgewiesen werden (Tab. A-6). Die CLA-Supplementation wirkte sich unterschiedlich auf die SFA aus. Während die Anteile an mittelkettigen SFA (C12:0, C14:0) in der Tendenz abnahmen, stieg der Gehalt an langkettigen SFA an. Insgesamt wurde für die SFA ein signifikanter Anstieg nachgewiesen ($P < 0,05$). Dagegen war der Gehalt an PUFA im Serum signifikant vermindert ($P < 0,05$). Am stärksten sank der LA-Gehalt ab (13 %). Der CLA-Gehalt im Serum der einzelnen Probanden lag während der Kontrollperiode zwischen 1,9 und 3,7 mg/g Fett (Abb. 4-1). Unter dem Einfluss der CLA-Zulage stieg der Serum-CLA-Gehalt erwartungsgemäß an ($7,34 \pm 1,38$ mg/g Fett). Der höchste gemessene Wert lag bei 9,4 mg/g Fett und der niedrigste bei 5,7 mg/g Fett. Für den CLA-Anstieg wurden signifikante individuelle Unterschiede nachgewiesen. Die Serum-CLA-Konzentration erhöhte sich um das 2- bis 4-fache. Auffällig war, dass die Probanden, die den niedrigsten CLA-Ausgangswert im Serum hatten, die höchste Steigerungsrate aufwiesen.

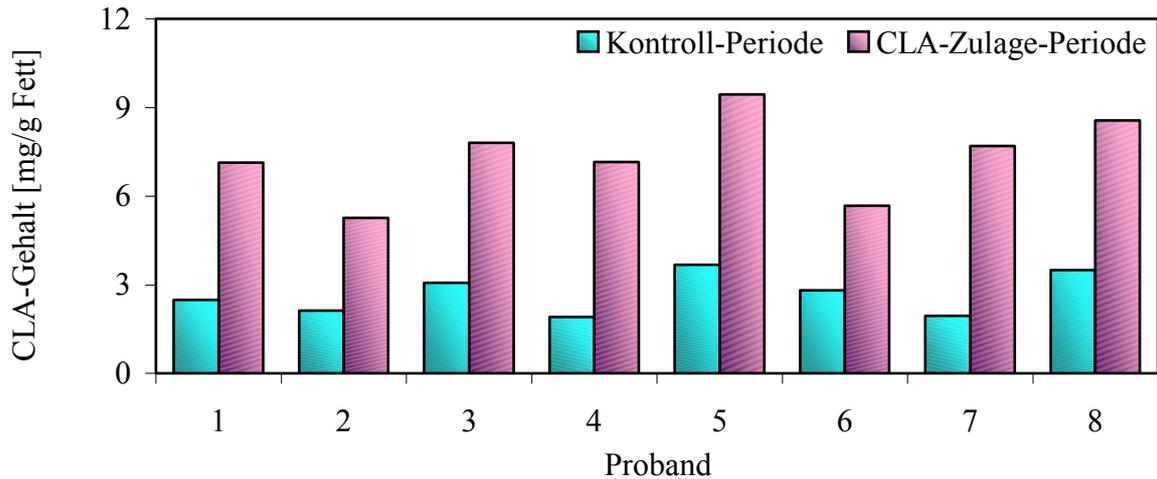


Abbildung 4-1: CLA-Gehalt (mg/g Fett) im Serum während der Kontroll- und CLA-Zulage-Periode

Zwischen der CLA-Aufnahme und der Serumkonzentration an CLA bestand ein enger linearer Zusammenhang (Abb. 4-2).

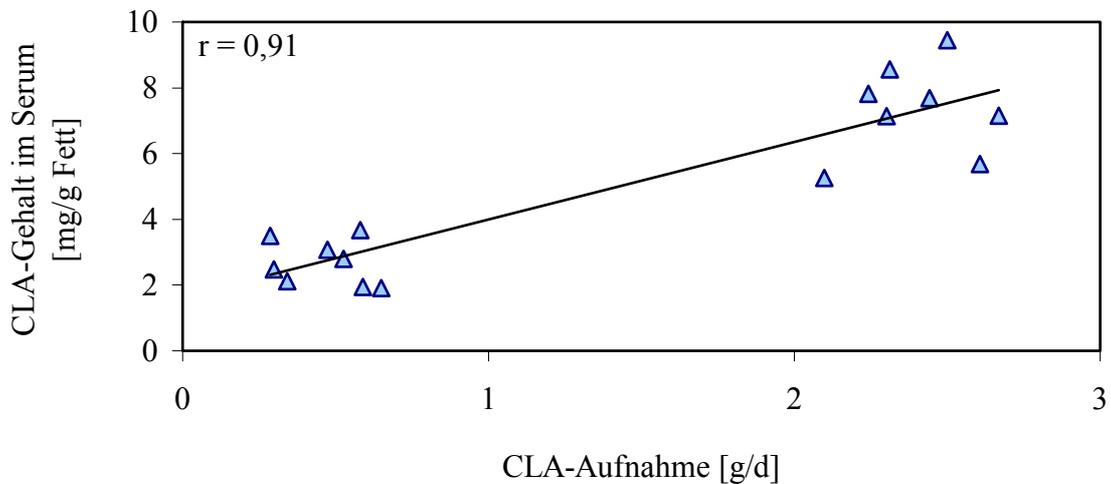


Abbildung 4-2: Zusammenhang zwischen CLA-Aufnahme und CLA-Gehalt im Serum ($N = 8$; $P < 0,01$)

Das Serum der Probanden wies in der Kontrollperiode ein ähnliches CLA-Isomerenmuster wie Milch bzw. Milchprodukte auf (Tab. 4-4). Dabei entfielen 7,5 % auf die *t,t*-Isomeren, 90 % auf die Mischisomeren und 2,5 % auf die *c,c*-Isomeren. Den Hauptanteil, im Mittel 77 %, machte das Isomere *c9,t11* aus. Die Isomeren *t7,c9*, *t9,t11*, *t8,c10* und *c9,c11* folgten absteigender Reihenfolge.

Tabelle 4-4: Mittlere CLA-Isomeren-Verteilung im Serum (mg/g Fett; % der Σ -CLA)

| Isomere | mg/g Fett | | % der Σ -CLA | | |
|----------------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------|
| | Kontrolle | CLA-Zulage | Kontrolle | CLA-Zulage | |
| <i>trans,trans</i> | 13,15 | - | 0,02 ± 0,03 * | - | 0,4 ± 0,5 * |
| | 12,14 | 0,01 ± 0,01 | 0,13 ± 0,04 * | 0,4 ± 0,1 | 1,9 ± 0,6 * |
| | 11,13 | 0,02 ± 0,01 | 0,27 ± 0,11 * | 0,8 ± 0,2 | 3,9 ± 1,5 * |
| | 10,12 | 0,04 ± 0,01 | 0,42 ± 0,13 * | 1,5 ± 0,5 | 5,6 ± 1,2 * |
| | 9,11 | 0,08 ± 0,02 | 0,39 ± 0,06 * | 2,9 ± 0,6 | 5,4 ± 0,8 * |
| | 8,10 | 0,01 ± 0,01 | 0,11 ± 0,05 * | 0,4 ± 0,1 | 1,5 ± 0,5 * |
| | 7,9 | 0,04 ± 0,01 | 0,28 ± 0,09 * | 1,4 ± 0,1 | 3,7 ± 0,6 * |
| <i>cis,trans/trans,cis</i> | 12,14 | 0,01 ± 0,01 | 0,17 ± 0,02 * | 0,2 ± 0,4 | 0,6 ± 0,2 |
| | <i>t</i> 11, <i>c</i> 13 | 0,02 ± 0,01 | 0,80 ± 0,02 * | 0,8 ± 0,8 | 1,1 ± 0,2 |
| | <i>c</i> 11, <i>t</i> 13 | 0,04 ± 0,01 | 1,38 ± 0,11 * | 1,4 ± 0,1 | 10,6 ± 1,7 * |
| | 10,12 | 0,05 ± 0,01 | 2,28 ± 0,07 * | 1,8 ± 0,4 | 10,3 ± 1,3 * |
| | 9,11 | 2,08 ± 0,55 | 10,29 ± 0,63 * | 77,4 ± 2,3 | 41,7 ± 0,8 * |
| | 8,10 | 0,08 ± 0,03 | 1,18 ± 0,16 * | 2,8 ± 0,9 | 6,6 ± 1,0 * |
| | 7,9 | 0,16 ± 0,05 | 0,22 ± 0,05 | 5,6 ± 1,2 | 2,5 ± 0,3 * |
| <i>cis,cis</i> | 11,13 | - | 0,23 ± 0,01 * | - | 1,5 ± 0,1 * |
| | 10,12 | - | 0,35 ± 0,02 * | - | 1,1 ± 0,1 * |
| | 9,11 | 0,07 ± 0,02 | 0,35 ± 0,03 * | 2,5 ± 0,6 | 1,6 ± 0,2 * |
| | 8,10 | - | 0,19 ± 0,02 * | - | 0,4 ± 0,2 * |
| Σ <i>t,t</i> | 0,20 ± 0,05 | 1,61 ± 0,34 * | 7,5 ± 1,1 | 21,9 ± 1,5 * | |
| Σ <i>c/t</i> | 2,42 ± 0,64 | 5,38 ± 0,40 * | 90,0 ± 2,0 | 73,4 ± 1,3 * | |
| Σ <i>c,c</i> | 0,07 ± 0,02 | 0,35 ± 0,10 * | 2,5 ± 0,6 | 4,7 ± 0,4 * | |

* signifikante Unterschiede ($P < 0,05$)

Die absoluten Gehaltswerte der einzelnen CLA-Isomeren stiegen in der Zulageperiode signifikant an ($P < 0,05$). Entsprechend der mengenmäßigen Verteilung der Isomeren im Präparat nahm deren Gehalt im Serum zu. Die CLA-Supplementation resultierte in einer Verschiebung des Serum-CLA-Isomerenmusters. Die Anteile an *t,t*- und *c,c*-Isomeren stiegen auf Kosten der Mischisomeren signifikant an. Während die Anteile an *c9,t11*, *t7,c9* und *c9,c11* im Mittel um die Hälfte abfielen, erhöhten sich die Anteile der Minorisomeren. Individuelle Unterschiede im relativen CLA-Isomerenmuster zwischen den Probanden wurden nicht festgestellt. Die Verteilung der CLA-Isomeren im Serum reflektierte das

Isomerenmuster des Supplementes. Die Ergebnisse lassen auf eine gute Compliance (kontinuierliche Einnahme des Supplementes) schließen.

4.1.3 Fettsäurenverteilung in den Fäzeslipiden

Aufgrund der starken individuellen Schwankungen in der täglichen Fettsäureausscheidung wurden die Fettsäuregehalte auf eine tägliche Fettsäureausscheidung von 5 g adjustiert (Tab. A-7). Unter dem Einfluss der CLA-Supplementation änderte sich die Ausscheidung der Fettsäurenanteile. Während bei CLA-Gabe signifikant mehr SFA ausgeschieden wurden, sank der Anteil an exkretierten PUFA signifikant ab ($P < 0,05$). Die Anteile an MUFA unterschieden sich hingegen nicht. Die tägliche fäkale Ausscheidung an mittelkettigen Fettsäuren, berechnet pro g Trockensubstanz, war in der Zulageperiode signifikant höher, wogegen LA und C18:3 n6 signifikant weniger exkretiert wurden ($P < 0,05$). Im Vergleich zur Kontrollperiode waren LA und C18:3 n6 in den Fäzesproben der Supplementationsperiode in deutlich niedrigeren Konzentrationen vorhanden (LA 36 % ↓, C18:3 63 % ↓). Für C14:0, AA und C24:1 n9 wurden dagegen signifikant höhere Konzentrationen in den Fäzes gefunden ($P < 0,05$; C14:0, AA 30 % ↑; C24:1 100 % ↑). Als Folge der CLA-Supplementation nahm die tägliche fäkale Ausscheidung an CLA im Mittel um 120 % zu. Die Ergebnisse der CLA-Gehalte in der Trockensubstanz der Fäzes bestätigen den signifikanten Anstieg (Abb. 4-3).

In der fäkalen Ausscheidung an CLA wurden starke individuelle Unterschiede festgestellt. Während für Proband 6 kein Anstieg in der fäkalen Ausscheidung an CLA, berechnet pro g T, nachgewiesen wurde, stieg bei Proband 7 die fäkale Exkretion an CLA um das 4,5-fache an. Wird die tägliche fäkal-exkretierte Menge an CLA auf die ausgeschiedene Fettmenge bezogen, fällt auf, dass die Probanden 2, 3 und 7 prozentual den höchsten Anteil an CLA ausschieden (Proband 2: 0,9 %, Proband 3 und 7: 0,8 %). Weder zwischen der CLA-Aufnahme noch dem CLA-Gehalt im Serum und der fäkalen Ausscheidung an CLA wurden biostatistische Zusammenhänge gefunden.

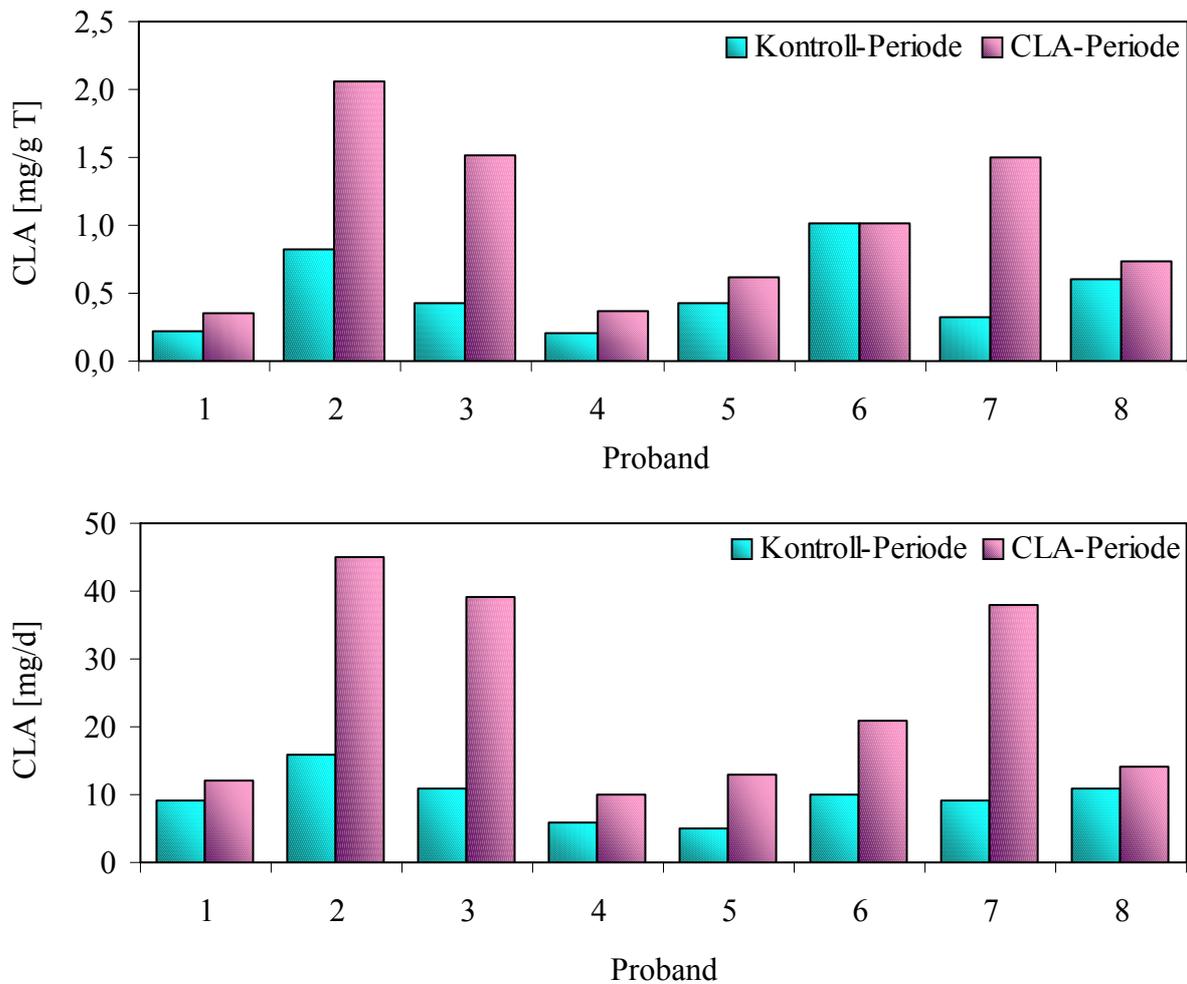


Abbildung 4-3: *Mittlere CLA-Exkretion in mg/g T und in mg/d bei normierter Fettscheidung (5 g Fett/d)*

In der Verteilung der einzelnen CLA-Isomeren ergaben sich zwischen den Versuchsperioden signifikante Differenzen (Tab. 4-5). Jeder Proband zeichnete sich durch ein spezifisches Isomerenmuster aus. Aufgrund der großen Variation wurden zum Teil keine signifikanten Differenzen festgestellt. Insgesamt stieg die Konzentration nahezu aller Isomeren in den Fäzeslipiden gegenüber den Basiswerten deutlich an. Für die Isomeren 12,14 *c/t*, *t11,c13* und *c9,t11* wurden nicht signifikante aber deutlich höhere Konzentrationen gemessen. Das CLA-Supplement beeinflusste nachhaltig die CLA-Isomerenverteilung in den Fäzeslipiden. Aussagen zur Isomerenverschiebung können mit Hilfe der relativen Verteilung der einzelnen CLA-Isomeren gemacht werden. Entsprechend den Ergebnissen der Serumproben wurde *c9,t11* in den Fäzeslipiden als das Haupt-CLA-Isomere (81 %) identifiziert. Es folgten in absteigender Reihenfolge die Isomeren *t10,c12* (4,1 %) und *t10,t12* (3,8 %). Das CLA-Verteilungsmuster in den Fäzeslipiden der Zulageperiode reflektierte

überwiegend das Isomerenmuster des Präparates. Die CLA-Isomerenverteilung der Fäzeslipide änderte sich in gleicher Weise wie die der Serumlipide. Der prozentuale Anteil der Mischisomeren sank signifikant zugunsten der *t,t*- und *c,c*-Isomeren ($P < 0,05$). Der Anteil an *c9,t11* nahm um nahezu die Hälfte ab, wodurch die deutliche Verschiebung des Isomerenmusters zu erklären ist.

Tabelle 4-5: *Mittlere tägliche fäkale Exkretion an CLA-Isomeren (mg/d; % der Σ-CLA) bei normierter Fettausscheidung von 5 g/d*

| Isomere | mg/d | | % der Σ-CLA | | |
|----------------------------|--------------------|-----------------------|-------------------|---------------------|--------------|
| | Kontrolle | CLA-Zulage | Kontrolle | CLA-Zulage | |
| <i>trans,trans</i> | 13,15 | - | 0,03 ± 0,02 * | - | 0,1 ± 0,1 * |
| | 12,14 | 0,02 ± 0,02 | 0,41 ± 0,31 * | 0,3 ± 0,2 | 1,7 ± 0,4 * |
| | 11,13 | 0,04 ± 0,02 | 1,05 ± 0,81 * | 0,4 ± 0,2 | 4,4 ± 1,2 * |
| | 10,12 | 0,33 ± 0,34 | 1,41 ± 1,01 * | 3,8 ± 3,8 | 6,2 ± 2,4 |
| | 9,11 | 0,24 ± 0,09 | 1,41 ± 0,99 * | 2,5 ± 0,5 | 5,9 ± 1,1 * |
| | 8,10 | 0,04 ± 0,03 | 0,87 ± 0,66 * | 0,4 ± 0,3 | 3,7 ± 0,8 * |
| | 7,9 | - | 0,37 ± 0,30 * | - | 1,5 ± 0,4 * |
| <i>cis,trans/trans,cis</i> | 12,14 | 0,06 ± 0,05 | 0,17 ± 0,16 | 0,6 ± 0,5 | 0,7 ± 0,3 |
| | <i>t11,c13</i> | 0,33 ± 0,12 | 0,80 ± 0,61 | 3,5 ± 0,8 | 3,5 ± 0,4 |
| | <i>c11,t13</i> | 0,03 ± 0,03 | 1,38 ± 1,08 * | 0,3 ± 0,3 | 6,0 ± 1,5 * |
| | 10,12 | 0,37 ± 0,17 | 2,28 ± 1,58 * | 4,1 ± 1,7 | 9,8 ± 2,0 * |
| | 9,11 | 7,74 ± 2,92 | 10,29 ± 6,68 | 81,0 ± 4,6 | 46,1 ± 9,3 * |
| | 8,10 | 0,08 ± 0,05 | 1,18 ± 0,95 * | 1,0 ± 0,7 | 4,9 ± 1,6 * |
| | 7,9 | 0,07 ± 0,04 | 0,22 ± 0,16 * | 0,7 ± 0,4 | 0,9 ± 0,3 |
| <i>cis,cis</i> | 11,13 | - | 0,23 ± 0,17 * | - | 0,9 ± 0,3 * |
| | 10,12 | 0,02 ± 0,01 | 0,35 ± 0,26 * | 0,3 ± 0,1 | 1,5 ± 0,6 * |
| | 9,11 | 0,10 ± 0,03 | 0,35 ± 0,25 * | 1,0 ± 0,3 | 1,6 ± 0,4 * |
| | 8,10 | - | 0,19 ± 0,16 * | - | 0,8 ± 0,4 * |
| Σ <i>t,t</i> | 0,67 ± 0,36 | 5,55 ± 4,05 * | 7,4 ± 3,8 | 23,5 ± 5,2 * | |
| Σ <i>c/t</i> | 8,86 ± 3,10 | 16,31 ± 9,90 * | 91,2 ± 3,9 | 71,9 ± 5,7 * | |
| Σ <i>c,c</i> | 0,12 ± 0,03 | 1,12 ± 0,79 * | 1,3 ± 0,3 | 4,8 ± 1,0 * | |

* signifikante Unterschiede ($P < 0,05$)

4.2 Rattenversuch

4.2.1 Futteraufnahme und Körpergewicht

Es wurden keine Unterschiede in der durchschnittlichen Futteraufnahme zwischen den drei Gruppen festgestellt (Tab. 4-6). Die Futteraufnahme der Weibchen war signifikant niedriger als die der Männchen ($P < 0,01$). Tendenziell verzehrten die männlichen Tiere der höchsten Supplementationsgruppe mehr Gesamtfutter als die Männchen der beiden anderen Gruppen (266,5 g vs. 253,0 g - 0,5 % VA; 252,4 g - 0 % VA). Die zugesetzte VA-Menge im Futter erhöhte versuchsbedingt die Aufnahme an *tVA* und *cVA* der Tiere.

Tabelle 4-6: Körpergewicht, Futteraufnahme und *tVA*- bzw. *cVA*-Aufnahme

| | VA-Zulage | | | | | |
|-----------------------------|-----------|--------------------|-------|--------------------|------|--------------------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| Körpergewicht [g] - Beginn | 110 | ± 12 | 102 | ± 11 | 106 | ± 13 |
| Körpergewicht [g] - Ende | 178 | ± 27 | 173 | ± 31 | 178 | ± 35 |
| Wachstumsrate [g/d] | 4,9 | ± 1,3 | 5,0 | ± 1,5 | 5,1 | ± 1,6 |
| Futteraufnahme [g/d] | 15,9 | ± 2,3 | 16,8 | ± 2,7 | 17,2 | ± 3,5 |
| Futteraufwand | 0,30 | ± 0,05 | 0,29 | ± 0,04 | 0,29 | ± 0,04 |
| <i>tVA</i> -Aufnahme [mg/d] | 0,0 | | 27,9 | ± 4,8 | 55,3 | ± 11,3 |
| <i>cVA</i> -Aufnahme [mg/d] | 9,4 | ± 1,8 ^a | 26,1 | ± 4,3 ^b | 41,6 | ± 8,0 ^c |

a, b, c – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

Die Initialgewichte der Tiere waren nicht signifikant verschieden. Die VA-Zulage beeinflusste die Wachstumsrate der Ratten zwischen den Gruppen nicht. Am Ende der Versuchs betrug das Körpergewicht der Ratten 178 ± 27 g (0 % VA), 173 ± 31 g (0,5 % VA) bzw. 178 ± 35 g (1 % VA). Signifikante Unterschiede ergaben sich hinsichtlich der Gewichtsentwicklung zwischen den Geschlechtern ($P < 0,01$). Das Körpergewicht der Tiere stieg unabhängig von der Behandlung nahezu linear an ohne adaptionsbedingte Verzögerung (Abb. 4-4).

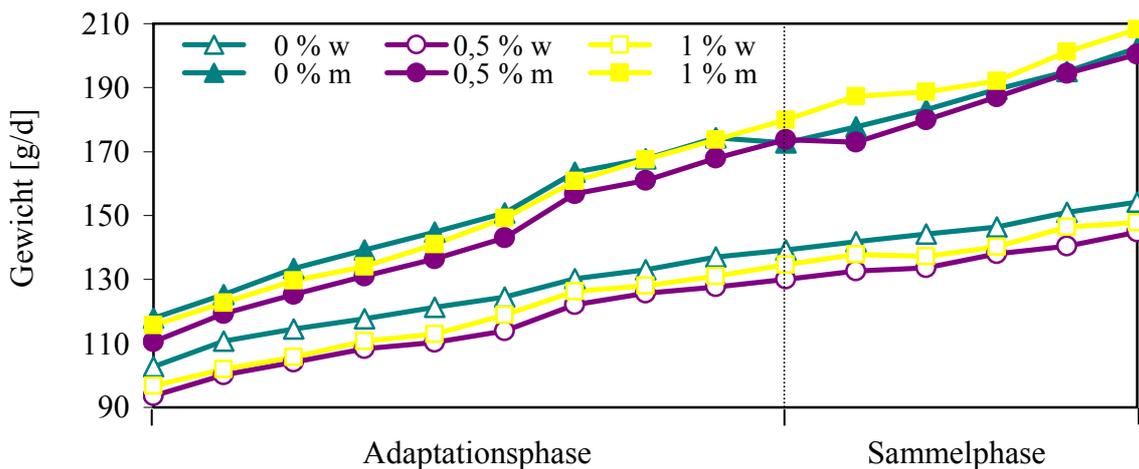


Abbildung 4-4: Gewichtsentwicklung der Ratten

4.2.2 Scheinbare Verdaulichkeit

Die tägliche Fettaufnahme blieb unbeeinflusst (Tab. 4-7). Mit steigender VA-Menge nahm die tägliche Stickstoff- und Energieaufnahme tendenziell zu ($P > 0,05$). Zwischen den Geschlechtern ergaben sich signifikante Unterschiede. Entsprechend der geringeren Futteraufnahme war bei den Weibchen im Vergleich zu den Männchen eine geringere Aufnahme von Fett, Stickstoff und Energie zu verzeichnen ($P < 0,05$).

Die mittlere tägliche fäkale Ausscheidung stieg in der Tendenz mit der VA-Menge an. Für die Fett- und Energieexkretion ergaben sich keine signifikanten Veränderungen zwischen den Gruppen. Die VA-supplementierten Tieren schieden über den Harn signifikant mehr Stickstoff aus ($P < 0,05$). Die Stickstoffausscheidung über die Fäzes blieb hingegen konstant. Für alle Exkretionsparameter wurden signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern festgestellt ($P < 0,05$). Keine signifikanten Unterschiede ergaben sich zwischen den Gruppen und Geschlechtern für die scheinbare Verdaulichkeit von Fett, Stickstoff und Energie.

Tabelle 4-7: *Aufnahme, Exkretion und scheinbare Verdaulichkeit der Nährstoffe*

| | VA-Zulage | | |
|---------------------------|-------------------------------|------------|------------|
| | 0 % | 0,5 % | 1 % |
| | Aufnahme | | |
| Trockensubstanz [g/d] | 12,9 ± 2,1 | 13,4 ± 2,4 | 13,6 ± 3,2 |
| Fett [g/d] | 0,8 ± 0,1 | 0,8 ± 0,1 | 0,8 ± 0,2 |
| Stickstoff [g/d] | 4,9 ± 0,7 | 5,1 ± 0,8 | 5,2 ± 0,2 |
| Energie [kJ/d] | 262 ± 38 | 278 ± 45 | 282 ± 58 |
| | Exkretion | | |
| Fäzes [g T/d] | 1,7 ± 0,3 | 2,0 ± 0,3 | 2,0 ± 0,4 |
| Fettausscheidung [mg/d] | 18,7 ± 5,2 | 20,7 ± 6,4 | 22,0 ± 8,1 |
| Stickstoff in Fäzes [g/d] | 0,5 ± 0,1 | 0,5 ± 0,1 | 0,5 ± 0,1 |
| Stickstoff in Harn [g/d] | 1,4 ± 0,4 | 2,2 ± 0,3 | 2,4 ± 0,3 |
| Energie in Fäzes [kJ/d] | 4,7 ± 1,1 | 5,9 ± 1,2 | 6,0 ± 1,7 |
| | Scheinbare Verdaulichkeit [%] | | |
| Fett | 97,7 ± 0,7 | 97,7 ± 0,6 | 97,0 ± 0,6 |
| Stickstoff | 90,6 ± 9,7 | 90,4 ± 7,1 | 90,3 ± 9,8 |
| Energie | 98,2 ± 0,5 | 97,9 ± 0,3 | 97,9 ± 0,2 |
| tVA | - | 95,5 ± 0,8 | 96,4 ± 1,2 |
| cVA | 80,5 ± 2,8 | 92,8 ± 1,6 | 93,6 ± 1,4 |

a, b, c – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

4.2.3 Zusammensetzung der Karkassen

Hinsichtlich des Fettgehaltes bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Supplementationsgruppen (Tab. 4-8) und Geschlechtern. Zunächst fällt auf, dass die Aufnahme von 0,5 % VA, in Abhängigkeit vom Geschlecht, den Wassergehalt der Karkassen signifikant beeinflusste ($P < 0,05$). Abweichungen im Gehalt des Gesamtkörperwassers wurden nur bei den Männchen festgestellt (0 % VA: 68,8 % ± 0,1 %; 0,5 % VA: 70,9 % ± 0,3 %; 1 % VA: 70,8 % ± 0,6 %). Für den Stickstoff- und Energiegehalt der Karkassen wurde mit steigender VA-Menge in der Tendenz ein Absinken beobachtet.

Tabelle 4-8: *Zusammensetzung der Karkassen*

| | VA-Zulage | | |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 0 % | 0,5 % | 1 % |
| Wasser [%] | 62,2 ± 0,3 ^a | 70,3 ± 0,7 ^b | 70,8 ± 0,7 ^b |
| Fett [%] | 3,8 ± 0,8 | 3,8 ± 0,3 | 3,8 ± 0,5 |
| Stickstoff [%] | 18,4 ± 0,6 | 18,1 ± 0,4 | 17,7 ± 0,8 |
| Energie [MJ/kg] | 6,1 ± 0,4 | 5,9 ± 0,2 | 5,8 ± 0,1 |

a, b – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

4.2.4 Fettsäurenverteilung in den Geweben, im Blut und in den Fäzes

4.2.4.1 Gewebe

Die Fettsäurenverteilung der einzelnen Gewebe (mit Ausnahme der Leber) und des Blutes wurde statistisch nicht ausgewertet (Tab. A-8 bis A-22). Aufgrund der geringen Menge wurden die Gewebe- und Blutproben innerhalb der Gruppe und des Geschlechtes gepoolt und analysiert. Die Fettsäuregehalte des Rattenkörpers wurden aus den Anteilen, welche die Organe zum Zeitpunkt der Tötung am Gesamtkörpergewicht hatten, und der Fettsäurenverteilung in den entsprechenden Geweben ermittelt. Fettsäuren mit geringen Gehalten wurden unter dem Begriff "Sonstige" subsumiert.

Fettsäurenanteile

Sowohl 0,5 % als auch 1 % VA im Futter senkten den Gehalt an PUFA in den Gewebelipiden (Abb. 4-5). Gleichzeitig kam es zum Anstieg der MUFA, während der Anteil an SFA unbeeinflusst blieb. Der Anteil an TFA stieg erwartungsgemäß als Folge der VA-Zulage im Rattenkörper bzw. in allen Geweben, mit Ausnahme des Gehirns, an. Die Auswertung der einzelnen Gewebe zeigte, dass die VA die Fettsäurenanteile unterschiedlich stark beeinflusste. Im Karkass, Thymus, Gehirn und in den Gonaden blieb der SFA-Anteil konstant. Demgegenüber wurde in den anderen Geweben eine geringfügige bis starke Verminderung festgestellt. In der Leber sank der SFA-Gehalt signifikant von 40,8 mg/g Fett (1 % VA) auf 36,5 mg/g Fett (0,5 % VA) bzw. 34,4 mg/g Fett (1 % VA). Der Anteil an MUFA stieg in allen Geweben, mit Ausnahme des Gehirns, dosisabhängig an (Abb. 4-5). Da für die Leber eine statistische Auswertung möglich war, konnte dieser Trend bestätigt werden. Das Absinken des PUFA-Gehaltes in Abhängigkeit von der VA-Dosis war in der Leber bzw. im Karkass statistisch gesichert ($P < 0,05$).

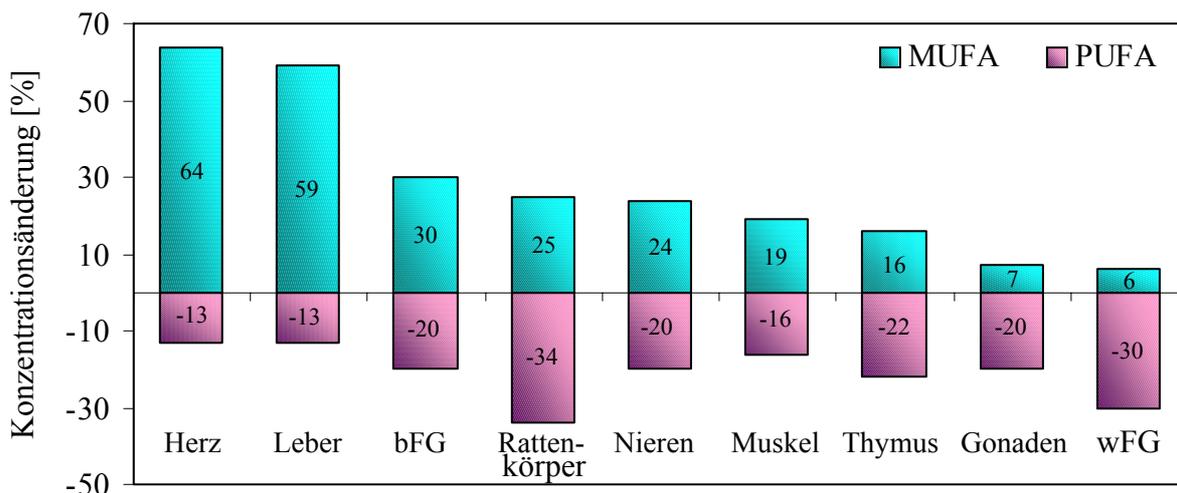


Abbildung 4-5: Prozentuale Konzentrationsänderungen an MUFA und PUFA in den verschiedenen Geweben bei höchster VA-Zulage

tVA und cVA

Der *tVA*-Gehalt im Rattenkörper der Kontrollgruppe lag im Mittel bei 0,2 mg/g Fett. Die Zulage von 0,5 % und 1 % VA erhöhte den Gehalt an *tVA* auf durchschnittlich 4,4 bzw. 9,0 mg/g Fett. Im weißen Fettgewebe und in den Ovarien wurde der höchste, im Gehirn der niedrigste *tVA*-Gehalt nachgewiesen (Tab. 4-9). Der Anteil an *tVA* stieg in den einzelnen Geweben dosisabhängig um das 35- bis 50-fache an. *cVA* wurde vergleichsweise nicht in diesem Umfang in die Gewebe eingebaut. Der Gehalt an *cVA* in den Geweben lag zwischen 32,0 mg/g Fett (Leber) und 43,0 mg/g Fett (weißes Fettgewebe, Ovarien, Herz; Tab. 4-9). Bei der höchsten VA-Zulage betrug die relative Anreicherung von *cVA* maximal das 2-fache.

Um den Einbau von *tVA* und *cVA* detaillierter zu charakterisieren, wurde deren relative Einbaurrate in die Gewebelipide ermittelt (Einbaurrate [%] = tVA/cVA). Während für den Karkass und die Gewebe Herz, Testes und Nieren eine ähnliche Einbaurrate festgestellt wurde (0,42 - 0,46 %), errechnete sich für Leber, Ovarien und Fettgewebe eine deutlich höhere Einbaurrate (0,57 - 0,63 %). In den Gehirnlipiden war die Einbaurrate mit 0,02 % am geringsten.

Auffällig war, dass *c12-* und *t12-C18:1*, die im Supplement in äquivalenten Mengen zu *tVA* und *cVA* enthalten waren, deutlich stärker in die Gewebe eingebaut wurden (Tab. A-8 bis A-22). Dabei ließ sich für *t12-C18:1* ein höherer Einbau in die Gewebelipide er-

kennen als für *c*12-C18:1. In der Leber stieg der *t*12-C18:1-Gehalt von 0,11 mg/g Fett auf 52,7 mg/g Fett, dies entspricht einer Anreicherung um den Faktor 500.

Tabelle 4-9: *Gehalt an tVA und cVA in ausgewählten Geweben der Kontrollgruppe und der Zulagegruppen [mg/g Fett]*

| | 0 % VA | | 0,5 % VA | | 1 % VA | |
|---------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| | tVA | cVA | tVA | cVA | tVA | cVA |
| Rattenkörper | 0,18 | 11,86 | 4,35 | 15,82 | 9,00 | 19,84 |
| weißes Fettgewebe | 0,38 | 22,45 | 12,20 | 31,45 | 26,95 | 43,01 |
| braunes Fettgewebe | 0,73 | 21,63 | 9,89 | 28,88 | 21,90 | 39,70 |
| Muskel | 0,41 | 23,54 | 8,34 | 30,01 | 19,44 | 39,22 |
| Leber | 0,41 | 19,70 | 10,74 | 32,92 | 18,04 | 31,92 |
| Nieren | 0,36 | 23,66 | 6,40 | 27,96 | 15,03 | 35,97 |
| Herz | 0,53 | 30,84 | 12,22 | 39,42 | 19,74 | 43,71 |
| Gehirn | 0,21 | 35,77 | 0,44 | 36,95 | 0,77 | 36,70 |
| Ovarien | 0,55 | 22,29 | 12,34 | 31,34 | 26,29 | 43,04 |
| Testes | 0,16 | 20,48 | 7,08 | 26,84 | 15,85 | 34,75 |

Ausgewählte Fettsäuren

Der Gehalt an C16:0 blieb im Rattenkörper und in den Geweben nahezu unverändert. Eine Ausnahme bildete das Herz mit einer 20 %igen Erhöhung gegenüber dem Kontrollwert. Für C16:1 n7 wurden sowohl im Rattenkörper als auch in den Geweben, mit Ausnahme der Testes, des Gehirns und des Karkasses, deutlich erhöhte Gehalte gefunden. In der Leber stieg der C16:1-Gehalt im Vergleich zum Kontrollwert um das 2,5-fache signifikant an (0 %VA: 4,4 mg/g Fett vs. 1 % VA: 10,9 mg/g Fett).

Der Anteil an C18:0 blieb im Rattenkörper nahezu konstant. In den Geweben wirkte sich die VA-Gabe hingegen unterschiedlich aus. Während der C18:0-Gehalt im Karkass, den Gonaden und im Gehirn unverändert blieb, wurde in Leber ($P < 0,05$), Herz, Nieren, Muskel, Thymus und im braunen Fettgewebe eine Verminderung beobachtet. Im weißen Fettgewebe deutete sich hingegen ein leichter Anstieg an. In Leber ($P < 0,05$), Nieren und Herz wurde ein Anstieg des C18:1 n9-Gehaltes um bis zu 65 % nachgewiesen. Im Gegensatz dazu wurde im Rattenkörper, Fettgewebe, Gehirn, Karkass und in den Gonaden ein Absinken beobachtet. Für LA und C18:3 n3 wurde in Abhängigkeit von der Behandlung ein deutlich geringerer Anteil im Rattenkörper sowie in den einzelnen Geweben festgestellt. Nur im Herz blieben die Gehalte beider Fettsäuren unbeeinflusst. Der Konzentrati-

onsabfall dieser Fettsäuren war für die Leber, aber nicht für die Karkassen, signifikant ($P < 0,05$).

Die Anteile an LCMUFA und LCPUFA (C20:1 n9, C20:2 n6, C20:3 n3, AA, C20:5 n3, C22:5 n3/n6, C22:6 n3) nahmen unter dem VA-Einfluss im Rattenkörper ab. Dieser Trend bestätigte sich für die Mehrheit der Gewebe, insbesondere im Fettgewebe wurde ein beachtlicher Konzentrationsunterschied durch die Intervention nachgewiesen. Demgegenüber zeigte sich bei der Leber ein signifikanter Anstieg für C20:3 n3, C20:5 n3 und C22:5 n3 ($P < 0,05$). Obwohl im Rattenkörper der AA-Gehalt infolge der Behandlung nur geringfügig gesenkt wurde, wirkte sich der VA-Einfluss bei einzelnen Geweben besonders deutlich aus (v. a. Muskel, Fettgewebe, Nieren, Herz). In der Leber war der AA-Gehalt signifikant vermindert (0 % VA: 212,2 mg/g Fett; 0,5 % VA: 192,0 mg/g Fett; 1 % VA: 186,8 mg/g Fett). In den Ovarien wurde hingegen ein deutlich höherer Anteil an AA beobachtet.

Die Gehalte an C22:5 n3 bzw. C22:6 n3 fielen in der Mehrheit der Gewebe um 30 bis 40 % infolge VA-Zulage ab. In der Leber blieb die C22:6 n3-Konzentration unbeeinflusst. Ferner soll darauf hingewiesen werden, dass in den Testes ein hoher Gehalt an C22:5 n6 gefunden wurde. Diese Fettsäure scheint für die Gonaden, insbesondere für die Testes, spezifisch zu sein. Der Gehalt dieser Fettsäure wurde durch die Intervention nicht verändert.

CLA

Wie erwartet, bewirkte die Aufnahme von 0,5 % und 1 % VA über das Futter in den einzelnen Geweben einen hochsignifikanten Anstieg des CLA-Gesamtgehaltes (Tab. 4-10). Insgesamt erhöhte sich der CLA-Gesamtgehalt im Rattenkörper von durchschnittlich 0,3 mg/g Fett auf 1,8 mg/g Fett (0,5 % VA) bzw. 3,7 mg/g Fett (1 % VA). Dies entspricht einer Steigerung um das 7- bzw. 14-fache. Die Analyse der einzelnen Gewebe ergab, dass CLA offenbar gewebespezifisch inkorporiert werden. Der CLA-Gesamtgehalt war im weißen Fettgewebe (12,3 mg/g Fett) und in den Gonaden (10,1 mg/g Fett) am höchsten. In der Leber wurde der geringste CLA-Gehalt (5,0 mg/g Fett) gemessen. Im Gegensatz dazu stieg der CLA-Gehalt, in Abhängigkeit von der VA-Dosis, in der Leber (12- bzw. 27-fach) und den Nieren (8- bzw. 21-fach), aber auch im weißen Fettgewebe (9- bzw. 21-fach) am stärksten an.

Tabelle 4-10: *Gehalte an Gesamt-CLA in den Geweben, Blut und Fäzes [mg/g Fett]*

| | 0 % VA | | 0,5 % VA | | 1 % VA | |
|---------------------|-------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| Rattenkörper | 0,31 | 0,23 | 1,79 | 1,80 | 3,76 | 3,63 |
| weißes Fettgewebe | 0,54 | 0,65 | 5,53 | 5,11 | 13,18 | 11,45 |
| braunes Fettgewebe | 0,55 | 0,63 | 3,26 | 3,20 | 8,18 | 7,51 |
| Karkass | 0,73 | 0,50 | 3,98 | 3,83 | 8,28 | 7,90 |
| Muskel | 0,40 | 0,52 | 2,92 | 2,46 | 6,62 | 5,99 |
| Leber | 0,23 | 0,14 | 3,11 | 1,49 | 6,38 | 3,65 |
| Nieren | 0,36 | 0,37 | 3,38 | 2,22 | 8,53 | 6,94 |
| Herz | 0,27 | 0,30 | 1,85 | 1,00 | 3,79 | 2,19 |
| Thymus | 0,35 | 0,55 | 2,78 | 2,87 | 7,25 | 7,37 |
| Ovarien | 0,53 | 0,71 | 3,99 | 4,26 | 10,13 | 10,05 |
| Serum | 0,63 | 0,71 | 3,86 | 2,11 | 6,74 | 4,65 |
| Erythrozyten | 0,90 | - ¹ | 1,42 | 2,53 | 2,85 | 2,96 |
| Fäzes | 2,95 | 2,91 | 2,20 | 2,10 | 2,01 | 2,01 |

¹ ungenügende Probenmenge

Für die Herzlipide wurden sowohl ein geringer CLA-Gehalt als auch eine niedrige Akkumulationsrate festgestellt. Im Gehirn aller Gruppen wurden keine CLA gefunden. Um die effektiv synthetisierte Menge an CLA zu ermitteln, wurde die Netto-Zunahme an CLA bestimmt. Diese ergibt sich aus der Differenz der CLA-Gehalte im Gewebe der VA-gefütterten Ratten und der CLA-Gehalte im Gewebe der Kontroll-Ratten. Im Rattenkörper betrug die Netto-Zunahme an CLA 1,5 mg/g Fett bei 0,5 % VA und 3,4 mg/g Fett bei 1 % VA im Futter (Abb. 4-6).

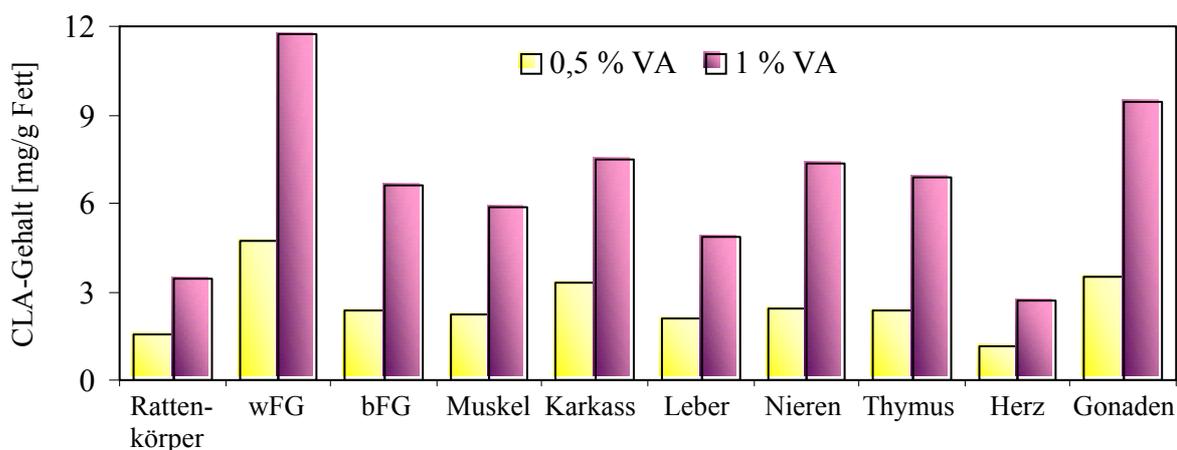


Abbildung 4-6: *Netto-Zunahme an CLA im Rattenkörper und in den einzelnen Geweben*

4.2.4.2 Serum, Erythrozytenmembran

Die Serumlipide der Kontrolltiere setzten sich aus 33 % SFA, 13 % MUFA und 52 % PUFA zusammen. Als Folge der VA-Gabe erhöhte sich der Anteil an MUFA, während der Gehalt an PUFA sank. Für die SFA ergab sich keine Veränderung. Der Gehalt an *t*VA stieg dosisabhängig im Mittel von 3,0 mg/g Fett auf 11,0 mg/g Fett (0,5 % VA) bzw. 17,9 mg/g Fett (1 % VA) an. Auch für *c*VA wurde erwartungsgemäß eine Anreicherung festgestellt; die *c*VA-Gehalte zwischen den VA-Gruppen unterschieden sich dagegen nicht. Während die Anteile an C16:1 n7, C20:1 n9, C20:3 n3 und C22:5 n3 zunahmen, fielen die Gehalte an LA, C18:3 n3, AA und C20:5 n3 ab. C18:0 und C18:1 n9 blieben unbeeinflusst. Der CLA-Gehalt in den Serumlipiden stieg im Mittel von 0,7 mg/g Fett auf 3,0 mg/g Fett (0,5 % VA) bzw. 5,7 mg/g Fett an. Dabei lag der CLA-Anteil bei den Weibchen deutlich unter dem der Männchen.

Als Folge der VA-Zulage stieg in den Lipiden der Erythrozytenmembran der SFA-Anteil auf Kosten der MUFA und PUFA an. Der *t*VA-Gehalt war im Mittel um den Faktor 15 erhöht. Im Gegensatz dazu wurde für *c*VA nur eine geringfügige Zunahme gemessen. Es fällt auf, dass die doppelte Prüfsubstanzmenge keinen weiteren Anstieg der *c*11-, *t*11-, *c*12- und *t*12-C18:1-Gehalte in den Lipiden der Erythrozytenmembran bewirkte. Die VA-Gabe erhöhte den Gehalt an C16:1 n7 und C18:0 bei gleichzeitigem Abfall aller LCMUFA und LCPUFA. Hervorzuheben ist, dass der C18:3 n3-Gehalt in der 1,0 % VA-Gruppe um 70 % abfiel. In den Lipiden der Erythrozytenmembran wurde im Mittel 2,9 mg CLA/g Fett nachgewiesen. Dies entspricht einer Vervierfachung im Vergleich zum Kontrollwert bereits nach 18 Tagen Supplementation.

4.2.4.3 Fäzes

Unter dem VA-Einfluss wurde im Gruppenvergleich tendenziell und bei den weiblichen Tieren signifikant weniger SFA ausgeschieden ($P < 0,05$; Tab. A-23, A-24). Im Gegensatz dazu war in der Gruppe mit 1 % VA-Zulage die Ausscheidung an MUFA im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht ($P < 0,05$). Die fäkale Exkretion von PUFA änderte sich durch die VA-Gabe nicht. *t*VA wurde nach VA-Zulage signifikant vermehrt ausgeschieden ($P < 0,05$). Diese Beobachtung war allerdings geschlechtsspezifisch; die Männchen zeigten keine Unterschiede in der *t*VA-Ausscheidung. Die Exkretion an *c*VA war lediglich in der Gruppe mit 1 % VA signifikant erhöht. Die Tiere der Zulagegruppen schieden signifikant mehr *t*12-C18:1 aus. Für *c*12-C18:1 wurde der gleiche Effekt wie für *t*VA festgestellt. In

den Fäzes lag der CLA-Gehalt der Kontrollgruppe im Mittel bei 2,9 mg/g Fett. In den Zulagegruppen wurde signifikant weniger CLA ausgeschieden ($P < 0,05$; 0 % VA: 2,9 mg/g Fett; 0,5 % VA: 2,2 mg/g Fett; 1 % VA: 2,0 mg/g Fett).

4.2.5 CLA-Isomerenverteilung im Gewebe, Blut und in den Fäzes

4.2.5.1 Gewebe

Als Folge der VA-Zulage stieg in den Rattenkörperlipiden die Konzentration aller Einzelisomeren an (Tab. A-25). Die Supplementation führte insbesondere zu einem signifikanten Konzentrationsanstieg an *c9,t11*-CLA (0 % VA: 0,15 mg/g Fett; 0,5 % VA: 1,49 mg/g Fett; 1 % VA: 3,33 mg/g Fett). Eine Verschiebung zwischen den CLA-Isomeren(anteilen) lässt sich mit Hilfe der relativen Verhältnisse beurteilen (% des CLA-Isomeren an Σ -CLA). Die VA-Supplementation bewirkte eine deutliche Veränderung der Isomerenverteilung. Der *c/t*-Isomerenanteil stieg von 70 % (0 % VA) auf 88 % (0,5 % VA) bzw. 92 % (1 % VA), während die *t,t*-Anteile von 16 % (0 % VA) auf 9 % (0,5 % VA) bzw. 6 % (1 % VA) und die der *c,c*-Isomeren von 14 % (0 % VA) auf 3 % (0,5 % VA) bzw. 2 % (1 % VA) abfielen. Diese Verschiebungen sind hauptsächlich auf die deutliche Zunahme des *c9,t11*-Isomeren zurückzuführen.

Unter dem VA-Einfluss stiegen die absoluten Gehalte der CLA-Isomeren in den verschiedenen Geweben an (Tab. A-26 bis A-31). In der Leber und dem Karkass wurde infolge der VA-Zulage für die Mehrheit der Isomeren ein signifikanter Konzentrationsanstieg nachgewiesen ($P < 0,05$). Der Gehalt an *c9,t11* stieg im Mittel um das 11- (0,5 % VA) bzw. 27-fache (1 % VA) an. Als die nächst häufigeren Isomeren, neben *c9,t11*, wurden *t9,t11*, *t8,t10*, *t7,t9* sowie *t7,c9* ermittelt. Die Beeinflussung der *c,c*-Isomeren fiel moderat aus.

Um die Unterschiede zwischen den verschiedenen Geweben sowie die Verschiebungen zwischen den Isomerenanteilen infolge der VA-Zulage zu verdeutlichen, sind in Tabelle 4-11 die Isomerenanteile in Prozent der Σ -CLA angegeben. Die einzelnen Gewebe der Kontrollgruppe wiesen ein spezifisches Isomerenmuster auf (Tab. A-26 bis A-31, vgl. Tab. 5-1 unter Abschnitt 5.2.3). Die Anteile der *t,t*-Isomeren lagen zwischen 19 % (braunes Fettgewebe) und 13 % (Nieren). Der mengenmäßig größte Teil entfiel mit durchschnittlich 70 % auf die *c/t*-Isomeren. Dabei wurde im weißen Fettgewebe mit 78 % der höchste und im Herz mit 56 % der niedrigste Anteil gefunden. Der mittlere Anteil an *c,c*-Isomeren betrug 15 %; der höchste Anteil wurde im Herz (28 %), der niedrigste im weißen Fettgewebe

(8 %) ermittelt. In allen Geweben wurde als Hauptisomere *c9,t11* identifiziert, dessen prozentualer Anteil zwischen 37 % (Herz) und 68 % (weißes Fettgewebe) variierte. Es folgten die Isomeren *c9,c11*, *t9,t11* und *t10,c12*. Mittels Ag^+ -HPLC konnten keine CLA-Isomeren im Gehirn nachgewiesen werden.

Tabelle 4-11: *Anteile an t,t-, c/t- und c,c-Isomeren in den verschiedenen Geweben [% der Σ-CLA]*

| | <i>t,t-Isomeren</i> | | | <i>c/t-Isomeren</i> | | | <i>c,c-Isomeren</i> | | |
|---------|---------------------|-------|------|---------------------|-------|------|---------------------|-------|-----|
| | 0 % | 0,5 % | 1 % | 0 % | 0,5 % | 1 % | 0 % | 0,5 % | 1 % |
| wFG | 14,5 | 6,7 | 5,6 | 77,9 | 91,6 | 90,6 | 7,6 | 1,7 | 1,1 |
| bFG | 19,4 | 8,9 | 7,3 | 72,0 | 88,5 | 91,2 | 9,0 | 2,7 | 1,4 |
| Karkass | 16,7 | 8,4 | 6,3 | 70,3 | 88,5 | 91,9 | 13,0 | 3,1 | 1,8 |
| Muskel | 16,1 | 9,9 | 8,4 | 68,9 | 86,9 | 89,8 | 15,0 | 3,2 | 1,8 |
| Leber | 14,4 | 8,4 | 6,8 | 62,0 | 87,5 | 91,2 | 23,6 | 4,1 | 2,0 |
| Nieren | 13,2 | 8,8 | 6,0 | 76,9 | 89,3 | 93,2 | 9,9 | 1,9 | 1,8 |
| Herz | 16,1 | 18,2 | 16,6 | 56,3 | 73,3 | 79,2 | 27,6 | 8,5 | 4,2 |
| Thymus | 15,9 | 8,7 | 7,7 | 65,5 | 85,7 | 89,3 | 18,6 | 5,6 | 3,0 |
| Gonaden | 14,4 | 6,9 | 5,1 | 71,8 | 91,0 | 93,3 | 13,8 | 2,1 | 1,6 |

Die Darstellung der relativen CLA-Isomerenanteile zeigt, dass die Aufnahme von VA eine deutliche Verschiebung des Isomerenmusters zu Folge hatte. Der Anteil an *c/t*-Isomeren stieg konzentrationsabhängig bis auf 93 % der Gesamt-CLA an, gleichzeitig verminderte sich der Anteil an *t,t*- und *c,c*-Isomeren. Dabei fällt auf, dass sich die Verschiebung der Isomerenanteile am stärksten auf die *c,c*-Isomeren auswirkte. Insgesamt fiel der *c,c*-Isomerenanteil um 85 % ab, für die Gewebe Leber und Nieren wurde sogar eine 92 %ige Senkung ermittelt. Der Anstieg der *c/t*-Isomeren resultierte aus dem signifikanten Anstieg des Hauptisomeren *c9,t11*. Dabei wurden gewebespezifische Unterschiede festgestellt.

4.2.5.2 *Serum, Erythrozytenmembran*

Hinsichtlich des CLA-Isomerenmusters zeigte sich, dass die Serumlipide die Isomerenverteilung der Gesamtkörperlipide widerspiegeln (Tab. A-32). In den Serumlipiden der Kontrolltiere wurden im Mittel 0,1 mg/g Fett (21 %) *t,t*-Isomeren, 0,5 mg/g Fett (75 %) *c/t*-Isomeren und 0,03 mg/g Fett (4 %) *c,c*-Isomeren nachgewiesen. Entsprechend den Ergebnissen der Gewebeproben wurde *c9,t11* (52 %) als Hauptisomere identifiziert. Es folgten die Isomeren *t10,c12* (12 %), *t9,t11* (11 %), *c/t 11,13* (5 %) und *c9,c11* (4 %).

Die absoluten Gehaltswerte aller CLA-Einzelisomeren stiegen nach der VA-Supplementation in den Serumlipiden an. Der Gehalt an *c9,t11* stieg im Mittel von 0,3 mg/g Fett (0 % VA) auf 2,8 mg/g Fett (0,5 % VA) und 4,5 mg/g Fett (1 % VA). Dies entspricht einer 9- bzw. 15-fachen Steigerung. Ein Vergleich der prozentualen Isomerenanteile bezogen auf den CLA-Gesamtgehalt zeigte, dass der Anteil an *c/t*-Isomeren auf Kosten der *t,t*- und *c,c*-Isomeren anstieg. Dabei nahm unter den *c/t*-Isomeren prozentual nur das 9,11-Isomere zu (Abb. 4-7).

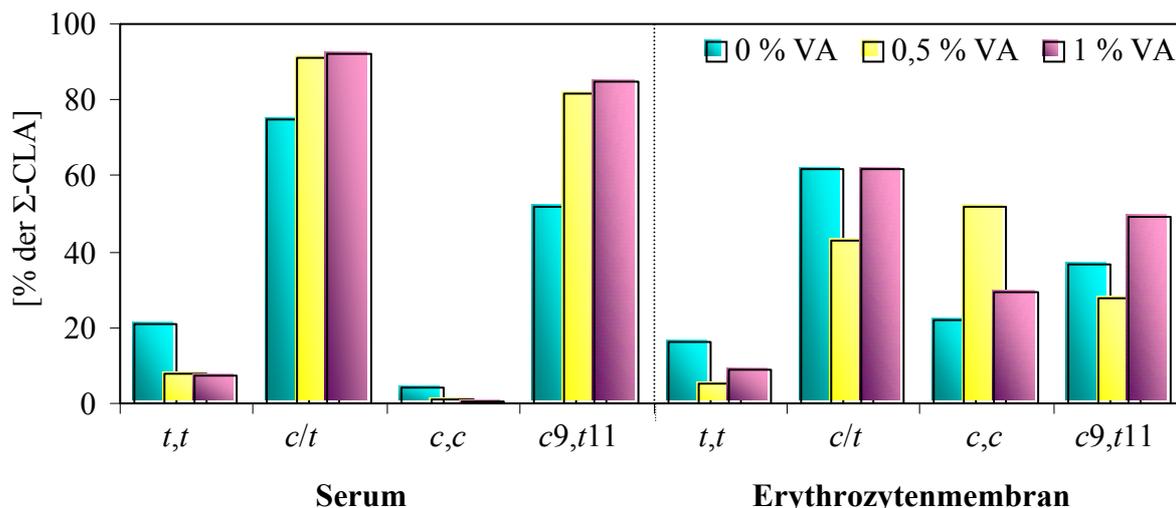


Abbildung 4-7: *Prozentuale Verteilung der Isomerenanteile und *c9,t11* in den Lipiden des Serums und der Erythrozytenmembran in Abhängigkeit von der Supplementation [in % der Σ -CLA]*

Die CLA-Isomerenverteilung der Erythrozytenmembranlipide unterschied sich deutlich von der der Serumlipide. Für die Kontrolltiere wurden 16 % (0,1 mg/g Fett) *t,t*-Isomeren, 61 % (0,5 mg/g Fett) *c/t*-Isomeren und 23 % (0,2 mg/g Fett) *c,c*-Isomeren festgestellt (Tab. A-32). Unter den *c/t*-Isomeren entfielen etwa zwei Drittel auf *c9,t11* und ein Drittel auf *t10,c12*.

Die VA-Zulage im Futter bewirkte einen Konzentrationsanstieg der Einzelisomeren. Der Gehalt an *c9,t11* stieg in Abhängigkeit von der Behandlung im Mittel von 0,3 mg/g Fett auf 0,5 mg/g Fett (0,5 % VA) bzw. 1,4 mg/g Fett (1 % VA) an. Vergleicht man die prozentualen Anteile der Isomeren, fällt auf, dass der Anteil der *t,t*-Isomeren sank, während der *c,c*-Isomerenanteil stieg (Abb. 4-7). Für den *c/t*-Isomerenanteil wurde eine Senkung nach 0,5 % VA-Zulage beobachtet. Die doppelte Menge an VA ergab hingegen keine Beeinflus-

sung. Es zeigte sich, dass entgegen der bisherigen Ergebnisse der prozentuale Anteil an $c9,t11$ nur moderat anstieg (Tab. A-32).

4.2.5.3 Fäzes

Die Fäzes waren durch ein charakteristisches CLA-Isomerenmuster gekennzeichnet. Bereits zu Beginn fällt auf, dass im Gegensatz zu den bisherigen Ergebnissen $t10,c12$ als Hauptisomere vorkam (Tab. A-33). Als nächst häufigere Isomeren traten $c9,t11$, $t10,t12$ und $t9,t11$ in absteigender Reihenfolge auf.

In den Fäzeslipiden der Kontrolltiere belief sich der t,t -Isomerenanteil im Mittel auf 36 % (1,05 mg/g Fett), der c/t -Anteil auf 59 % (1,74 mg/g Fett) und der c,c -Anteil auf 5 % (0,15 mg/g Fett). Unter dem VA-Einfluss wurden signifikant weniger t,t - und c/t -Isomeren ausgeschieden ($P < 0,05$). Die fäkale Exkretion an c,c -Isomeren blieb im Vergleich zur Kontrolle nahezu konstant. Die Darstellung der prozentualen Isomerenverhältnisse bezogen auf Σ -CLA zeigt eine Veränderung der Isomerenverteilung infolge der VA-Supplementation (Abb. 4-8).

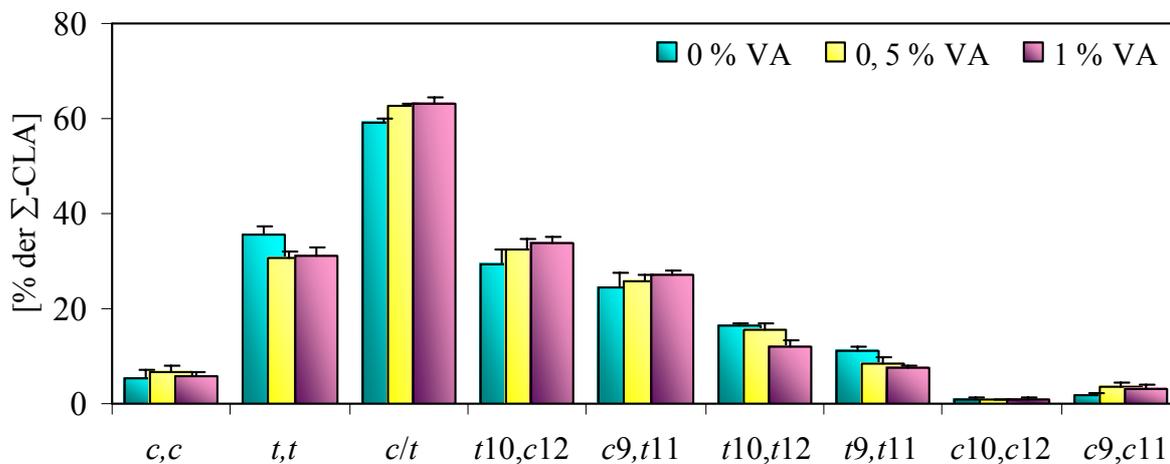


Abbildung 4-8: *Prozentuale Verteilung der Isomerenanteile und ausgewählter CLA-Isomeren in den Fäzeslipiden in Abhängigkeit von der Supplementati-on [in % der Σ -CLA]*

4.2.6 Kalkulation der *tVA*- und *cVA*-Konversion

Für die Summe der *t11*- und *c11*-Fettsäuren wurde die scheinbare Wiederfindung in den Rattenkörpern und Geweben ermittelt. Eine individuelle Betrachtung der einzelnen Tiere war nicht möglich, da aufgrund der geringen Menge die Gewebeproben gepoolt wurden. Die scheinbare Wiederfindung für die *t11*- (*c9,t11*-CLA, *tVA*) und *c11*-Fettsäuren (*c9,c11*-CLA, *cVA*) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{\text{t11-Gehalt im Körper/Gewebe (Behandlung - Kontrolle)}}{\text{tVA-Menge im Futter}} \times 100.$$

Die scheinbare Wiederfindung der *t11*-Fettsäuren betrug in Abhängigkeit von der Behandlung durchschnittlich 11 % bzw. 19 % (Tab. 4-12). Die *c11*-Fettsäuren wurden vergleichsweise prozentual effektiver eingebaut. Darüber hinaus fällt auf, dass die Weibchen im Vergleich zu den Männchen offensichtlich vermehrt *c11*-Fettsäuren akkumulierten. Die scheinbare Wiederfindung der *c11*- und *t11*-Fettsäuren im Fettgewebe unterschied sich nur geringfügig vom Rattenkörper. In den anderen Gewebearten wurde für beide Fettsäurenanteile eine scheinbare Wiederfindung unter einem Prozent festgestellt.

Tabelle 4-12: *Scheinbare Wiederfindung von t11- und c11-Fettsäuren im Rattenkörper und Fettgewebe [%]*

| | 0,5 % VA-Zulage | | | 1 % VA-Zulage | | |
|---------------------|-----------------|------|-------------|---------------|------|-------------|
| | ♂ | ♀ | \bar{x} | ♂ | ♀ | \bar{x} |
| Rattenkörper | | | | | | |
| <i>t11</i> | 12,0 | 9,7 | 10,9 | 18,4 | 18,8 | 18,6 |
| <i>c11</i> | 12,6 | 15,6 | 14,1 | 16,1 | 24,0 | 20,0 |
| Fettgewebe | | | | | | |
| <i>t11</i> | 8,6 | 7,0 | 7,8 | 14,0 | 14,3 | 14,2 |
| <i>c11</i> | 12,3 | 16,3 | 14,3 | 16,1 | 22,1 | 19,1 |

Die Konversion (Desaturation) der im Rattenkörper und in den Geweben gespeicherten *tVA* bzw. *cVA* zu *c9,t11*- bzw. *c9,c11*-CLA wurde nach der Formel von PALMQUIST & SANTORA (1999) berechnet:

$$\frac{c9,t11\text{-CLA (Behandlung - Kontrolle)}}{[c9,t11\text{-CLA (Behandlung - Kontrolle)] + [tVA (Behandlung - Kontrolle)]} \times 100.$$

Von der *tVA*-Menge, die im Rattenkörper zur Konversion zur Verfügung stand, wurden in Abhängigkeit von der Behandlung im Mittel 25 % bzw. 26 % zu *c9,t11-CLA* desaturiert (Tab. 4-13).

Tabelle 4-13: *Konversionsrate der im Gewebe gespeicherten tVA zu c9,t11-CLA im Rattenkörper und in verschiedenen Geweben [%]*

| | 0,5 % VA-Zulage | | | 1 % VA-Zulage | | |
|--------------|-----------------|------|-------------|---------------|------|-------------|
| | ♂ | ♀ | \bar{x} | ♂ | ♀ | \bar{x} |
| Rattenkörper | 23,1 | 26,1 | 24,6 | 25,9 | 26,4 | 26,1 |
| wFG | 26,2 | 27,2 | 26,7 | 28,9 | 30,6 | 29,8 |
| bFG | 19,9 | 20,2 | 20,0 | 23,3 | 23,7 | 23,5 |
| Leber | 18,3 | 9,8 | 14,0 | 23,9 | 14,4 | 19,1 |
| Nieren | 32,7 | 28,1 | 30,4 | 33,0 | 29,8 | 31,4 |
| Herz | 8,1 | 4,2 | 6,2 | 11,7 | 6,9 | 9,3 |
| Gonaden | 31,5 | 22,1 | 26,8 | 36,2 | 25,3 | 30,7 |

Die Ermittlung der Konversionsrate zeigte, dass *tVA* in den einzelnen Geweben unterschiedlich desaturiert wurde. Die höchste Konversionsrate wurde in den Nieren, Testes und im weißen Fettgewebe festgestellt. Im Gegensatz dazu wurde im Herz und in der Leber, vor allem bei den weiblichen Tieren, weniger *tVA* desaturiert. Die Konversionsraten im Rattenkörper und Fettgewebe der Weibchen waren im Vergleich zu den Männchen tendenziell höher. Bei den männlichen Tieren wurden hingegen höhere Konversionsraten in Leber, Herz und Gonaden ermittelt. Außerdem wurde deutlich, dass die 0,5 %-VA-Zulagegruppe niedrigere Konversionsraten im Vergleich zur 1 %-VA-Zulagegruppe aufwies.

Aussagen zur Desaturaseaktivität können über die Fettsäurenverhältnisse (C14:0/C14:1; C16:0/C16:1; C18:0/C18:1) oder mit Hilfe des $\Delta 9$ -Desaturase-Indexes ($\Delta 9$ -DI) getroffen werden. Letzterer wurde von CORL et al. (2001) und SMITH et al. (2002) zur Abschätzung der Stearoyl-CoA-Desaturase-Aktivität in Studien mit Milchkühen und Schweinen verwendet. Der $\Delta 9$ -DI ergibt sich aus folgender Gleichung:

$$\frac{C14:1 + C16:1 + c9-C18:1 + c11-C18:1}{C14:0 + C16:0 + C18:0 + C14:1 + C16:1 + c9-C18:1 + c11-C18:1}$$

Sowohl die Fettsäurenanteile als auch der $\Delta 9$ -DI, beide subsumiert unter dem Begriff Fettsäurenindizes, sind im Anhang in den Tabellen A-8 bis A-22 zu zusammengestellt. Der Zusatz von VA bewirkte in verschiedenen Geweben eine Veränderung der Fettsäurenverhältnisse. In der Leber fielen die Anteile von 14:0/14:1 und 18:0/18:1 signifikant ab ($P < 0,05$). Für den Muskel, Thymus und das Herz wurden ähnliche Tendenzen gefunden. Der $\Delta 9$ -DI wies unter dem VA-Einfluss in der Tendenz bzw. signifikant eine Steigerung auf (z. B. Herz, Leber). Des Weiteren zeigte sich, dass die Leber und das Herz durch einen deutlich niedrigeren $\Delta 9$ -DI gekennzeichnet waren ($< 0,3$), während das weiße Fettgewebe und die Ovarien einen sehr hohen $\Delta 9$ -DI aufwiesen ($\sim 0,5$). Geschlechtsspezifische Unterschiede wurden für die Gonaden ermittelt. Der $\Delta 9$ -DI der Weibchen lag deutlich unter dem der Männchen (0,4 vs. 0,5).

4.2.7 Prostanoid- und Prostaglandin-Metabolite im Harn

Der Gehalt an 8-iso-PGF_{2α} und 15-keto-dihydro-PGF_{2α} betrug im Harn der Kontrolltiere im Mittel 1,72 nmol/mmol Kreatinin und 0,75 nmol/mmol Kreatinin. Die Aufnahme an VA führte zu einer höheren Ausscheidung beider Metaboliten über den Harn (Abb. 4-9). Aufgrund der hohen individuellen Schwankungen ergab sich jedoch bei den untersuchten Proben keine statistische Signifikanz. Während für 8-iso-PGF_{2α} keine geschlechtsspezifischen Unterschiede festgestellt wurden, zeigte sich bei den männlichen Tieren eine deutlich höhere, jedoch nicht signifikante Ausscheidung an 15-keto-dihydro-PGF_{2α}.

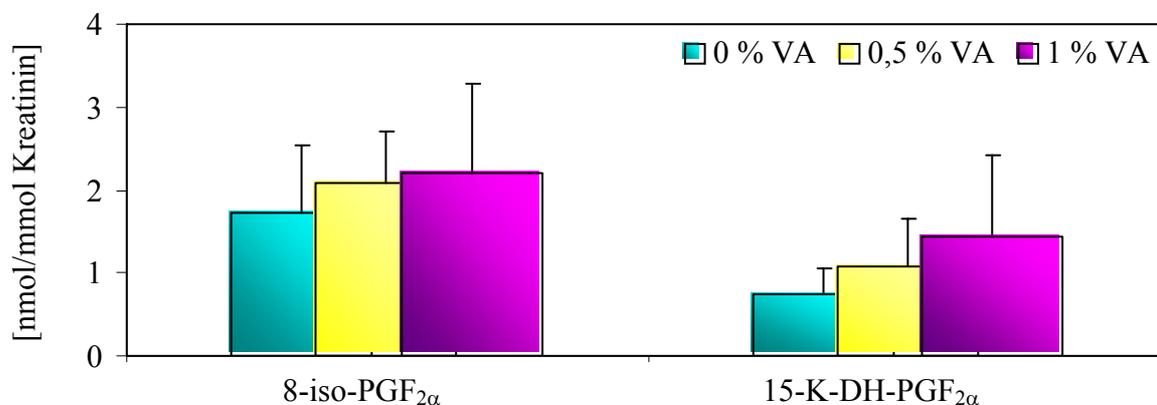


Abbildung 4-9: Prostanoid- und Prostaglandin-Metabolite im Harn

4.3 Versuch mit fistulierten Kühen

4.3.1 Milchleistung und Milchinhaltsstoffe

Die Infusion von 200 g CLA-Präparat pro Tag hatte einen moderaten Einfluss auf die Milchleistung der Kühe (Tab. 4-14). Während der Infusionsperiode sank die Milchleistung tendenziell von 20,4 auf 18,7 kg/d ab (Abb. 4-10). Der niedrigste Wert wurde am letzten Tag der Infusion mit 14,8 kg/d ermittelt. Nach der Infusion stieg die Milchleistung wieder an, erreichte den Ausgangswert der ersten Periode hingegen nicht (19,4 kg/d). Für die Milchleistung ließ sich kein signifikanter Verlauf nachweisen.

Tabelle 4-14: *Milchleistung und Milchinhaltsstoffe während der Versuchsperioden*

| | Kontrollperiode (I) | | Infusionsperiode (II) | | Kontrollperiode (III) | |
|-------------------|---------------------|---------|-----------------------|---------|-----------------------|---------|
| Milchmenge [kg/d] | 20,4 | (100 %) | 18,7 | (92 %) | 19,4 | (95 %) |
| Fett [%] | 4,85 ^a | (100 %) | 2,97 ^b | (61 %) | 3,38 ^b | (70 %) |
| Protein [%] | 3,65 | (100 %) | 3,72 | (102 %) | 3,87 | (106 %) |
| Laktose [%] | 4,34 ^a | (100 %) | 4,33 ^a | (100 %) | 4,13 ^b | (95 %) |
| Fett [g/d] | 985,2 ^a | (100 %) | 537,2 ^b | (54 %) | 631,2 ^b | (64 %) |
| Protein [g/d] | 730,1 | (100 %) | 686,2 | (94 %) | 726,7 | (100 %) |
| Laktose [g/d] | 890,7 | (100 %) | 814,6 | (91 %) | 803,5 | (90 %) |

a, b – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

Die CLA-Infusion hatte keinen signifikanten Einfluss auf den mittleren Protein- und Laktosegehalt bzw. auf die mittlere Protein- und Laktosemenge (Tab. 4-14). Im Gegensatz dazu fiel der Milchfettgehalt infolge der Infusion signifikant von 5,0 % auf 3,0 % ab (Abb. 4-10). Der niedrigste Wert wurde am 3. Tag gemessen und betrug 2,5 %. Die mittlere Milchfettmenge sank demzufolge von 985 g/d zu Beginn (Periode I) auf 537 g/d während der Infusionsperiode (Periode II). Wie aus der Tabelle 4-14 hervorgeht, stieg die mittlere Milchfettmenge nach der Infusion nur marginal wieder an. Die Abweichungen im Periodenverlauf waren statistisch hochsignifikant ($P < 0,001$). Die Ergebnisse zeigen eindrucksvoll, dass der Milchfettgehalt um 39 % und die Milchfettmenge um 46 % abfiel.

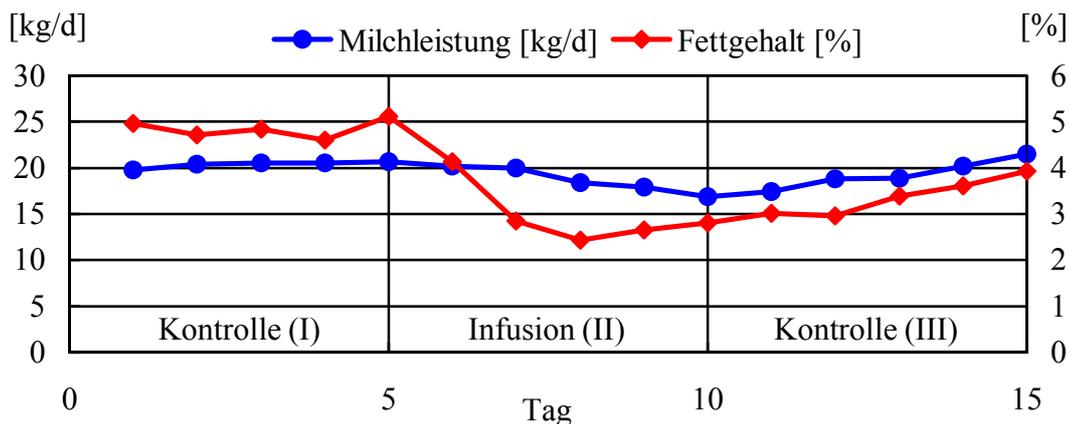


Abbildung 4-10: Einfluss der CLA-Infusion auf die Milchleistung und den Milchfettgehalt

4.3.2 Fettsäurenverteilung im Milchfett

Infolge der CLA-Infusion ergaben sich signifikante Unterschiede bei den einzelnen Fettsäuren. Die Infusion bewirkte im Milchfett eine Reduktion des Gehaltes an SCFA und MCFA sowie an C14:1 n9, C15:0, C16:0 und C16:1 n7 (Tab. A-34). Die mittleren Gehalte dieser Fettsäuren stiegen während der Postinfusionsperiode nicht wieder an, sondern unterlagen einem weiteren zum Teil signifikanten Abfall. Demgegenüber stieg im Milchfett der Gehalt der LCFA (C18:0, LA und C18:3 n3) an. C18:1 n9 blieb unbeeinflusst. Entsprechend diesen Ergebnissen wurde eine Veränderung der Verhältnisse von C14:0/C14:1, 16:0/16:1 und 18:0/18:1 ermittelt. Diese waren während der Infusionsperiode signifikant erhöht. Ein Vergleich der Fettsäurenanteile (SFA, MUFA, PUFA) ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollperiode (I) und der Infusion (II).

Weiterhin wurden Unterschiede im Gehalt der *trans*-Isomeren der Ölsäure (*t*-C18:1) im Milchfett festgestellt. Die infundierten CLA führten zu einem signifikanten Anstieg der *t*-18:1 im Milchfett. Die Zunahme betrug im Mittel 30 %. Der höchste gemessene Wert belief sich auf 35,8 mg/g Fett. Es fällt auf, dass unter den *t*-C18:1 insbesondere *t*VA dem Einfluss der CLA-Infusion unterlag (10,0 mg/g Fett vs. 13,5 mg/g Fett). Zwischen dem CLA-Gesamtgehalt und dem *t*-C18:1-Gehalt im Milchfett bestand eine lineare Beziehung (Abb. 4-11). Der Gehalt an *t*-C18:1 korreliert positiv mit dem CLA-Gehalt ($P < 0,01$).

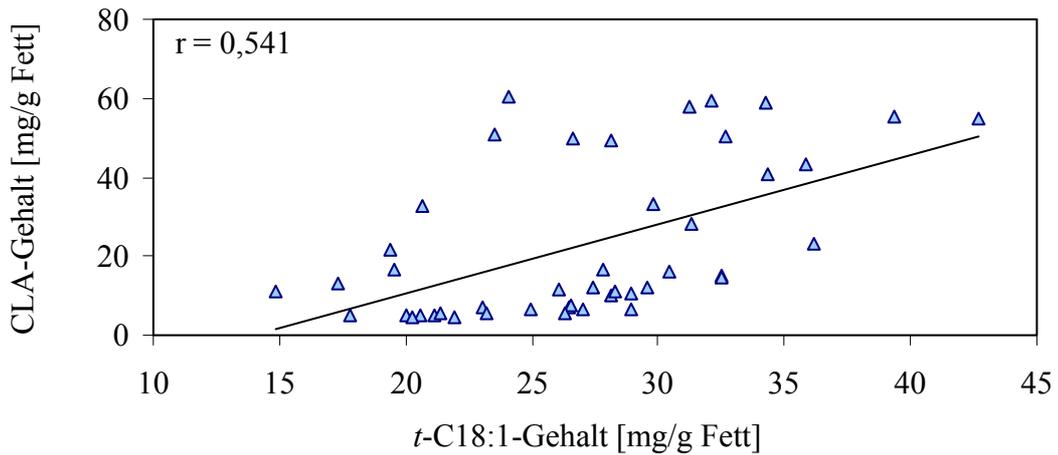


Abbildung 4-11: Zusammenhang zwischen den Gehalten an CLA und t-C18:1 im Milchfett ($P < 0,01$)

Der CLA-Gesamtgehalt stieg im Milchfett um das 7-fache an (Tab. A-34). In Abhängigkeit von der Zeit wurde ein signifikanter Anstieg von 5,8 mg/g Fett (Kontrolle I) auf 42,4 mg/g Fett (Infusion) gemessen. Darauf folgte ein Abfall auf 21,3 mg/g Fett in der Periode III ($P < 0,001$). Der höchste CLA-Gehalt wurde am vierten Tag der Infusion mit 56,7 mg/g Fett gemessen.

4.3.3 CLA-Isomerenverteilung im Milchfett

Während der CLA-Infusion wurde eine signifikante Veränderung der CLA-Isomeregehalte und des CLA-Isomerenmusters beobachtet (Tab. A-35). Der Gehalt aller CLA-Isomeren nahm im Verlauf der CLA-Infusion hochsignifikant zu. Die Gehalte der einzelnen Isomeren waren zwischen den Versuchsperioden unterschiedlich. Der Gehalt an *c9,t11*, *t7,c9* und *t11,c13* nahm um das Doppelte bzw. 3-fache zu, während eine bis zu 350-fache Steigerung für die Isomeren *c11,t13* und *t10,c12* zu verzeichnen war.

Im vorliegenden Versuch wurde die Transferrate rechnerisch ermittelt. Die scheinbare Transferrate ergab sich aus folgender Gleichung:

$$T = \frac{(a - b) \times 100\%}{c}$$

| | |
|---|---------------------------------------|
| T | Transfereffizienz [%] |
| a | CLA-Isomere [g/d] - am 10. Tag (P II) |
| b | CLA-Isomere [g/d] - \bar{x} P II |
| c | CLA-Isomere [g/d] - Supplement |

Die Transferrate variierte zwischen den Isomeren stark. Für das Isomere 12,14 (*c,t/t,c*) wurde eine sehr hohe Transferrate von 64 % ermittelt. Im Gegensatz dazu wurden die Isomeren *c9,t11* und *t7,c9/t6,c8* nur zu 2 % bzw. 4 % in das Milchfett transferiert. Für die weiteren Isomeren lag eine mittlere Transferrate zwischen 9 % und 20 % vor. Die höchste Transferrate besaßen die *c,c*-konfigurierten Isomeren gefolgt von den Mischisomeren und den *t,t*-Isomeren. Unter Ausschluss des Isomeren 12,14 (*c,t/t,c*) wurden die Mischisomeren am schlechtesten in das Milchfett eingebaut. Die scheinbare Transferrate für die CLA-Gesamtmenge lag im Mittel bei 19 %.

Ein Vergleich des CLA-Isomerenmusters zwischen den Versuchsperioden zeigt eine deutliche Isomerenverschiebung. Als Folge der CLA-Infusion stieg der Anteil an *t,t*- und *c,c*-konfigurierten Isomeren zu lasten der Mischisomeren (Abb. 4-12).

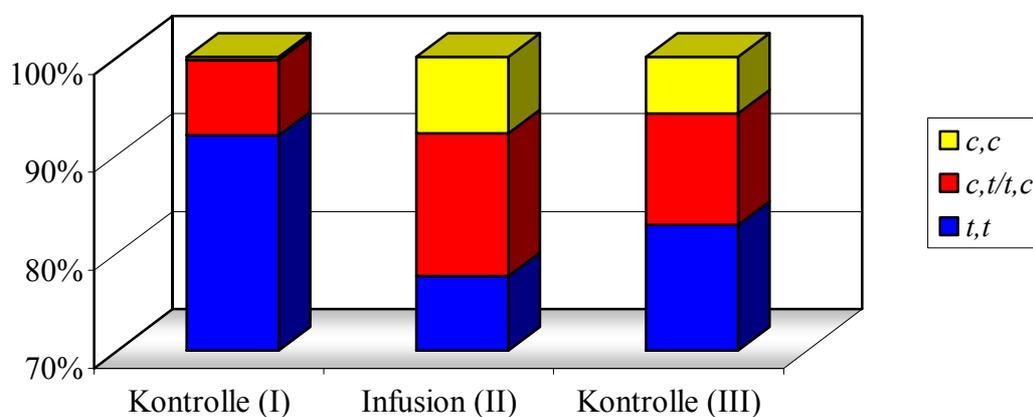


Abbildung 4-12: Verteilung der CLA-Isomerenanteile im Milchfett während der Versuchsperioden

Erwartungsgemäß enthielt das Milchfett der Kühe in der Kontrollperiode (I) *c9,t11*-CLA als das Hauptisomere. Dieses machte einen Anteil von 80,1 % der CLA-Gesamtisomeren aus. Als nächst häufige Isomeren wurden *t7,c9* (5,5 %), *t11,c13* (2,7 %) und *t9,t11* (2,1 %) identifiziert. Als Folge der CLA-Infusion ergaben sich signifikante Unterschiede bei den einzelnen Isomeren. Prozentual stieg der Anteil aller Isomeren an, mit Ausnahme der Isomeren *c9,t11* und *t6,t8*. Während der Infusion fiel der Gehalt von *c9,t11* auf 27,9 % der CLA-Gesamtisomeren ab. Die ermittelten Abweichungen im Periodenverlauf waren statistisch hochsignifikant ($P < 0,001$). Der Gehalt an *t6,t8* blieb von der Infusion unbeeinflusst. Das Absetzen der CLA-Infusion bewirkte einen Anstieg des *c9,t11*-Anteils, während der Anteil der anderen Isomeren wieder zurückging.

5 DISKUSSION

5.1 Humaninterventionsstudie (Absorptionsversuch)

5.1.1 Einfluss der CLA auf die Nährstoffbilanz

Die Beziehung zwischen Aufnahme und Exkretion eines Nährstoffs wird in der Bilanz wiedergegeben. Der Einfluss von CLA auf die Nährstoffbilanz beim Menschen ist bisher in der Literatur nicht beschrieben worden. Die Aufnahme an Trockensubstanz und Nährstoffen unterschied sich zwischen den beiden Versuchsperioden nicht. Lediglich die CLA-Aufnahme stieg als Folge der Supplementation signifikant an. In der Basisperiode wurden täglich insgesamt 468 mg CLA über die Lebensmittel verzehrt. Die CLA-Aufnahme liegt deutlich höher, als die überwiegende Mehrheit der Literaturbefunde angibt (vgl. Tab. 2-2 unter 2.2.3). Die Ergebnisse der Fettausscheidung, -bilanz bzw. scheinbaren Verdaulichkeit liegen im Bereich der Referenzwerte. Es wurden keine auf das CLA-Supplement zurückführbaren Unterschiede festgestellt. Die N-Ausscheidung (fäkal, renal), N-Bilanz und Wiederfindung der Ausgangswerte stimmen mit der verfügbaren Literaturangabe überein (GRIMM 2000). Unerwarteterweise wurde ein Einfluss auf die Stickstoffbilanz festgestellt. Der signifikante Anstieg der renalen N-Ausscheidung gegenüber den Basiswerten, resultierte in einer verminderten N-Bilanz. Da dieser Anstieg für alle Probanden ermittelt wurde, können methodische Fehler ausgeschlossen werden. Die N-Ausscheidung über den Urin ist ein Marker für den Proteinanabolismus bzw. -katabolismus. Die signifikant erhöhte renale N-Ausscheidung führt zur Annahme, dass CLA eine katabole Wirkung auf den Proteinmetabolismus ausüben.

CLA werden mit anabolen Effekten in Verbindung gebracht. Diese Eigenschaft wird allerdings in der Literatur kontrovers diskutiert. Der Anstieg der Magermasse bei gleichzeitiger Verminderung des Körperfettes wird auf die spezifische Wirkung des CLA-Isomers $\iota 10, \epsilon 12$ zurückgeführt (PARK et al. 1999b). Untersuchungen an Mäusen (DELANY et al. 1999, PARK et al. 1997, TERPSTRA et al. 2002), Ratten (STANGL 2000a), Schweinen (DUGAN et al. 1997, OSTROWKA et al. 1999, TISCHENDORF et al. 2002) und auch beim Menschen (BLANKSON et al. 2000, SMEDMAN & VESSBY 2001, KAMPHUIS et al. 2003) weisen darauf hin, dass CLA den Proteinpool des Körpers moderat erhöhen. Im Gegensatz dazu

stehen die Ergebnisse aus verschiedenen Studien, die keinen Einfluss von CLA auf die Magermasse nachwiesen (STANGL & KICHGESSNER 1999, ZAMBELL et al. 2000, GATLIN et al. 2002). WEST et al. (1998) stellten an wachsenden AKR/J-Mäusen einen signifikant verminderten Karkass-Proteinbestand infolge CLA-Supplementation fest. In einer anderen Studie an Sprague Dawley-Ratten, in der fettreiche CLA-supplementierte Diäten gefüttert wurden, zeichnete sich ein tendenziell verminderter Proteinanteil des Körpers ab (KIM et al. 2002). Die Diskrepanz zwischen den unterschiedlichen Ergebnissen zeigt, dass auf diesem Gebiet weitere Untersuchungen notwendig sind.

Die N-Bilanz stellt den Summeneffekt der Protein- und Energieaufnahme dar. Liegt die Energieaufnahme unter dem Bedarf, gerät die N-Bilanz in den negativen Bereich. Da die Bilanzstudie unter genau definierten Bedingungen einer adäquaten Energieversorgung durchgeführt wurde, ist dieser Fakt auszuschließen. In klinischen Studien wurde nachgewiesen, dass TFA die Insulinresistenz erhöhen (LEFEVRE et al. 1999, BRAY et al. 2002). Obwohl für CLA antidiabetogene Eigenschaften postuliert werden (HOUSEKNECHT et al. 1998, RYDER et al. 2001), gibt es inzwischen auch Hinweise, dass CLA in lipodystrophen Mäusen die Insulinresistenz steigern (TSUBOYAMA-KASAOKA et al. 2000). In drei neueren Humanstudien, konnte ebenfalls gezeigt werden, dass *t10,c12*-CLA eine Insulinresistenz hervorruft (RISERUS et al. 2001, 2002; NOONE et al. 2002). Unter Insulinmangel ist die Proteinsynthese im Muskel vermindert und der Proteinabbau erhöht. Der Turnover der Muskelproteine hängt auch von der hormonellen Situation ab. Verschiedene tierexperimentelle Untersuchungen weisen darauf hin, dass CLA die Sekretion von TNF- α erhöhen (TSUBOYAMA-KASAOKA et al. 2000, KELLEY et al. 2002, KOBAYASHI et al. 2002). Es wäre denkbar, dass CLA an (unbekannte) Transkriptionsfaktoren bindet, so dass die Expression von TNF- α aktiviert wird. Insulinresistenz kann durch TNF- α hervorgerufen werden. Zur Insulinresistenz trägt wahrscheinlich die Downregulation von mRNA-Glukosetransportern (z. B. GLUT4) bei (HOTAMISLIGIL et al. 1993). TNF- α wirkt über Stimulierung der COX-Aktivität und sekundär über die daraus resultierende Synthese von AA-Derivaten, die ihrerseits zur Konzentrationserhöhung verschiedener Hormone führen (z. B. Glucocorticoide). Die Wirkungen der Glucocorticoide auf den Muskel sind mit denen vergleichbar, die bei verminderter Insulinausschüttung beobachtet wurden. Zudem rufen sie eine Insulinresistenz im Muskel hervor. Schlussfolgernd wäre es denkbar, dass CLA direkt und/oder indirekt den Proteinmetabolismus negativ beeinflussen.

Obwohl die Ursachen für die adversen Effekte nicht geklärt werden können, sind diese möglicherweise auf die unterschiedlichen verwendeten CLA(-Isomeren)-Präparate zurückzuführen. Beispielsweise enthielt das in dieser Studie eingesetzte Präparat einen sehr hohen Anteil an *t,t*-Isomeren. Vermutlich spielt auch der Kurzzeiteffekt eine nicht zu unterschätzende Rolle. Ferner sind weitere Faktoren wie Spezies, CLA-Dosis, Körpergewicht bzw. Alter der Individuen denkbar.

5.1.2 Einfluss der CLA auf die Fettsäurezusammensetzung des Serums

Bereits Anfang der 80er Jahre des vergangenen Jahrhunderts wurden CLA im Humanserum von einer Wissenschaftlergruppe des Whittington Hospital in London nachgewiesen (CAWOOD et al. 1983, IVERSEN et al. 1984, 1985). Als Hauptisomere wurde *c9,t11* identifiziert. In der Literatur sind heute ausreichend Angaben zum CLA-Gehalt im peripheren Blut zu finden (Tab. 5-1). Allerdings wurde die CLA-Isomerenverteilung im Serum bisher nicht untersucht.

Tabelle 5-1: Literaturangaben zum CLA-Gehalt im peripheren Blut beim Menschen

| Referenz | N | Matrix | CLA-Gehalt |
|-----------------------|-------------|----------------------------|---------------------------------------|
| FORGERTY et al. 1988 | 10 - 15 ♂/♀ | Serum, gesamt | 0,30 - 0,54 % der FAME* |
| BRITTON et al. 1992 | 3 ♂, 11 ♀ | Serum, gesamt | 8,9 - 18,8 µmol/L* |
| SALMINEN et al. 1998 | 31 ♂, 49 ♀ | Serum, gesamt | 0,33 % der FAME |
| JIANG et al. 1999 | 123 ♂ | Serum, gesamt | 0,25 % der FAME |
| ARO et al. 2000 | 195 ♀ | Serum, gesamt | 0,29 % der FAME |
| BENITO et al. 2001b | 17 ♀ | Plasma, gesamt | 0,28 % der FAME |
| MOUGIOS et al. 2001 | 15 ♂, 12 ♀ | Serum, gesamt | 0,020 mmol/L 0,17 % der FAME |
| SMEDMAN & VESSBY 2001 | 27 ♂, 26 ♀ | Serum PL | 0,07 % der FAME |
| NOONE et al. 2002 | 18 ♂, 33 ♀ | Plasma, gesamt | 3,8 mg/g Fett* |
| MASTERS et al. 2002 | | Plasma, gesamt | 12,8 µmol/g Fett* |
| TURPEINEN et al. 2002 | 8 ♂, 22 ♀ | Serum, gesamt | 0,15 % der FAME* |
| FREMANN et al. 2002 | 57 ♀ | Plasma PL Plasma TG | 0,27 % der FAME* 0,54 % der FAME* |
| Eigene Studie | 8 ♂ | Serum, gesamt [†] | 2,8 mg/g Fett bzw. 0,30 % der FAME |

* detektiert als *c9,t11*-CLA

[†] Kontrollperiode

In der Basisperiode wurden CLA-Gehalte im Serum zwischen 1,9 und 3,7 mg/g Fett ermittelt. Der Anteil an CLA betrug im Mittel 0,30 % der Gesamtfettsäuren. Die Werte liegen innerhalb der Größenordnung der Literaturangaben (Tab. 5-1). Die Schwankungen der Literaturbefunde reflektieren die Unterschiede in der Aufnahme CLA-reicher/armer Lebensmittel sowie die Differenzen in der verwendeten Analyse­methode (z. B. Derivatisierungsmethode, instrumentelles Analyseverfahren).

Bei allen Probanden wurde eine stark positive Korrelation zwischen der CLA-Aufnahme und dem Serum-CLA-Gehalt festgestellt ($r = 0,91$). Übereinstimmende Ergebnisse fanden JIANG et al. (1999) und ARO et al. (2000). Obwohl sich die Fettsäurezusammensetzung im peripheren Blut durch hepatische Desaturations- und Elongationsprozesse von der Fettsäurezufuhr über die Nahrung unterscheidet, besteht weitgehend Konsens darüber, dass die Fettsäureverteilung im Blut und in den verschiedenen Organen eng mit der Aufnahme von Fettsäuren über die konsumierten Lebensmittel korreliert (ZOCK et al. 1997, SANDERS & ROSHANAI 1983). Demnach reflektieren die Fettsäuren des Serums die Nahrungsfettaufnahme der vorangegangenen Tage, so dass die Fettsäurezusammensetzung des Serums als Biomarker für die kurzfristige Fettsäureaufnahme verwendet werden kann. Der Verzehr von Milchprodukten wirkt sich positiv auf die CLA-Plasmakonzentration aus (HUANG et al. 1994). Eine mit Cheddarkäse angereicherte Diät (4 Unzen/d = 113 g/d) führte zur Erhöhung der CLA-Plasmakonzentration um 19 - 27 %. In einem anderen Humanversuch wurde ein verstärkter Einbau von *c9,t11*-CLA in die Plasmaphospholipide infolge des Verzehrs CLA-reicher Lebensmittel nachgewiesen (BRITTON et al. 1992). Diese Ergebnisse indizieren, dass durch Modifikation der Nahrung die CLA-Plasmakonzentration deutlich erhöht werden kann.

Die Supplementation von täglich 2 g CLA (absolut) resultierte in einer Erhöhung des CLA-Serumspiegels im Mittel um das Dreifache. Die CLA-Isomeren im Serum reflektierten die CLA-Isomeren des Supplements. Dieses Ergebnis zeigt, dass alle CLA-Isomeren, die im Supplement enthalten waren, im Magen-Darm-Trakt vergleichbar effektiv absorbiert wurden. Die eigenen Untersuchungen entsprechen in der Größenordnung den Angaben von BENITO et al. (2001b), SMEDMANN & VESSBY (2001) und NOONE et al. (2002) (Tab. 5-2). Eine Humanstudie mit abgestuften CLA-Gaben zeigte darüber hinaus, dass der CLA-Gehalt der Serumlipide mit steigender CLA-Menge zunahm (MOUGIOUS et al. 2001).

Tabelle 5-2: Einfluss von CLA auf die Serumfettsäuren

| | BENITO et al. (2001b) | SMEDMANN & VESSBY (2001) | MOUGIOS et al. (2001) | MASTERS et al. (2002) | NOONE et al. (2002) | Eigene Studie |
|---|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|--|---------------|
| Probanden | | | | | | |
| N | 17 | 50 | 22 | 9 | 34 | 8 |
| Geschlecht | ♂/♀ | ♂/♀ | ♂/♀ | ♀ | ♂/♀ | ♂ |
| BMI [kg/m ²] | 23 | 25 | 23 | 23 | 24 | 25 |
| Dauer der Intervention | 9 Wochen | 12 Wochen | 8 Wochen | 5 Tage | 8 Wochen | 1 Woche |
| CLA-Dosis (g/d) | | | | | | |
| Gesamt | 3,90 | 4,20 | 0,70 / 1,40 | 1,20 | 2,02 | 2,0 |
| Placebo | Sonnenblumenöl | Olivenöl | Sojaöl | Olivenöl | Linolsäure | - |
| Fettsäuren im Serum am Ende der Studie | | | | | | |
| CLA gesamt (mg/g Fett) | 1,09 ± 0,31 ¹ | k. A. | 0,033 ± 0,014 ² | 21,1 ± 2,9 ^{3,4} 3,6 ± 1,1 ^{4,5} | 6,2 ± 2,6 ³ (50:50)* 8,0 ± 2,9 ³ (80:20) [†] | 7,7 ± 0,61 |
| CLA-Steigerung (%) | + 290 % | + 609 % | + 73 %; + 200 % in PL | + 90 % | + 90 % | + 180 % |
| C16:0 | - | - | 12 % ↓ (in PL) | - | - | - |
| C16:1 n7 | - | 15 % ↓ | - | - | - | - |
| C18:0 | - | 6 % ↑ | - | - | - | - |
| C18:1 n9 | - | 9 % ↓ | - | - | - | - |
| LA | - | - | - | - | - | 13 % ↓ |
| C18:3 n3 | - | 16 % ↓ | - | - | - | - |
| C18:3 n6 | - | 24 % ↓ | - | - | - | - |
| AA | - | - | 6 % ↓ (in PL) | - | - | - |
| C20:3 n6 | - | 16 % ↓ | 16 % ↓ | - | - | - |
| C20:5 n3 | - | 16 % ↑ | - | - | - | - |

¹ % der Gesamt-FAME ² Angabe in nmol/L ³ c9,t11-CLA ⁴ µmol/g Fett ⁵ t10,c12-CLA * 50:50 (c9,t11 : t10,c12) † 80:20 (c9,t11 : t10,c12) PL Phospholipide

Ein gesunder normolipidämischer Erwachsener besitzt einen zirkulierenden Lipidpool von 30 g (~ 5 g/L Serumlipidkonzentration, ~ 6 Liter Blutvolumen). Unter der Prämisse, dass nahezu 100 % der supplementierten CLA-Menge (2 g) vom Intestinum absorbiert wurden, errechnet sich eine Wiederfindung im Serum von etwa 12 %. Es handelt sich allerdings hierbei lediglich um einen Näherungswert, da Ein- und Ausbaurvorgänge unberücksichtigt bleiben. In einer Studie von BENITO et al. (2001b) wurden täglich 3,9 g CLA über einen Zeitraum von 9 Wochen an 17 Probanden verabfolgt. Im Gegensatz zur eigenen Studie belief sich die Wiederfindung von CLA im Serum auf 4,2 %. Die Ergebnisse der Autoren sind insgesamt nicht stimmig. Besonders Unklarheiten bei der Auswertung lassen methodische Einwände zu. Fettsäuren werden in Abhängigkeit von der Kettenlänge absorbiert und transportiert. Langkettige Fettsäuren werden in der Darmmukosazelle zu Triacylglyceriden reverestert, in Chylomikronen und VLDL (very low density proteins) eingeschlossen, an das Lymphsystem abgegeben und zur Leber transportiert. Dort unterliegen sie nur marginal der β -Oxidation und gelangen schließlich in das Fettgewebe. Aufgrund ihrer Kettenlänge sind CLA für die Deponierung in den Adipozyten prädestiniert. Angesichts dieser Tatsache kann angenommen werden, dass die nutritiv zugeführten CLA bereits im Fettgewebe abgelagert wurden. Ferner besteht die Möglichkeit, dass ein Teil der absorbierten CLA metabolisiert wurde (Elongation, Desaturation bzw. β -Oxidation). BANNI und Mitarbeiter identifizierten im Gewebe von Lämmern (1996), in der Rattenleber (1999a) sowie im Plasma, Fettgewebe und in der Erythrozytenmembran des Menschen (1999b) die Fettsäuren C18:3, C20:3 und C20:4 mit einem konjugierten Doppelbindungssystem. Weitere CLA-Metaboliten wurden im Leber -und Fettgewebe von SEBADIO et al. (1997, 2001) entdeckt. Das CLA-Isomere *c9,t11* im Serum ist ein guter biologischer Marker für die kurzzeitige Milchfettaufnahme des Menschen. Die Lebensmittel(aus)wahl ist eine wichtige Einflussgröße, welche die Fettsäurezusammensetzung des Fettgewebes determiniert (FIELD & CLANDININ 1984). Folglich reflektiert die Fettsäurezusammensetzung des Fettgewebes das aufgenommene Nahrungsfett. Die Aufnahme von Milchprodukten korreliert positiv mit dem CLA-Gehalt im Fettgewebe (JIANG et al. 1999). Der Einbau von CLA in die verschiedenen Gewebe hängt von den in den Geweben enthaltenen Lipidklassen ab. Da CLA bevorzugt in Triacylglyceride eingebaut werden (BANNI & MARTIN 1998), findet die Inkorporation und Speicherung der CLA vorwiegend im Fettgewebe statt. JIANG et al. (1999) wiesen im Fettgewebe die doppelte Menge an CLA im Vergleich zum Serum nach. Ein mathematischer Zusammenhang zwischen der CLA-Menge im Serum und der im Fettgewebe wurde allerdings nicht festgestellt. Diese Tatsache ist auf verschiedene Ursachen

zurückzuführen: CLA werden bedingt durch ihre bevorzugte Inkorporation in Triacylglyceride vorwiegend im Fettgewebe eingelagert und aufgrund der geringeren Turnover-Rate des Fettgewebes möglicherweise verstärkt akkumuliert. Die endogene Synthese des *c9,t11*-Isomeren via $\Delta 9$ -Desaturase aus *tVA* spielt gleichermaßen eine entscheidende Rolle. Dadurch kommt es zur Anhäufung von *c9,t11*-CLA; andere Isomeren werden durch Isomerisierungsreaktionen generiert.

Die Zulage an CLA bewirkte eine Änderung der Fettsäurenverteilung. Der Anteil an SFA stieg schwach signifikant an. Gleichzeitig verminderte sich der Anteil an PUFA signifikant, während die MUFA unbeeinflusst blieben. Ähnliches fanden SMEDMANN & VESSBY (2001) in Serum- und Thrombozytenlipiden. Bisherige Untersuchungen weisen darauf hin, dass CLA die Fettsäurezusammensetzung der Gewebelipide beeinflussen. Durch CLA-Gabe an Ratten (SZYMCZYK et al. 2000, SISK et al. 2001) und Küken (DU et al. 2001, SZYMCZYK et al. 2001) wurde im Fettgewebe die Summe der SFA bei gleichzeitiger Senkung der MUFA und PUFA erhöht. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch im Hühnereigelb erzielt (AYDIN et al. 2001). Untersuchungen von STANGL (2000b) zeigen, dass die Verfütterung von CLA an Ratten ebenfalls einen höheren SFA- und geringeren PUFA-Anteil in den Karkasslipiden bewirkte. Die Arbeitsgruppe von SEBEDIO et al. (2001) konstatierte in Versuchen an Ratten, dass CLA die Fettsäurezusammensetzung der einzelnen Lipidklassen beeinflussen. Die CLA-Gabe führte in Phospholipiden, Triacylglyceriden und Cholesterolestern der Leber zu einem höheren Sättigungsgrad. Die Autoren postulieren, dass nicht *c9,t11*-CLA sondern *t10,c12*-CLA für diesen Effekt verantwortlich ist. CLA beeinflussen insbesondere einzelne Fettsäuren nachhaltig. In einer Studie an Ratten wurde ein signifikant verminderter C18:1-Gehalt im Leber-, Muskel- und Knochengewebe nach CLA-Gabe beschrieben (LI & WATKINS 1998). CHOUINARD et al. (1999a) und BAUMGARD et al. (2001) bestätigten eine signifikante Verminderung des C18:1-Gehaltes bei gleichzeitigem Anstieg des C18:0-Gehaltes in den Milchlipiden von Kühen. Auch im Humanversuch von SMEDMANN & VESSBY (2001) wurde ein signifikanter Abfall der C18:1-Konzentration in den Serumphospholipiden nachgewiesen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass CLA (vor allem das Isomere *t10,c12*) die Aktivität der SCD hemmen. Offensichtlich modulieren CLA die mRNA-Expression sowohl des SCD1- als auch des SCD2-Genes (LEE et al. 1998, BRETILLON et al. 1999, NTAMBI et al. 1999, CHOI et al. 2000, 2001). Eine Veränderung des MUFA-Anteils bzw. einzelner einfach ungesättigter Fettsäuren war in den eigenen Untersuchungen nicht nachweisbar. Beim Vergleich dieser Resultate mit den bisherigen Humanstudien wurde in fünf von vier Untersuchungen ebenfalls kein Einfluss

der CLA auf diese Parameter festgestellt (BENITO et al. 2001b, MOUGIOS et al. 2001, MASTERS et al. 2002, NOONE et al. 2002).

Im vorliegenden Versuch wurde ein signifikanter Abfall des Serum-LA-Gehaltes festgestellt. Demgegenüber blieb der Serumgehalt an AA unbeeinflusst. In den Untersuchungen von BENITO et al. (2001b) sowie SMEDMANN & VESSBY (2001) wurden keine signifikanten Änderungen beider Fettsäuren weder im Plasma noch im Fettgewebe beobachtet. In einer anderen Humanstudie, in der 0,7 g CLA in den ersten 4 Wochen und anschließend 1,4 g CLA in den folgenden 4 Wochen appliziert wurden, zeichnete sich ein signifikanter Abfall des AA-Gehaltes im Serum ab (MOUGIOS et al. 2001). Von SZYMCZYK et al. (2000, 2001) wurden in Tierexperimenten an Ratten und Küken ein verminderter Anteil an LA und AA in den Lipiden des Fett- und Muskelgewebes als Folge der CLA-Supplementation nachgewiesen. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in den Gewebelipiden CLA-gefütterter Hühner (COOK et al. 1993), Ratten (MILLER et al. 1994) und Mäuse (BELURY et al. 1997, SUGANO et al. 1997) gefunden. Offenbar beeinflussen CLA den Metabolismus der AA. Dies wiederum führt zu einer Änderung der Membranenzusammensetzung, so dass deren Fluidität und Flexibilität verändert wird. Zusammenhänge zwischen Fett(säuren) in der Nahrung und der Kanzerogenese werden seit Jahrzehnten diskutiert. So korreliert der Gehalt an AA im Serum positiv mit der Brustkrebsinzidenz (ARO et al. 2000). AA stammt entweder direkt aus der Nahrung oder entsteht infolge Desaturation und Elongation aus LA. Die Tumorbildung wird gefördert, indem der Metabolismus von LA zu AA sowie zu Eicosanoiden (Prostaglandin E₂) durch das Gewebe erhöht ist (IP et al. 1991, BARTSCH et al. 1999). CLA können die Kanzerogenese modulieren, indem sie die Desaturation und Elongation der LA zu AA hemmen (BANNI et al. 1999a). Unter CLA-Gabe steigt in verschiedenen Lipiden der Anteil an CLA zuungunsten der AA (COOK et al. 1993, BELURY 1995, BELURY & KEMPA-STECZKO 1997). Eine Reihe von Untersuchungen haben den direkten bzw. indirekten Beweis geliefert, dass CLA die Synthese der Prostaglandine aus der AA hemmen, indem die Bereitstellung des Präkursors AA eingeschränkt wird (LI & WATKINS 1998, TUREK et al. 1998; BANNI et al. 1999a; KRÄMER et al. 1999). Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt in der AA-Bildung aus LA ist die Konvertierung durch die $\Delta 6$ -Desaturase. CLA können als Substrat mit anderen PUFA um die $\Delta 6$ -Desaturase konkurrieren. Alternativ ist die Konkurrenz von Elongations- bzw. Desaturationsprodukten der CLA-Isomeren um die Enzyme Phospholipase, COX oder LOX denkbar (BELURY 1995). Der AA-Gehalt der Serumlipide blieb infolge der CLA-Supplementation bei allen Humanstudien unbeeinflusst. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Befun-

den der Tierexperimente, die eine Senkung des AA-Gehaltes in den Serum- bzw. Gewebelipiden nachwiesen. Vermutlich beeinflussen CLA den Fettsäurenstoffwechsel verschiedener Spezies unterschiedlich bzw. es ist denkbar, dass sich die Metabolisierung der CLA zwischen Mensch und Tier unterscheidet. In einer vergleichenden Untersuchung an Ratten und Menschen konnte bereits gezeigt werden, dass sich das Verhältnis von CLA zu CLA-Metaboliten in den Gewebelipiden des Menschen signifikant von dem der Ratten unterscheidet (BANNI et al. 1999b). Der CLA-Metabolit C20:4 wurde weder im Plasma noch in der Erythrozytenmembran bzw. im Fettgewebe des Menschen nachgewiesen. Gegebenenfalls ist für einen AA-senkenden Effekt ein längerer Applikationszeitraum bzw. eine höhere CLA-Dosis notwendig. Im Vergleich zu den Tierstudien waren die durchgeführten Humanversuche relativ kurz. Es ist davon auszugehen, dass der CLA-Gehalt der Supplemente nicht ausreichte, um die oben genannten Mechanismen hervorzurufen.

Verschiedene Studien an Ratten beschreiben eine Senkung des C18:3 n6-Anteils in den Gewebelipiden (BANNI et al. 1999a, LI et al. 1998). Ergebnisse von Humanstudien bestätigen diese Beobachtung nicht, obwohl der Gehalt dieser Fettsäure in der Tendenz abfiel (eigene Studie, SMEDMANN & VESSBY 2001, MOUGIOS et al. 2001). Die von NOONE et al. (2002) beobachtete signifikante Reduktion des C20:5 n3-Plasmaspiegels konnte durch die vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt werden. Der Gehalt an C20:5 n3 stieg lediglich in der Tendenz an. Möglicherweise spielt die Zusammensetzung des Präparates eine entscheidende Rolle. Im Unterschied zur vorliegenden Studie enthielt das von NOONE et al. (2002) verabreichte Supplement ausschließlich die Isomeren *c9,t11* und *t10,c12* in einem Verhältnis von 80:20. Ergebnisse von BANNI et al. (1999a) und LI & WATKINS (1998) zeigen an Ratten einen gesteigerten Anteil an C22:4 n6 und C22:5 n6 bei gleichzeitig verminderten C20:3 n6-Anteil in verschiedenen Gewebelipiden. Vergleichbares ist auch für Serumphospholipide des Menschen nach einer CLA-Applikation beschrieben worden (SMEDMAN & VESSBY 2001). MOUGIOS et al. (2001) wiesen eine signifikant niedrigere Plasmakonzentration an C22:5 n6 nach. In der eigenen Studie wurden keine signifikanten Unterschiede in der Serumlipidkonzentration dieser Fettsäuren (C20:3 n6, C22:4 n6, C22:5 n6) festgestellt.

5.1.3 Einfluss der CLA auf die fäkale Exkretion der Fettsäuren

Die Gesamt-CLA-Menge, die in der Basisperiode fäkal ausgeschieden wurde, betrug 0,5 mg/g T. Bezogen auf 5 g normierte Fettausscheidung wurden täglich 9,5 mg CLA aus-

geschieden. Die große individuelle Variation in der CLA-Ausscheidung bedingt die hohe Streuung der gemessenen Werte.

Eine mikrobielle Synthese von CLA aus freier LA wurde im Intestinaltrakt von Ratten nachgewiesen (CHIN et al. 1993, 1994). Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Katzen und Hunden gefunden (FUKUDA et al. 2002). Dementsprechend kann angenommen werden, dass auch über die Intestinalflora des Menschen geringe Mengen an CLA aus freier LA entstehen. Dagegen stehen allerdings die Angaben von KAMLAGE et al. (2000). Vermutlich ist diese Diskrepanz auf das Versuchsdesign zurückzuführen. Das Autorenkollektiv isolierte Bakterienkolonien aus Humanfäzes und siedelte diese in den Darm gnotobiotischer (keimfreier) Ratten an. Zudem wurde veresterte LA appliziert. Aus der Literatur ist hingegen bekannt, dass nur freie und unveresterte LA von den Bakterien isomerisiert werden kann (CHIN et al. 1994).

HERBEL et al. (1998) konstatierten, dass eine LA-reiche Ernährung nicht zu einem gesteigerten CLA-Plasmaspiegel führt. Die geringen im Darm gebildeten CLA tragen nicht zur Anreicherung der Körperlipide bei, da im Kolon bzw. Zäkum Fettsäuren nicht bzw. nur geringfügig absorbiert werden. Folglich werden die intestinal gebildeten CLA über die Fäzes ausgeschieden. Für die bakterielle CLA-Bildung im Darm spricht auch das in der vorliegenden Arbeit nachgewiesene CLA-Isomerenmuster der Fäzeslipide. Die Verteilung der Isomeren in den Fäzeslipiden unterscheidet sich deutlich von der im Serum und im Gewebe (SUGANO et al. 1997, KRAMER et al. 1998b, eigene Resultate). Nach den Ergebnissen der Untersuchung stellt das Isomere *c*9,*t*11 mit 81 % den Hauptanteil an den Gesamt-CLA in den Fäzeslipiden. Auffällig ist der hohe Anteil des Isomeren 10,12. Dieses kommt in der Nahrung nur in sehr geringen Mengen vor. Eine endogene Synthese, z. B. infolge Desaturations- oder Isomerisierungsreaktionen durch körpereigene Enzyme, ist eher unwahrscheinlich. Letztlich besteht nur noch die Möglichkeit der Bildung dieses Isomeren über die Bakterienflora im Darm. Auch aus *In-vitro*-Versuchen gibt es Hinweise, dass unter dem Einfluss der Intestinalbakterien 10,12-CLA verstärkt gebildet werden (FUKUDA et al. 2002). Die CLA-Supplementation bewirkte einen Anstieg der CLA-Konzentration in den Fäzeslipiden um das Doppelte (1,0 mg/g T bzw. 24 mg/d). Die gemessenen CLA-Gehalte in den Fäzes bewegten sich zwischen 0,4 und 2,1 mg/g T bzw. zwischen 10 und 48 mg/d. Eine Prüfung verschiedener Einflussfaktoren (Körpergewicht, BMI, Fettaufnahme) auf die CLA-Ausscheidung ergab hingegen keinen signifikanten Einfluss. Die hohe Varianz in der CLA-Exkretion unterstreicht die individuellen Unterschiede in der CLA-Absorption bzw. bakteriellen Synthese der einzelnen Probanden. Zudem ist anzu-

nehmen, dass generelle Unterschiede im Stoffwechsel (z. B. Verdaulichkeit, Turnover, Akkumulation etc.) der Probanden das differente Ausscheidungsmuster bedingen.

Die Fettsäurezusammensetzung der Fäzeslipide ist in der Literatur nur selten zu finden. Daten zu einer vollständigen Fettsäurenverteilung in den Humanfäzes fehlen gänzlich. Es existieren lediglich wenige Angaben zu einzelnen Fettsäuren (Tab. 5-3). Die eigenen Ergebnisse (in mg/d) stimmen mit den Angaben von BATA et al. (2002) sehr gut überein. Die von EDIONWE & KIES (2001) beschriebenen Ergebnisse der einzelnen Fettsäuren (in % der FAME) unterscheiden sich von den hier dargestellten Werten. Insbesondere der Anteil an Ölsäure lag in jenen Untersuchungen vergleichsweise sehr hoch. Im Gegensatz dazu war der Anteil an Linolensäure niedrig. Vermutlich ist diese Diskrepanz auf die angewandte Analysenmethode zurückzuführen. Außerdem werden von EDIONWE & KIES (2001) keine Basiswerte angegeben. Die Daten stammen lediglich von den verschiedenen Behandlungsgruppen. Es ist möglich, dass die Intervention (verschiedene Öl-angereicherte Diäten) die Verschiebung der Fettsäurenanteile bewirkte. Dementsprechend ist eine Vergleichbarkeit mit den eigenen Resultaten nicht gegeben.

Table 5-3: *Übersicht zum Fettsäuregehalt bzw. zur Fettsäurenverteilung in den Fäzeslipiden*

| | Eigene Studie | | BATA et al. (2002) | EDIONWE & KIES (2001) |
|-------|---------------|-------------|--------------------|-----------------------|
| | % der FAME | mg/d | mg/d | % der FAME |
| C16:0 | 10 - 16 | 454 - 708 | 523 - 751 | 18 - 22 |
| C18:0 | 4 - 6 | 185 - 279 | 283 - 479 | 20 - 23 |
| C18:1 | 19 - 30 | 869 - 1339 | 765 - 921 | 14 - 21 |
| LA | 25 - 37 | 1190 - 1650 | k. A. | 18 - 24 |
| C18:3 | 13 - 24 | 582 - 1098 | k. A. | 8 - 13 |

Die CLA-Supplementation bewirkte gegenüber den Basiswerten in den Fäzeslipiden einen deutlichen Anstieg an SFA bei gleichzeitiger Verminderung der PUFA. Während LA und C18:3 n6 signifikant weniger ausgeschieden wurden, stieg der Anteil an AA signifikant an. Die Ergebnisse zeigen, dass die Fettsäurenverteilung der Fäzeslipide das Fettsäurenmuster des Serums reflektiert (SFA ↑, LA und C18:3 n6 ↓). Die über die Nahrung zugeführte Fettsäurenmenge und -art beeinflusst die Absorption der Fettsäuren (JØRGENSEN et al. 2000). Da der Gehalt an AA im Serum nahezu konstant blieb, wurde vermutlich weniger AA aus der Nahrung absorbiert. Darüber hinaus könnte auch die Bakterientätigkeit des Darms für diesen Effekt verantwortlich sein.

5.2 Rattenversuch

5.2.1 Beeinflussung der Nährstoffbilanz und Karkasszusammensetzung

In der Futter- bzw. Nährstoffaufnahme und Gewichtsentwicklung der Tiere wurden keine auf die Prüfsubstanzzulage zurückführbaren Unterschiede festgestellt. Die gefundenen Ergebnisse entsprechen denen früherer Studien an Mäusen (SANTORA et al. 1998, 2000, LOOR et al. 2002a) und Ratten (BANNI et al. 2001). Die Ausscheidung und scheinbare Verdaulichkeit von Fett und Energie blieb konstant, während die Stickstoffausscheidung über den Harn infolge VA-Zulage signifikant anstieg. Dies findet auch Ausdruck in einer tendenziell verminderten scheinbaren Verdaulichkeit des aufgenommenen Stickstoffs. Die erhöhte renale Stickstoffexkretion spricht, wie bei der Humanstudie (vgl. Kap. 4.1.1 und 5.1.1), für eine katabole Stoffwechsellage. Entsprechend diesem Ergebnis wurde ein verminderter Proteinanteil des Karkasses erwartet, dieser blieb hingegen unverändert. Allerdings repräsentiert Karkass nicht den Gesamtkörper (ca. 40 %), so dass eine Interpretation der Resultate nicht ohne weiteres möglich ist. Die Kontrolltiere nahmen über das Futter keinerlei *tVA* auf. Der signifikante Anstieg der scheinbaren Verdaulichkeit von *tVA* war bei den Versuchstieren in erster Linie eine Auswirkung der hohen *tVA*-Zufuhr. Eine Beeinflussung der Körperzusammensetzung in Zusammenhang mit der Prüfsubstanz wurde nicht erwartet, da bei Mäusen keine körpermodulierende Wirkung der aus *tVA* gebildeten CLA nachgewiesen wurde (SANTORA et al. 2000). Es besteht weitgehend Konsens darüber, dass nur *t10,c12*-CLA die Änderung der Körperzusammensetzung hervorruft (PARK et al. 1999b). Erwartungsgemäß wurden keine Unterschiede in der Zusammensetzung der Karkassen festgestellt. Lediglich der Wassergehalt stieg unerklärlicherweise infolge der VA-Zulage signifikant an.

5.2.2 Akkumulation von *tVA* und *cVA*

Der Gehalt an *tVA* und *cVA* stieg im Rattenkörper proportional zu der mit dem Futter aufgenommenen Menge an. Die durchschnittliche Netto-Zunahme an *tVA* lag in Abhängigkeit von der Gewebeart zwischen 0,3 und 11,8 mg/g Fett nach 0,5 %iger VA-Zulage sowie zwischen 0,6 und 26,6 mg/g Fett nach 1 %iger VA-Zulage. Der *tVA*-Pool im Rattenkörper wurde im Mittel um das 24- (0,5 % VA) bzw. 50-fache (1 % VA) erhöht. Obwohl für *cVA*

eine ähnlich hohe Netto-Zunahme im Körper erreicht wurde (0,5 % VA: 13,2 mg/g Fett; 1 % VA: 20,8 mg/g Fett) stieg deren Anteil nur maximal um das Doppelte. Dieser Unterschied ist im Futter begründet. Bereits im Kontrollfutter waren größere Mengen an *cVA* enthalten (12 mg/g Fett). Zudem belief sich die *cVA*-Menge im Präparat auf 12 %, während *tVA* zu 31 % enthalten war. Für *cVA* wurde eine um 3 % geringere Verdaulichkeit ermittelt. Die Verdaulichkeit, wie auch die Utilisierung von Fettsäuren, wird weitgehend von deren Schmelzpunkt bestimmt. Fettsäuren mit einem höheren Schmelzpunkt werden schlechter absorbiert. CFA haben im Vergleich zu TFA einen höheren Schmelzpunkt. Inwieweit sich diese Gegebenheit auf die vorliegenden Ergebnisse auswirkt, kann jedoch nicht abgeschätzt werden. *cVA* wird endogen synthetisiert und kommt entsprechend in höheren Mengen im Rattenkörper vor (HOLLOWAY & WAKIL 1964). Es wäre denkbar, dass *cVA* aufgrund der Sättigungskinetik weniger akkumuliert.

tVA und *cVA* wurden in die verschiedenen Gewebearten differenziert eingebaut. Die Inkorporation von Fettsäuren in die Gewebelipide hängt von der Position und Konfiguration der Doppelbindung ab (REICHWALD-HACKER et al. 1979). Die Anteile an *tVA* und *cVA* blieben im Gehirn nahezu konstant. Aufgrund der speziellen Struktur der Gehirnkapillaren ist deren Permeabilität im Vergleich zu den anderen Geweben relativ gering. Für Proteine ist die Blut-Hirnschranke beispielsweise inpermeabel. Fettlösliche Substanzen werden an der Passage in das Gehirn gehindert. Lediglich die wasserlöslichen Ketonkörper der Fettsäuren treten über (zur Energiegewinnung im Hirn). Fettsäuren werden an Serumalbumin gebunden transportiert und können deshalb die Blut-Hirnschranke nicht überwinden (LÖFFLER & PETRIDES, 1998).

Die höchsten Gehalte und Nettozunahmen an *tVA* wurden im Fettgewebe, vor allem im weißen, sowie in den Ovarien nachgewiesen. *cVA* wurde bevorzugt in das Fettgewebe, den Thymus, das Herz, die Ovarien und die Erythrozytenmembran eingebaut. Ein vergleichbarer gewebespezifischer Einbau von *tVA* und *cVA* wurde von REICHWALD-HACKER et al. (1979) festgestellt. Aus den gefundenen Ergebnissen geht deutlich hervor, dass beide Fettsäuren hauptsächlich im Fettgewebe akkumulieren. Die Fettsäuren des Fettgewebes stammen nur zu einem geringen Anteil aus der *De-novo*-Synthese. Die Triacylglyceride des Fettgewebes werden im Wesentlichen aus den zirkulierenden Fettsäuren gebildet. Entsprechend reflektiert das Fettgewebe des Monogastriden die mit der Nahrung aufgenommenen Lipide. Ovarien sind im Vergleich zu anderen Organen relativ Triacylglycerid-reich. Da *tVA* und *cVA* bevorzugt in diese Lipidklasse eingebaut werden, erklärt sich deren hoher Anteil in den Ovarien. Ferner ist davon auszugehen, dass das beobachtete Muster des ge-

webespezifischen Fettsäureeinbaus die Selektivität der Fettsäuren im Stoffwechsel widerspiegelt. Möglicherweise werden *tVA* und *cVA* in diesen Geweben langsamer metabolisiert und/oder aufgrund ihrer Struktur bevorzugt eingebaut.

5.2.3 Bildung von CLA

Der beobachtete signifikante Anstieg des CLA-Gesamtgehaltes als Folge der VA-Supplementation deckt sich mit den Angaben aus der Literatur (PALMQUIST & SANTORA 1999, SANTORA et al. 2000, BANNI et al. 2001, LOOR et al. 2002a; Tab. 5-4 und 5-5). Im Mittel stieg der CLA-Gehalt um das 7- bzw. 14-fache, maximal um das 13- bzw. 27-fache an. Dies entspricht den Ergebnissen von BANNI et al. (2001). Bei einem *tVA*-Anteil von 1 % in der Diät zeigten Mäuse insgesamt einen deutlich geringeren CLA-Zuwachs (SANTORA et al. 2000, LOOR et al. 2002a).

Die Steigerung der CLA-Gehalte wurde unabhängig vom Geschlecht sowohl im Rattenkörper als auch in den einzelnen Geweben, im Serum und in der Erythrozytenmembran ermittelt. Die Akkumulation der CLA war gewebespezifisch. Die höchsten CLA-Gehalte wurden im Fettgewebe und in den Gonaden, die niedrigsten im Herz, in der Leber und in der Erythrozytenmembran festgestellt. Der relative CLA-Anteil hingegen stieg in Leber, Nieren und Fettgewebe am stärksten an. Ein vergleichbares CLA-Verteilungsmuster nach CLA-Gabe an Ratten ist von SUGANO et al. (1997) und ALASNIER et al. (2002) beschrieben worden. BANNI et al. (2001) wiesen ebenfalls die höchsten CLA-Gehalte im (Brust-)Fettgewebe nach. In der vorliegenden Studie wurden vergleichsweise niedrige CLA-Gehalte in der Leber festgestellt; obwohl die relative Zunahme des CLA-Anteils sehr hoch war. Dagegen stehen die Angaben von LOOR et al. (2002a), die keine Konzentrationsunterschiede für CLA zwischen Leber, Brustdrüse und Karkass fanden.

Tabelle 5-4: Studien zur Konversion von *tVA* in CLA an Mäusen (Karkass)

| Autor | N | Dauer | Supplement | Netto-Zunahme [mg/g Fett] | | Konversionsrate [%] | |
|-----------------------------|------|-------|---|---------------------------|-------|---------------------|-------|
| | | | | <i>tVA</i> | CLA | 1 | 2 |
| PALMQUIST & SANTORA (1999) | 30 ♀ | 14 d | 1 % <i>tVA</i> | k. A. ³ | k. A. | 20 | 50,8 |
| SANTORA et al. (1998, 2000) | 30 ♀ | 14 d | 1 % C18:0 (Kontrolle) 1 % <i>tVA</i> | 22,8 | 38,8 | 12 | 48,4 |
| LOOR et al. (2002a) | 24 ♀ | 12 d | | 25,0 | 5,0 | k. A. | k. A. |

¹ Konversion der im Futter enthaltenen *tVA* in Karkass-*tVA*

² Konversion der in Geweben gespeicherten *tVA* in CLA

³ k. A. - keine Angabe

Tabelle 5-5: Studien zur Konversion von *tVA* in CLA an Ratten (Karkass)

| Autor | N | Dauer | Supplement | Netto-Zunahme [mg/g Fett] | | Konversionsrate [%] | |
|---------------------|-----------|-------|---|--|--|----------------------------|----------------------------|
| | | | | <i>tVA</i> | CLA | 1 | 2 |
| BANNI et al. (2001) | 16 ♀ | 21 d | 0 % (Basisdiät), 1, 2, 3 % <i>tVA</i> | 34,9 (1 %) 78,5 (2 %) 44,9 (3 %) | 16,5 (1 %) 33,6 (2 %) 24,5 (3 %) | k. A. | k. A. |
| vorliegende Studie | je 12 ♂,♀ | 15 d | 1 % Sojaöl (Kontrolle), 0,5 % (+ 0,5 % Sojaöl), 1 % | 4,18 (0,5 %) 8,83 (1 %) | 1,53 (0,5 %) 3,43 (1 %) | 10,9 (0,5 %) 18,6 (1 %) | 24,6 (0,5 %) 26,1 (1 %) |

⁴ Angabe in nmol/mg Fett

Die unterschiedliche Geweberetention von CLA ist bis heute weitgehend ungeklärt. Eine verstärkte CLA-Akkumulation im Gewebe reflektiert dessen selektive Aufnahme oder langsamere Metabolisierung. Im Gegensatz dazu deutet eine geringere CLA-Deposition auf eine selektive Diskriminierung oder auf eine schnelle Metabolisierung hin (YURAWECZ et al. 1999). CLA werden überwiegend in Neutrallipide und im begrenzten Ausmaß in Phospholipide inkorporiert (IP et al. 1996, 1997, 1999). Daraus ergibt sich, dass CLA bevorzugt in Gewebe eingebaut werden, die einen hohen Anteil an Neutrallipiden aufweisen (Fettgewebe). Da die Lipide der Leber zu etwa 65 % aus Phospholipiden bestehen (ANDERSON et al. 1975), fällt deren Gehalt an CLA relativ gering aus. Gleiches trifft auch auf die Gewebe Herz, Nieren und Skelettmuskel bzw. auf die Erythrozytenmembran zu. Beim Vergleich der CLA-Gehalte zwischen dem weißen und braunen Fettgewebe fällt auf, dass im weißen Fettgewebe doppelt so viel CLA akkumuliert wurde wie im braunen Fettgewebe. Dieser Unterschied ist wahrscheinlich in der Funktion der beiden Gewebe begründet. Während das weiße Fettgewebe auf die Bildung und Speicherung von Triacylglyceriden spezialisiert ist, übernimmt das braune Fettgewebe durch intramitochondriale Substratoxidation die Funktion der Thermogenese. Für den Menschen spielt das braune Fettgewebe keine Rolle. In der pränatalen Phase bildet sich beim Menschen das braune Fettgewebe nahezu vollständig zurück, bei Nagetieren, besonders bei Ratten, bleibt es hingegen auch im adulten Zustand erhalten.

Fettsäuren sind strukturelle Einheiten von Membranen, Energielieferanten und Ausgangssubstanzen für die Eicosanoidsynthese und kommen entsprechend ihrer Funktion in Membranen, Adipozyten und im Serum vor. Das Fettsäurespektrum im Serum bzw. Plasma von Mensch (und Ratte) reflektiert die Nahrungsaufnahme der letzten Tage (KOHLMIEIER 1995), so dass Serumfettsäuren keine geeigneten Indikatoren für die im Körper gespeicherten Fettsäuren sind. Nach BATES et al. (1997) besteht bei den meisten Individuen kein Zusammenhang zwischen den Fettsäuren im Serum und denen des Fettgewebes. Auch die Ergebnisse von JIANG et al. (1999) zeigen, dass keine quantitative Beziehung zwischen dem CLA-Gehalt im Serum und dem CLA-Gehalt des Fettgewebes besteht. Im Gegensatz zum Serum sind Erythrozyten aufgrund ihrer Halbwertszeit von ca. 120 Tagen geeignete Biomarker. Die Fettsäurenverteilung in Membranlipiden spiegelt das Fettsäurenmuster des Gesamtkörpers sowie die Fettsäureaufnahme über eine längere Zeitspanne wider (ARAB 2003). Die Ergebnisse aus einer Tiermodellstudie an Schweinen zeigen, dass der CLA-Gehalt der Erythrozytenmembran als geeigneter Biomarker für die langfristige CLA-Aufnahme genutzt werden kann (STANGL et al. 1999). Eine nahezu lineare Steige-

rung der CLA-Gehalte in der Erythrozytenmembran durch Verabreichung der Prüfsubstanz konnte auch in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden (0 % VA: 0,9 g/g Fett; 0,5 % VA: 2,0 mg/g Fett; 1 % VA: 3,0 mg/g Fett). Man kann die verschiedenen Gruppen miteinander vergleichen, so dass in dieser Beziehung die Erythrozytenmembranen auch in Humaninterventionsstudien genutzt werden können. Die Übertragung der CLA-Gehalte der Erythrozytenmembran auf den Körper war allerdings nicht möglich (Rattenkörper 3,7 mg/g Fett). Es ist anzunehmen, dass der Versuchszeitraum in Bezug auf die Halbwertszeit (20 - 45 Tage) und den Turnover der Erythrozyten zu kurz angesetzt war.

Durch einen experimentellen Vergleich von konventionellen und keimfreien Ratten wurde eindrucksvoll gezeigt, dass Monogastriden in der Lage sind, über die Darmmikrobenflora aus freier LA CLA zu bilden (CHIN et al. 1994). Die direkte Synthese von CLA aus LA wurde z. B. für das aus dem Rattenkolon isolierte Bakterium *Lactobacillus reuteri* nachgewiesen (YANG 1997). Es ist aber davon auszugehen, dass eine Vielzahl von Bakterien in der Lage sind CLA zu bilden. Langkettige, ungesättigte Fettsäuren werden im Kolon nicht absorbiert, sondern über die Fäzes exkretiert (CAREY et al. 1983). Da die Isomerisierung der LA zu CLA im Kolon stattfindet, ist anzunehmen, dass CLA nur marginal resorbiert werden und somit nicht zur Anreicherung der Körperlipide beitragen. Unter dieser Prämisse können die bakteriell gebildeten CLA bei der Ratte nur mittels Koprophagie wieder in den Tierkörper und zur Absorption gelangen. In der ersten Versuchsphase wurden die Tiere in Standardkäfigen gehalten, so dass eine Koprophagie prinzipiell möglich war. Durch die Haltung der Ratten in Einzeltier-Stoffwechselkäfigen wurde der Fäzesverzehr zwar eingeschränkt, konnte jedoch nicht gänzlich unterbunden werden. Die geringen Mengen an CLA im Körper der Kontrolltiere bestätigen dies.

Das Futter der Tiere enthielt einen hohen Anteil an LA, da Sojaöl grundsätzlich dem Standardfutter zum isoenergetischen Ausgleich zugesetzt wurde. Zur Messung der Konversion von *t*VA in *c*9,*t*11-CLA ist das verwendete Öl nicht optimal geeignet; es wurde gewählt, weil Sojaöl die mittlere Fettsäurenverteilung des üblichen Rattenfutters repräsentiert. In den Fäzeslipiden der Kontrollgruppe wurde der höchste CLA-Gehalt festgestellt. In den Zulagegruppen wurde signifikant weniger CLA ausgeschieden. Der höhere CLA-Gehalt in den Fäzeslipiden der Kontrolltiere ist in erster Linie durch die im Futter enthaltene hohe LA-Menge bedingt (Futter mit 0 % VA-Anteil: 1 % Sojaöl-Zusatz). Dieses Ergebnis untermauert die bakterielle Synthese von CLA im Darm.

Der Einfluss von *t*VA auf die Entstehung von CLA-Isomeren ist nur unzureichend geklärt. Bisherige Untersuchungen an verschiedenen Tiermodellen wiesen die Bildung des CLA-

Isomers *c*9,*t*11 aus *t*VA nach (PALMQUIST & SANTORA 1999, GLÄSER et al. 2000, GRINARI et al. 2000a, SANTORA et al. 2000, BANNI et al. 2001, MEIJER et al. 2001, LOOR et al. 2002a). Die Bildung weiterer CLA-Isomeren wurde hingegen nicht betrachtet. Durch die Aufnahme von *t*VA waren die Gehalte nahezu aller CLA-Isomeren in den Lipiden des Rattenkörpers bzw. der verschiedenen Gewebe dosisabhängig erhöht. Erwartungsgemäß führte *t*VA zur Verschiebung der Isomerenanteile zugunsten des *c*9,*t*11-Isomeres. Der Anstieg der absoluten Menge der einzelnen Isomeren resultiert wahrscheinlich in erster Linie aus Isomerisierungsreaktionen. In einer neueren Studie an Kühen wurde die endogene Synthese des CLA-Isomeren *t*7,*c*9 aus *t*7-C18:1 via Δ 9-Desaturase nachgewiesen (CORL et al. 2002). Im vorliegenden Versuch stiegen die Gehalte an *t*7,*c*9- (koeluiert mit *t*6,*c*8) und *t*7,*t*9-CLA an. Eine endogene Synthese von *c*/*t*- bzw. *t*,*t*-7,9 kann nicht ausgeschlossen werden, da sowohl im Präparat als auch im Futter *t*7-C18:1 enthalten war.

Da die Desaturasen tierischer und menschlicher Zellen eine Doppelbindung am 9. Kohlenstoffatom einfügen können, besteht die Möglichkeit, dass *t*12-C18:1 unter dem Einfluss der Δ 9-Desaturase zu *c*9,*t*12-C18:2 synthetisiert wird. Infolge Isomerisierungsreaktionen ist die Bildung von *t*9,*c*12-C18:2 denkbar. Auch wenn in der vorliegenden Studie der Gehalt an *t*9,*c*12-C18:2 in den Geweben eher gering war, konnte doch festgestellt werden, dass der Anteil dieser Fettsäure mit steigender VA-Dosis zunahm. Diese Dosis-Wirkungs-Beziehung erbringt zumindest den indirekten Beweis, dass *t*12-C18:1 am 9. Kohlenstoffatom desaturiert wurde. In weiteren Studien sollte die endogene Synthese von *t*,*t* bzw. *c*/*t* 7,9- und 9,12-C18:2 im Monogastriden direkt durch gezielte Einzelapplikation von *t*7- und *t*12-C18:1 verifiziert werden.

Die Fäzeslipide der Ratten unterschieden sich deutlich im CLA-Muster von den Gewebelipiden (Abb. 5-1). Auffällig war der dominierende Anteil an *t*10,*c*12-, *t*10,*t*12- bzw. *c*10,*c*12-CLA. Die Ergebnisse bestätigen Studien an Hunden und Katzen, in denen die Bildung von 10,12-CLA bereits beschrieben wurde (FUKUDA et al. 2002). Es ist denkbar, dass das spezifische Isomerenmuster aus der Bakterientätigkeit resultiert. Möglicherweise ist das Kolon von einer Vielzahl spezifischer Bakterien besiedelt, die unterschiedliche *c*,*t*-Isomerasen besitzen. Ausgehend von dieser Hypothese ist es vorstellbar, dass ein Großteil der LA unter dem Einfluss einer *c*9,*t*10-Isomerase zu *t*10,*c*12-CLA isomerisiert und folglich in den Fäzeslipiden angereichert wurde.

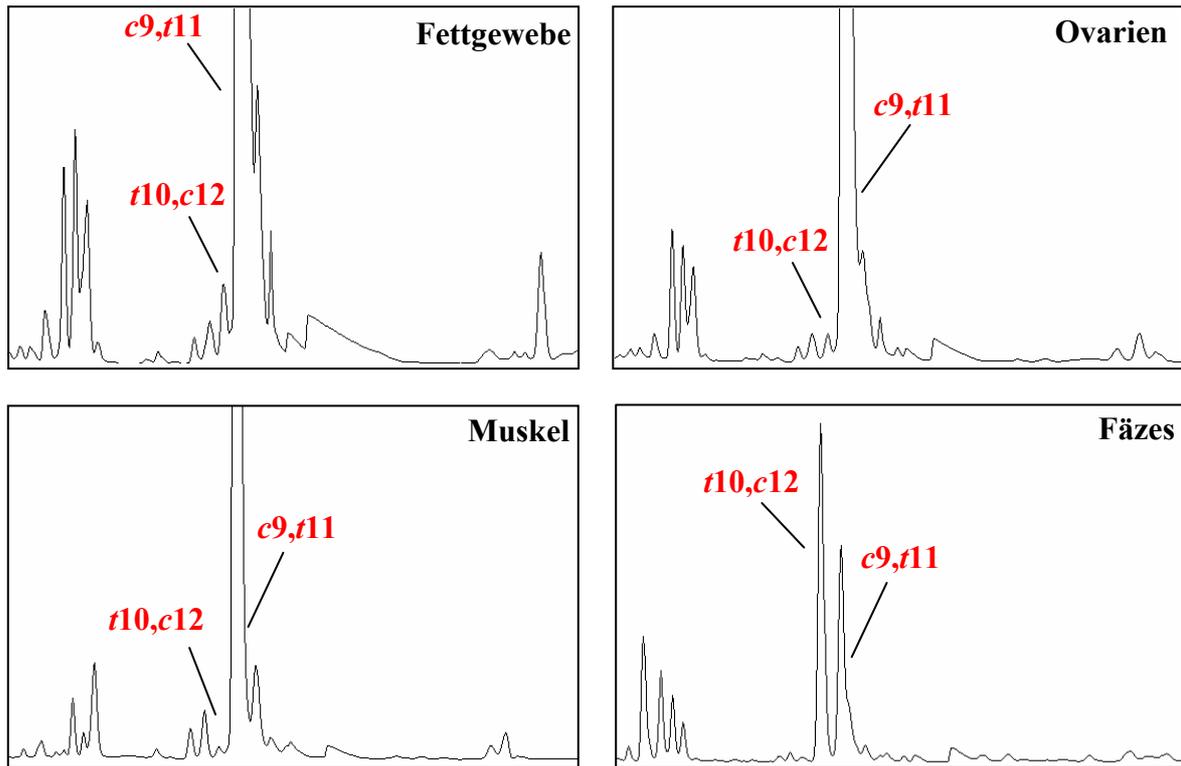


Abbildung 5-1: *Ag⁺-HPLC-Chromatogramme zur CLA-Isomerenverteilung verschiedener Gewebelipide im Vergleich zu Fäzeslipiden*

5.2.4 *t*VA und *c*VA als Präkursoren für CLA

Bereits 1980 beschrieben MAHFOUZ et al. und POLLARD et al. die *In-vitro*-Desaturation von *t*VA zu *c,t*-C18:2-Derivaten durch die mikrosomale $\Delta 9$ -Desaturase der Rattenleber. Erst etwa 20 Jahre später wurde der Metabolismus der *t*VA an verschiedenen Tiermodellen (Rind, Maus, Ratte) untersucht (GRINARI et al. 2000a, CORL et al. 2001). Diese Studien und die vorliegende Untersuchung zeigen eindrucksvoll, dass *t*VA ein effektiver Präkursor für CLA ist.

Entsprechend den Ergebnissen aus dieser Arbeit besteht eine enge Beziehung zwischen der *t*VA-Aufnahme und dem *c9,t11*-CLA-Gehalt im Gewebe. Bei der statistischen Prüfung erwies sich dieser Zusammenhang als hochsignifikant ($P < 0,001$). Mit steigender *t*VA-Aufnahme nahm der Gehalt an *c9,t11*-CLA im Gewebe linear zu (Abb. 5-2). Die Korrelationskoeffizienten liegen mit Werten von 0,97 (Fettgewebe, Karkass), 0,95 (Leber) und 0,94 (Rattenkörper) sehr hoch. Auch BANNI et al. (2001) stellten eine enge positive Korrelation zwischen der *t*VA-Aufnahme und der CLA-Konzentration im Gewebe fest. Die Au-

toren konstatierten, dass die Konversion von *tVA* zu *c9,t11*-CLA bereits bei 2 % *tVA* in der Nahrung ihr Maximum erreichte. Die CLA-Konzentration im Gewebe erreichte bei dieser Dosis ein Plateau. Eine höhere Dosis von 3 % *tVA* führte offensichtlich zur Hemmung der $\Delta 9$ -Desaturase (BANNI et al. 2001).

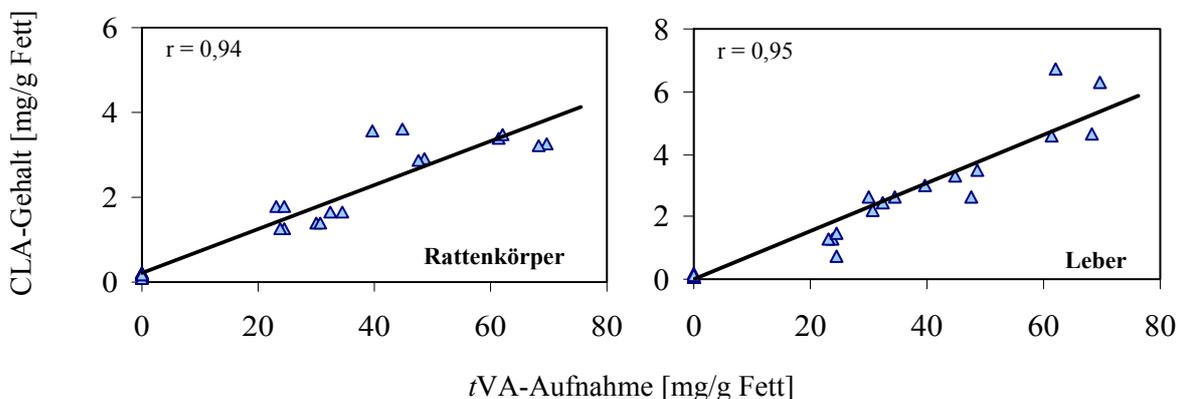


Abbildung 5-2: *Quantitative Beziehung zwischen aufgenommener tVA-Menge und c9,t11-CLA-Gehalt im Rattenkörper und in der Leber (N = 24, P < 0,001)*

An dieser Stelle soll besonders das Ergebnis hervorgehoben werden, dass innerhalb von 18 Tagen Versuchsdauer der CLA-Gehalt in den Lipiden der Erythrozytenmembran in Abhängigkeit von der *tVA*-Aufnahme nahezu linear anstieg. Dieses Resultat beweist, dass die Erythrozytenmembran bei der Ratte ein geeigneter Indikator für die Umwandlung von *tVA* in CLA ist.

Die Isomeren der Monoenfettsäuren werden am 9. Kohlenstoffatom in Abhängigkeit von deren Position und Konfiguration desaturiert (BRETT et al. 1971). Nach den Untersuchungen von POLLARD et al. (1980) werden *trans*-Monoenfettsäuren im selben Umfang wie Stearinsäure von der $\Delta 9$ -Desaturase umgewandelt. Interessanterweise werden *cis*-Monoenfettsäuren hingegen erst ab dem 13. Kohlenstoffatom $\Delta 9$ -desaturiert. Vergleichbare Ergebnisse wurden von MAHFOUZ et al. (1980) und HOLMAN & MAHFOUZ (1981) beschrieben. *Cis*-Isomeren von Fettsäuren unterscheiden sich von ihren korrespondierenden *trans*-Isomeren durch die räumliche Struktur. Während *trans*-Isomeren gestreckt und eng gepackt sind, weisen *cis*-Isomeren eine raumgreifende Struktur auf. Die Konfiguration der Monoenfettsäuren ist der limitierende Faktor für eine Desaturierung am 9. Kohlenstoffatom (POLLARD et al. 1980). *Cis*-Monoenfettsäuren passen als Folge ihrer Molekülstruktur erst ab dem 13. Kohlenstoffatom in das aktive Zentrum der $\Delta 9$ -Desaturase (ENOCH et al. 1976,

BROADWATER et al. 2000). Demzufolge wird *cVA* nicht zu *c9,c11-C18:2* desaturiert. Die endogene Bildung von 9,11-CLA mit einer *cis,cis*-Konfiguration ist theoretisch dennoch denkbar. Im ersten Schritt wird *tVA* zu *c9,t11-C18:2* desaturiert. Diese wird im zweiten Schritt zu *c9,c11-C18:2* isomerisiert (Abb. 5-3). Indem die *cis*-Doppelbindung auch zur korrespondierenden *trans*-Doppelbindung isomerisiert werden kann, ist es möglich, dass zuerst *cVA* zu *tVA* isomerisiert.

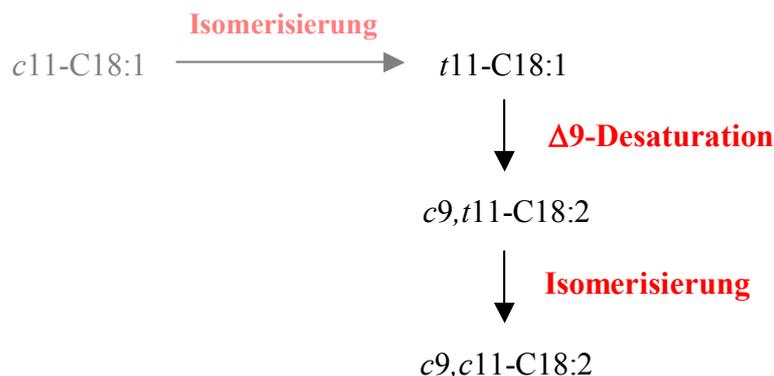


Abbildung 5-3: Möglicher Bildungsweg von *c9,c11-C18:2* im Gewebe

Hinsichtlich der vorliegenden Ergebnisse wird postuliert, dass *cVA* kein direkter Präkursor für *c9,c11-CLA* ist. Der gestiegene Anteil an *c9,c11-CLA* im Rattenkörper scheint aus deren Anflutung über den oben beschriebenen Weg zu resultieren. Um diesen Sachverhalt zu klären, sollte eine Studie durchgeführt werden, in der die reine Fettsäure *cVA* verabreicht wird. Ein Absorptionsversuch mit markierter *cVA* wäre an dieser Stelle hilfreich.

Die verschiedenen Gewebe wiesen ein typisches CLA-Isomerenmuster auf. Bei allen Geweben wurde *c9,t11-CLA* als Hauptisomere identifiziert. Für nahezu alle Isomeren wurde eine Steigerung des absoluten Gehaltes in den Geweben nachgewiesen. Die gefundenen Ergebnisse führen zur Annahme, dass eine Isomerisierung der *c9,t11-CLA* zu den anderen geometrischen und Positionsisomeren stattgefunden hat.

5.2.5 Beurteilung der Desaturaseaktivität

Die Desaturation von Fettsäuren findet im endoplasmatischen Retikulum via anaerobe Prozesse statt (BRENNER 1974). Für die $\Delta 9$ -Desaturase im Nagetier codieren zwei unterschiedliche, hoch homologe Gene, SCD1 und SCD2 (NTAMBI 1995). Beide Gene weisen eine hohe Gewebespezifität auf. SCD1 wird im Fettgewebe gebildet, SCD2 wird hingegen in Gehirn, Milz, Nieren, Herz, Lunge, intestinaler Mukosa und Fettgewebe exprimiert

(TOCHER et al. 1998). In der Leber konnten jedoch nur geringe Enzymaktivitäten nachgewiesen werden (CAMERON et al. 1994).

Die Desaturaseaktivität kann biochemisch unter Verwendung eines Assays oder durch Bestimmung der Expression der mRNA der Desaturasegene ermittelt werden. Im vorliegenden Versuch standen diese Verfahren nicht zu Verfügung. Abschätzungen zur Stearoyl-CoA-Desaturase-Aktivität können aber auch über Desaturaseindizes ($\Delta 9$ -DI, Fettsäurenverhältnisse) bzw. mit Hilfe von kalkulierten Konversionsraten oder der scheinbaren Wiederfindung getroffen werden.

Der $\Delta 9$ -DI ist kein Indikator der absoluten Enzymaktivität. Er kann aber herangezogen werden, um Aussagen über die Desaturaseaktivität in den einzelnen Geweben zu treffen. Zudem ist es möglich, einen Einfluss auf die $\Delta 9$ -Desaturase-Aktivität nachzuweisen (SMITH et al. 2002). Die einzelnen Gewebe wiesen unterschiedliche $\Delta 9$ -DI's auf. Im Fettgewebe und - unerwarteterweise - in den Ovarien wurden die höchsten $\Delta 9$ -DI's ermittelt, während das Herz, die Leber und Erythrozytenmembran durch deutlich geringere $\Delta 9$ -DI's gekennzeichnet waren. Diese Ergebnisse sprechen für eine gewebespezifische Expression der $\Delta 9$ -Desaturase.

Mit Hilfe der scheinbaren Wiederfindung wird nur der Anteil der aufgenommenen Fettsäuren betrachtet, welche in die Gewebe eingebaut wurden. Die scheinbare Wiederfindung der *t11*- (*c9,t11*-CLA, *tVA*) und *c11*- (*c9,c11*-CLA, *cVA*) Fettsäuren stieg nahezu linear mit der VA-Dosis an. Dabei unterschied sich die scheinbare Wiederfindung der Fettsäuren im Fettgewebe nur geringfügig vom Rattenkörper. Demnach wurden diese Fettsäuren hauptsächlich im Fettgewebe eingebaut. Die ermittelte scheinbare Wiederfindung im Rattenkörper lag zwischen 11 und 22 %. Die gefundenen Ergebnisse bestätigen frühere Ergebnisse mit Mäusen (PALMQUIST & SANTORA 1999, SANTORA et al. 1998, 2000). Da für *tVA* und *cVA* hohe Absorptionsraten (96 % und 93 %) ermittelt wurden, kann die relativ niedrige scheinbare Wiederfindung als die Folge von bereits stattgefundenen Oxidations- bzw. Metabolisierungsreaktionen interpretiert werden.

Die Konversionsrate lässt Rückschlüsse auf die Desaturation der im Gewebe gespeicherten *tVA* zu CLA ziehen. Die berechnete Konversionsrate im Rattenkörper betrug im Mittel 25 % (0,5 % VA-Zulage) und 26 % (1 % VA-Zulage). Bei Mäusen wurde eine Konversionsrate von durchschnittlich 50 % ermittelt (PALMQUIST & SANTORA 1999, SANTORA et al. 1998, 2000). Offensichtlich bestehen zwischen den Spezies Unterschiede in den Desaturaseaktivitäten. Basierend auf den Ergebnissen kann vermutet werden, dass Ratten möglicherweise geringere Desaturationsraten aufweisen als Mäuse. Bemerkenswerte Un-

terschiede in der Konversionsrate wurden zwischen den verschiedenen Geweben festgestellt. In Leber und Herz wurde die niedrigste, in Nieren, Ovarien und Fettgewebe die höchste Desaturaserate ermittelt. Die Ergebnisse decken sich mit denen des $\Delta 9$ -DI's und untermauern die gewebespezifische Expression der $\Delta 9$ -Desaturase. Die doppelte Menge an VA führte zu einem Anstieg der Konversionsrate.

TFA steigern die $\Delta 9$ -Desaturase-Aktivität bei Ratten (DESCHRIJVER & PRIVETT 1982). JAYAN & HERBEIN 2000 erbrachten den direkten Beweis in bovinen Brustepithelzellen (MacT-Zellen), dass *tVA* die Aktivität der $\Delta 9$ -Desaturase erhöht. Offensichtlich führte der höhere TFA- und/oder *tVA*-Anteil im Futter zur Stimulation der mRNA-Expression der SCD-Gene. Insbesondere in Leber, Herz und Gonaden wurde eine gesteigerte Desaturaserate nachgewiesen. Anscheinend erfolgt die Stimulation der $\Delta 9$ -Desaturase oder Genexpression primär in diesen Geweben. Nicht zuletzt soll darauf hingewiesen werden, dass *cVA* die Desaturation hemmt (CHANG et al. 1973, ROSENTHAL & WHITEHURST 1983). *cVA* war sowohl im Futter als auch im Supplement enthalten und könnte seinerseits zur Einschränkung der Desaturaseaktivität geführt haben. Folglich kann unterstellt werden, dass eine Applikation der reinen Fettsäure *tVA* eine effektivere Desaturation zu Folge gehabt hätte. Diese Hypothese sollte in weiteren Studien verifiziert werden.

LEE et al. (1996) wiesen für männliche und weibliche Mäuse eine unterschiedliche Expression des SCD1-Genes nach. Im Fettgewebe wurden in der Tendenz für die weiblichen Tiere höhere Desaturationsraten als für die männlichen Tiere ermittelt. Andererseits wiesen die Gewebe Leber, Herz und Gonaden der Männchen deutlich höhere Konversionsraten im Vergleich zu den Weibchen auf. Diese Beobachtung demonstriert, dass auch bei Ratten geschlechtsspezifische Unterschiede in der $\Delta 9$ -Desaturaseaktivität bestehen. Die geschlechtsspezifische Expression des SCD1-Genes wird mit hormonellen Unterschieden in Verbindung gebracht (NTAMBI 1995, TOCHER et al. 1998). Bedeutsamer ist wahrscheinlich die Proportionalität zwischen der SCD-Expression und der Fettgewebsmasse (NTAMBI 1999). Weibchen besitzen im Vergleich zu ihren männlichen Artgenossen eine um etwa 25 % höhere Fettmasse und zeichnen sich entsprechend durch eine höhere SCD-Expression aus (LEE et al. 1996). In der vorliegenden Untersuchung unterschied sich der Fettgehalt der weiblichen Tiere nicht signifikant von dem der männlichen Tiere. Diese Tatsache ist auf das Alter der Ratten zurückzuführen. Während des Versuches befanden sich die Tiere noch in der Adoleszenz.

5.2.6 Extrapolation der Ergebnisse auf den Menschen

Die eigene Untersuchung sowie verschiedene tierexperimentelle Studien belegen, dass *tVA* auch im Gewebe von Monogastriden als Präkursor für die Bildung von *c9,t11-CLA* genutzt wird. Bereits 1988 postulierten FORGERTY et al. einen ähnlichen Stoffwechselweg beim Menschen. Drei Interventionsstudien belegen, dass CLA auch im Menschen aus *tVA* gebildet werden können (Tab. 5-6). Durch die Verwendung von verschiedenen Deuterium-markierten CFA und TFA studierten EMKEN et al. (1986) bereits im Jahre 1978 den Metabolismus dieser Fettsäuren (einmalige Dosis von 8 - 10 g) an zwei Versuchspersonen. Die Autoren stellten keine Konversion von *tVA* zu CLA fest. Nach 20 Jahren ergab eine Reanalyse, dass *tVA* zu *c9,t11-CLA* desaturiert wurde (ADLOF et al. 2000). SALMINEN et al. (1998) prüften die Beziehung zwischen einer TFA-reichen Diät und dem CLA-Plasmaspiegel. Obwohl die Diät praktisch CLA-frei war, wurde ein steigender CLA-Gehalt im Serum festgestellt. Inzwischen liegen auch erste Resultate einer Humaninterventionsstudie vor, die den direkten Beweis der *tVA*-Konversion zu CLA lieferten. Besonders beeindruckend war das Ergebnis, dass zwischen der *tVA*-Aufnahme und dem CLA-Gehalt der Serumlipide eine enge Beziehung bestand. Durch die Aufnahme von 4,5 g VA (1,3 g *tVA* absolut) pro Tag war die $\Delta 9$ -Desaturase bei der Mehrheit der Probanden offensichtlich noch nicht ausgeschöpft. An dieser Stelle wäre interessant, welche *tVA*-Dosis zur Absättigung des Enzyms und damit zu einem Plateau der gebildeten CLA führt.

Tabelle 5-6: Humanstudien zur Umwandlung von *tVA* zu *c9,t11-CLA*

| | SALMINEN et al. (1998) | ADLOF et al. (2000) | TURPEINEN et al. (2002) |
|---|--|-------------------------------------|--|
| Probandenkollektiv | 49 ♂, 31 ♀ | 1 ♂ | 8 ♂, 22 ♀ |
| Dauer | 10 Wochen | 2 Tage | 23 Tage |
| Supplement | TFA-reiche Diät (ca. 3 g <i>tVA</i> /d) | 8 - 10 g eines Fettsäurengemisches* | 1,5; 3,0 bzw. 4,5 g VA/d |
| CLA-Konzentration im Serum (% der FAME) | 0,43 % | max. 0,32 % (nach 8 h) | 0,24 % (1,5 g) 0,35 % (3,0 g) 0,44 % (4,5 g) |
| Anstieg (%) | 130 % | 457 % | 150 % (1,5 g) 269 % (3,0 g) 293 % (4,5 g) |

* diverse Deuterium-markierte Fettsäuren (u. a. *tVA*)

Bisher gibt es keine Ergebnisse beim Menschen, die quantitative Aussagen zur Konversion oral aufgenommener *tVA* zu *c9,t11-CLA* in Geweben ermöglichen. Für die Humanernährung ist es von Bedeutung, darüber Kenntnis zu erlangen. Im Rahmen einer Humaninterventionsstudie können als Probenmaterial nur Blut und Fäzes untersucht werden. Gewebeentnahmen sind lediglich bei Operationen (z. B. Entnahme von Tumorgewebe) oder Biopsien denkbar. Folglich besteht in erster Linie nur die Möglichkeit auf Grundlage von Tiermodellstudien eine Kalkulation zur quantitativen Konversion von *tVA* vorzunehmen. Allerdings bedarf die Extrapolation der Ergebnisse aus den Tiermodellstudien auf den Menschen einer differenzierten Wertung. Sicher ist es nicht ohne weiteres möglich, vom Tier auf den Mensch zu schließen. Erschwerend ist, dass sich der Mensch im Lipidmetabolismus von der Ratte unterscheidet. Im Gegensatz zur Ratte wurde für den Menschen nur ein SCD-Gen charakterisiert (ZHANG et al. 1999). Die Homologie der $\Delta 9$ -Desaturase der Ratte zur $\Delta 9$ -Desaturase des Menschen beträgt 84 % (TOCHER et al. 1998). Aufgrund der Komplexität ist zur gewebespezifischen Expression der $\Delta 9$ -Desaturase im Humangewebe wenig bekannt. Beim Menschen findet die Fettsäuresynthese vorrangig in der Leber statt. Eigene Ergebnisse an Ratten zeigen aber, dass nur ein geringer Teil der *tVA* in der Leber desaturiert wird. Im Idealfall würden als Modelltier Schweine eingesetzt werden, da diese hinsichtlich Verdauungs- und Absorptionsmechanismen ein geeignetes Modelltier für den Menschen darstellen. Die Wahl der Tierart wurde durch praktische Aspekte bestimmt (Verfügbarkeit in ausreichender Anzahl, Kostenminimierung, Haltung unter Laboratoriumsbedingungen). Unter diesen Prämissen fiel die Wahl des Versuchstieres auf die Ratte. Sie ist omnivor und in der Lage, große Quantitäten von dem Futter zugesetzten Testsubstanzen aufzunehmen.

Durch eine Gegenüberstellung der Ergebnisse aus dem vorliegenden Rattenversuch mit den Ergebnissen aus der Humanstudie von TURPEINEN et al. (2002), die beide mit demselben Präparat durchgeführt wurden, soll die Möglichkeit einer Vergleichbarkeit beider Studien herausgearbeitet werden. Der Anteil an *tVA* im Rattenfutter betrug bei der höchsten Supplementation 0,3 %. Die tägliche Trockensubstanzaufnahme des Menschen beträgt durchschnittlich 500 g, so dass bei 0,3 % effektiv 1,5 g *tVA* aufgenommen werden würden. In der Studie von TURPEINEN et al. (2002) betrug die absolute *tVA*-Dosis 1,3 g/d (30 % von 4,5 g VA-Supplement). Ausgehend von der *tVA*-Konzentration sind beide Studien miteinander vergleichbar. Die Autoren kalkultierten eine Konversionsrate im Serum von durchschnittlich 19 %. Neu ist die Erkenntnis, dass bezüglich der *tVA*-Konversion starke interindividuelle Unterschiede bestehen. Danach muss zwischen Non-, Low- und High-

Respondern unterschieden werden (TURPEINEN et al. 2002). Im eigenen Versuch wurde für das Serum eine Konversionsrate von durchschnittlich 23 % berechnet. Vergleicht man die Konversionsraten beider Studien, fällt auf, dass Ratten scheinbar tendenziell eine höhere Desaturaseaktivität besitzen. Der Tierversuch wurde am wachsenden Organismus durchgeführt. Der Stoffwechsel des juvenilen Organismus unterscheidet sich vom adulten Organismus vor allem durch die entwicklungsbedingten Veränderungen der Organfunktionen und durch die Körperzusammensetzung. Entsprechend dieser Tatsache sind die vorliegenden Ergebnisse nicht ohne weiteres auf den adulten Organismus übertragbar. Es zeichnen sich jedoch ähnliche Tendenzen ab, so dass prinzipiell eine Abschätzung vorgenommen werden kann.

Bisherige Untersuchungen zeigten, dass im Milchfett enge Korrelationen zwischen den Anteilen an *t*VA und CLA bestehen (2:1; Grünari & BAUMAN 1999, JAHREIS & KRAFT 2002, LOOR et al. 2002b). In Deutschland werden täglich etwa 1 g *t*VA/Person über die Nahrung aufgenommen. Unter der Prämisse, dass die *t*VA-Konversion im Tiergewebe annähernd adäquat zum Humangewebe ist und somit etwa ein Viertel der zugeführten *t*VA-Menge zu CLA desaturiert wird, könnte eine Steigerung des CLA-Körperpools um 250 mg/Person unterstellt werden.

5.2.7 Einfluss auf ausgewählte Fettsäuren

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass in den Zulagegruppen die Fettsäurenverteilung in den Gewebelipiden nachhaltig beeinflusst wurde. Das Fettsäurenmuster in den Lipiden veränderte sich differenziert in Abhängigkeit vom Gewebe. Die Fettsäurenverteilung wird von einem Fettsäurenpool beeinflusst, der Fettsäuren aus der Nahrung aufnimmt, metabolisiert, oxidiert und zur Inkorporation in die Gewebelipide bereitstellt. Wahrscheinlich hängt die unterschiedliche Response der einzelnen Gewebe auf die Intervention mit deren unterschiedlichen Funktionen zusammen.

Die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse ist schwierig, da die Veränderung der Fettsäurenverteilung in den Gewebelipiden auf:

- sowohl *t*VA als auch dessen Desaturationsprodukt *c*9,*t*11-CLA,
- ein synergistisches Agieren beider Substanzen,
- die (sich ändernde) Fettsäurenverteilung des Futters [Das Futter der Kontrollgruppe und das Futter der Zulagegruppe mit einem 0,5 % VA-Anteil wurde zur Einstellung einer isoenergetischen Diät mit Sojaöl ausgeglichen, so dass sich die Fettsäurenverteilung

lung der Futterlipide deutlich voneinander unterscheidet (mit steigender Prüfsubstanzmenge nimmt der PUFA-Anteil ab, während der TFA-Anteil steigt; Tab. A-4)] zurückzuführen sein kann.

Der Einfluss dieser Faktoren soll im Folgenden näher betrachtet werden.

- Die Fettsäurenverteilung des Fettgewebes reflektiert die Fettsäurenverteilung der Diäten (VAN STAVEREN et al. 1986). Im weißen Fettgewebe stieg der MUFA-Anteil auf Kosten der PUFA bei gleich bleibendem SFA-Anteil. In den Leberlipiden der Zulagegruppen wurde ein signifikant verminderter Anteil an PUFA festgestellt. Für das Serum und die Erythrozytenmembran ergaben sich ähnliche Tendenzen. Möglicherweise wurde die Fettsäurenverteilung der Gewebelipide vom Futterfett maßgeblich beeinflusst.
- TFA beeinflussen den Stoffwechsel von Fettsäuren (SVENSSON 1983, KOLETZKO 1992). Für *tVA* konnte gezeigt werden, dass infolge Suppression der Aktivität der Enzyme ACC und FAS eine Hemmung der SFA-Biosynthese bewirkt wurde (CLARKE et al. 1990, JAYAN & HERBEIN 2000). In der vorliegenden Studie wurde in den Leberlipiden der Zulagegruppen ein signifikant niedriger SFA-Anteil festgestellt.
- *tVA* erhöht die Aktivität der $\Delta 9$ -Desaturase (JAYAN & HERBEIN 2000). Die Stimulation der $\Delta 9$ -Desaturase führt zu einem Anstieg von einfach ungesättigten Fettsäuren wie C16:1 n7 und C18:1 n9 (NTAMBI 1995). Im vorliegenden Versuch wurde in den Lipiden der Leber ein signifikanter Anstieg der Fettsäuren C16:1 n7 und C18:1 n9 bei gleichzeitiger Senkung von C16:0 und C18:0 festgestellt. Die Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit denen von BANNI et al. (2001).
- Aus früheren Studien ist bekannt, dass TFA die Bildung der PUFA beeinflussen (KOLETZKO 1992, HØLMER et al. 1982). Nach Fütterung von hydriertem Fischöl (TFA-reich) an Ratten wurden in den Gewebelipiden ein Anstieg der MUFA- und ein Abfall der PUFA-Konzentration festgestellt (MORGADO et al. 1999). TFA besitzen das Potential die enzymatische Aktivität der $\Delta 5$ - und $\Delta 6$ -Desaturase zu hemmen (KIRSTEIN et al. 1983, DESCHRIJVER & PRIVET 1982, COOK & EMKEN 1990, SUGANO & IKEDA 1996). BRETILLON et al. (1999) konstatierten, dass in Rattenlebermikrosomen die $\Delta 6$ -Desaturase der LA durch *c9,t11*-C18:2 einschränkt wurde. Dagegen stehen die Ergebnisse von EDER et al. (2002), die keine Hemmung der $\Delta 5$ - bzw. $\Delta 6$ -Desaturase in HepG2-Zellen nachwiesen. Ferner gibt es Hinweise, dass aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit CLA mit LA um die $\Delta 6$ -Desaturase konkurrieren (HA et al. 1987). Dementsprechend vermindern CLA die Umsetzung von LA zu AA. In der vorliegenden

Studie wurde in den Behandlungsgruppen signifikant weniger LA und AA sowie signifikant mehr C20:3 n6 nachgewiesen. Der Anstieg des C20:3 n6-Gehaltes, gekoppelt mit einer deutlich ausgeprägten Senkung des AA-Gehaltes, lässt auf eine Hemmung der $\Delta 5$ -Desaturase schließen. Entsprechend den Untersuchungen von EDER et al. (2002) ist es unwahrscheinlich, dass *c9,t11*-CLA für diesen Effekt verantwortlich ist. Vielmehr scheint eine Hemmung der $\Delta 5$ -Desaturase infolge der TFA-Zufuhr als denkbar.

- CLA und TFA werden verstärkt in die Phospholipide der Zellmembranen integriert indem sie LCPUFA (z. B. LA) aus den Membranlipiden verdrängen (HØY & HØLMER 1979, LAWSON et al. 1983, SVENSSON 1983, HA et al. 1990, IP et al. 1991, BANNI et al. 1999a). Demnach könnte der in der eigenen Studie beobachtete signifikante LA-Abfall auch aus einer solchen Verdrängungsreaktion resultieren.

5.2.8 Prostanoid- und Prostaglandin-Metabolite als Biomarker der Lipidperoxidation

Fettsäuren unterliegen entweder der nicht-enzymatischen oder der enzymatischen Metabolisierung (Abb. 5-4). Welcher der beiden Metabolisierungsschritte bevorzugt stattfindet, kann anhand der jeweiligen Biomarker, 8-iso-PGF_{2α} ein Haupt-F₂-Isoprostan bzw. 15-keto-dihydro-PGF_{2α} ein Hauptmetabolit von PGF_{2α}, im Urin analytisch bestimmt werden (BASU 1998a,b).

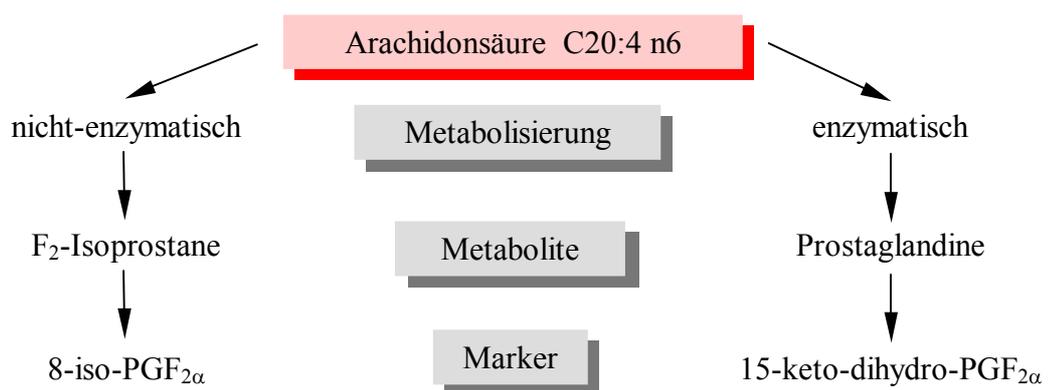


Abbildung 5-4: Enzymatische und nicht-enzymatische Fettsäureoxidation

Isoprostane, eine Familie von Prostaglandinderivaten, werden *In-vivo* aus AA durch nicht-enzymatische freie Radikal-katalysierte Oxidation gebildet (MORROW et al. 1990, MORROW & ROBERTS 1996, BASU 1998b). In verschiedenen Tiermodellen bzw. in Human-interventionsstudien konnte durch Nahrungssupplemente sowohl im Plasma als auch im Urin ein signifikanter Anstieg des 8-iso-PGF_{2α} nachgewiesen werden (BASU 1999, TURPEINEN et al. 1999, SÖDERGREN et al. 2000). Die AA-Oxidation durch COX führt zur Bildung einer Vielzahl von Prostaglandinen und Thromboxanen (SAMUELSSON et al. 1978). 15-keto-dihydro-PGF_{2α} ist ein Indikator der endogenen PGF_{2α}-Sekretion, die durch die COX-katalysierte Lipidperoxidation ausgelöst wird (BASU & KINDAHL 1987, SÖDERGREN et al. 2000).

Die VA-reichen Diäten bewirkten einen deutlichen Anstieg der renalen Ausscheidung von 8-iso-PGF_{2α} sowie 15-keto-dihydro-PGF_{2α} gegenüber den Kontrollwerten. Allerdings erwies sich bei der statistischen Prüfung der Anstieg beider Marker aufgrund der hohen individuellen Schwankungen als nicht signifikant. Es ist davon auszugehen, dass eine höhere Tieranzahl eine bessere Interpretation der Ergebnisse ermöglicht hätte. Dessen ungeachtet ist es denkbar, dass *c9,t11*-CLA und/oder deren Präkursor *tVA*, die Lipidperoxidation im Körper direkt beeinflussen. Untersuchungen an Menschen von BASU et al. (2000a,b) erbrachten den Beweis, dass CLA die freie Radikal-induzierte und COX-katalysierte AA-Oxidation modulieren und demzufolge die Isoprostan- und Prostaglandinbildung stimulieren. 53 Probanden erhielten über ein Vierteljahr täglich 4,2 g eines CLA-Präparates (*c9,t11* und *t10,c12* zu gleichen Anteilen; BASU et al. 2000a). Dabei wurden signifikante Anstiege des mit dem Urin ausgeschiedenen 15-keto-dihydro-PGF_{2α} und 8-iso-PGF_{2α} festgestellt. In einer weiteren Studie, die mit 24 adipösen Männern durchgeführt wurde, erzielten BASU et al. (2000b) bereits nach einem Monat vergleichbare Ergebnisse. Die Konzentration der Isoprostane im Urin sank bereits zwei Wochen nach Absetzen des CLA-Präparates auf das Niveau der Basiswerte. Es sollte nicht unerwähnt bleiben, dass die Plasmakonzentration an Malondialdehyd, ein weiterer Metabolit der Lipidperoxidation, sowie die Serumkonzentration an α -Tocopherol unbeeinflusst blieben (BASU et al. 2000a). Inzwischen gibt es auch Hinweise, dass aus *tVA* gebildete CLA die Konzentration an renal ausgeschiedenem 8-iso-PGF_{2α} erhöhen (TURPEINEN et al. 2002). Der Metabolit 15-keto-dihydro-PGF_{2α} wurde in dieser Studie nicht bestimmt.

Vergleicht man die relativen Anstiege von 8-iso-PGF_{2α} (21 %) und 15-keto-dihydro-PGF_{2α} (62 %) miteinander, fällt auf, dass von letzterer Substanz deutlich mehr ausgeschieden

wurde. Die gefundenen Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass im vorliegenden Versuch die enzymatische Lipidoxidation stärker beeinflusst wurde als die nicht enzymatische Lipidoxidation. Im Gegensatz dazu wurde in den oben genannten Humanstudien konstatiert, dass CLA die nicht-enzymatische Lipidperoxidation besonders fördert (BASU et al. 2000a,b). Hypothetisch lässt sich diese Diskrepanz auf folgende Ursachen zurückführen:

1. *Wirksubstanz* CLA und tVA beeinflussen die Lipidperoxidation unterschiedlich,
2. *Spezies* die Enzymexpression ist artspezifisch.

Die antikanzerogene Wirkung der CLA wird unter anderem mit deren zytotoxischen Eigenschaften begründet (JUN et al. 2000, YAMASAKI et al. 2002). In verschiedenen Studien mit Krebszelllinien wurde der zytotoxische Effekt der CLA mit einer erhöhten Lipidperoxidation in Verbindung gebracht (SCHONBERG & KROKAN 1995, O'SHEA et al. 1999, YAMASAKI et al. 2000). Dagegen stehen die Angaben von IGARASHI & MIYAZAWA (2001), die keine Beziehung zwischen Apoptose und Lipidperoxidation feststellten. Frühere Studien haben Zusammenhänge zwischen der antioxidativen Wirkung der CLA und der Krebs- (HA et al. 1990, IP et al. 1991) bzw. Arterioskleroseprävention (LEE et al. 1994) diskutiert. Neuere Studien belegen hingegen, dass die Oxidationsanfälligkeit der CLA vergleichbar bzw. höher als die von LA ist (VAN DEN BERG et al. 1995, CHEN et al. 1997, ZHANG & CHEN 1997, YANG et al. 2000).

AA ist Substrat zweier Enzyme: der COX (I und II) und der LOX. Durch die COX entstehen über die Muttersubstanz Prostaglandin H₂ die einzelnen Derivate PGE₂, F_{2α} und I₂ (abhängig vom Zell- und Signaltyp). Von den COX gehen zweierlei Wirkungen aus. COX I kommt in gesunden Geweben vor und katalysiert dort die Synthese physiologischer Prostaglandine. COX II werden in Makrophagen, Epithelzellen und Fibroblasten infolge verschiedener proinflammatorischer Stimuli (Zytokine, Wachstumsfaktoren etc.) exprimiert und führen hauptsächlich zur Bildung inflammationsfördernder Prostaglandine (MARKS & FÜRSTENBERGER 1999). Infolge oxidativen Stresses werden F₂-Isoprostane aus AA mittels einer durch freie Radikale katalysierten Peroxidation gebildet. Das konnte bisher für den Diabetes mellitus Typ 2, die Hypercholesterolemie, den Alterungsprozeß und bei erhöhter Exposition gegenüber Ozon, Tabak und Alkohol nachgewiesen werden (ROBERTS & MORROW 2000, SCHMANDKE 2000). Ausgehend von diesen Fakten könnte theoretisch unterstellt werden, dass CLA eher als Stimulus für oxidative bzw. inflammatorische Prozesse fungieren. Der Nachweis der kausalen Beziehungen bleibt nach bisherigen Kenntnisstand offen.

5.3 Versuch mit fistulierten Kühen

Die Studie an fistulierten Kühen wurde durchgeführt um den Einfluss eines CLA-Supplements auf die Fettsäurezusammensetzung und den CLA-Gehalt einschließlich der Isomerenverteilung der Milchlipide zu verifizieren. Weiterhin sollte geprüft werden, mit welcher Effizienz CLA sowie die CLA-Einzelisomeren in das Milchfett transferiert werden. Um den direkten Einfluss des Supplementes zu evaluieren wurde das CLA-Supplement postruminal am proximalen Duodenum infundiert. Kommerzielle CLA-Präparate werden vorwiegend in Form von freien Fettsäuren angeboten. Zur Untersuchung wurde deshalb ein CLA-Supplement gewählt, welches eine hohe Anzahl an Einzelisomeren aufwies, die in Form von freien Säuren vorlagen.

Die vorliegende Untersuchung hat gezeigt, dass CLA spezifisch den Milchfettgehalt verändern. Ein Einfluss auf die Milchleistung sowie auf die Milchinhaltsstoffe Protein und Laktose wurde nicht beobachtet. Diese Ergebnisse entsprechen den Angaben von LOOR & HERBEIN (1998) sowie CHOUINARD et al. (1999a,b). Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen WAGNER et al. (1998) und DRACKLEY et al. (1992), die nach Infusion von ungesättigten bzw. langkettigen Fettsäuren ebenfalls keinen Einfluss auf die Milchinhaltsstoffe, mit Ausnahme des Milchfettes, beobachteten.

Die tägliche duodenale Infusion von 200 g CLA-Präparat resultierte in einer sehr ausgeprägten Milchfettdepression (MFD). Der beobachtete hoch signifikante Abfall des Milchfettgehaltes (39 %) und der Milchfettmenge (46 %) deckt sich mit den Angaben der Literatur (LOOR & HERBEIN 1998; CHOUINARD et al. 1999a,b; HANSON et al. 2000).

Eine direkte Hemmung der Milchfettsynthese durch TFA wurde erstmals von DAVIS & BROWN (1970) beschrieben. Achtzehn Jahre später zeigte eine Untersuchung von GRINARI et al. (1998), dass *t*10-C18:1 eine MFD bewirkt. Die lineare Beziehung zwischen *t*10-C18:1 und *t*10,*c*12-CLA im Milchfett führte zur Annahme, dass *t*10,*c*12-CLA ebenfalls eine MFD induzieren kann (GRINARI et al. 1999). Diese Hypothese wurde durch die Untersuchungen von BAUMGARD et al. (2000) bestätigt. Bereits 3,5 g von *t*10,*c*12-CLA reichen aus um eine MFD von 25 % zu induzieren (BAUMGARD et al. 2002a). Steigende Dosen an *t*10,*c*12-CLA senken den Milchfettgehalt kurvilinear (BAUMGARD et al. 2001). Diese Dosis-Wirkungs-Beziehung erklärt die von CHOUINARD et al. (1999a) beobachtete höhere MFD im Vergleich zu den eigenen Ergebnissen. Der *t*10,*c*12-CLA-Anteil des infundierten Präparates dieser Studie lag etwa 15 % höher als im vorliegenden Versuch. Es besteht die Hypothese, dass auch das Isomere *t*8,*c*10-CLA eine MFD verursacht (CHOUINARD

et al. 1999b). Das in der Studie eingesetzte CLA-Isomerengemisch enthielt zu 17,4 % *t*8,*c*10-CLA. Eine MFD, ausgehend von diesem Isomeren, kann im vorliegenden Versuch nicht ausgeschlossen, aber auch nicht bewiesen werden.

CLA beeinflussen die Fettsäurezusammensetzung des Milchfettes. Das Milchfett setzt sich aus kurzkettigen, mittelkettigen und langkettigen Fettsäuren zusammen. Fettsäuren mit einer Kettenlänge bis zu 14 Kohlenstoffatomen und ein Teil der Palmitinsäure werden in den Euteralveolarzellen direkt aus Acetat und β -Hydroxybutyrat synthetisiert (*De-novo*-Synthese). Langkettige Fettsäuren werden hingegen aus langkettigen Vorstufen, die aus den Blutlipiden stammen oder durch Desaturation langkettiger Fettsäuren synthetisiert (MANSBRIDGE & BLAKE 1997). Als Folge der CLA-Infusion sank der Gehalt an kurz- und mittelkettigen Fettsäuren sowie 14:1 n9, C15:0, C16:0 und C16:1 n7. Gleichzeitig stieg der Anteil an langkettigen Fettsäuren um 23 % an. Darüber hinaus wurde eine Zunahme der Fettsäurenverhältnisse C14:0/C14:1, C16:0/C16:1 und C18:0/C18:1 beobachtet. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit der Literatur (LOOR & HERBEIN 1998; CHOUINARD et al. 1999a,b; HANSON et al. 2000). Die Ursache für die Wirkung der CLA auf die Milchfett(säuren)synthese ist vor allem in der Beeinflussung lipogener Enzyme zu suchen. Das Isomere *t*10,*c*12 hemmt die Expression und Aktivität der Enzyme ACC, FAS, LPL, FABP, GPAT und SCD (MATITASHVILI et al. 2000, BAUMGARD et al. 2002b). CLA beeinflussen die Milchfettsynthese multidimensional. Bisherige Ergebnisse zeigen, dass die aufgenommenen CLA verschiedene Enzyme des Fettstoffwechsels beeinflussen:

- *De-novo*-Synthese (ACC, FAS),
- Aufnahme langkettiger Fettsäuren aus den Blutlipiden (LPL),
- Fettsäuretransport und die Esterbildung (FABP, GPAT) sowie
- Desaturation langkettiger Fettsäuren (SCD).

Die Infusion von 200 g CLA-Präparat (120 g CLA absolut) erhöht den CLA-Gesamtgehalt des Milchfettes um das 6- bis 7-fache. Dieses Resultat entspricht den Ergebnissen der oben genannten Autoren. Ein Ziel der Studie war die Ermittlung des CLA-Isomeren-Transfers aus dem Supplement in das Milchfett. Die Ergebnisse dokumentieren, dass alle Isomeren aus dem Supplement in das Milchfett transferiert wurden, jedoch unterschiedlich effizient. Die scheinbare Transfereffizienz lag zwischen 2 % und 64 % (Tab. 5-7).

Tabelle 5-7: *Transferrate von CLA-Isomerenanteilen bzw. einzelnen CLA-Isomeren in die Milchlipide*

| CLA-Isomerenanteil bzw. CLA-Isomere | Transferrate [%] |
|-------------------------------------|-------------------|
| <i>t,t</i> -CLA | 15,4 ± 4,8 |
| <i>c/t</i> -CLA | 20,6 ± 21,2 |
| <i>c,c</i> -CLA | 21,7 ± 3,9 |
| <i>t9,t11</i> | 9,3 ± 2,6 |
| <i>t10,t12</i> | 9,1 ± 2,7 |
| 12,14 (<i>c/t</i>) | 64,0 ± 4,8 |
| <i>c9,t11</i> | 2,0 ± 1,4 |
| <i>t10,c12</i> | 14,2 ± 4,2 |
| <i>c9,c11</i> | 20,6 ± 6,0 |
| <i>c10,c12</i> | 25,5 ± 7,4 |
| Σ CLA | 18,7 ± 2,1 |

Diese ermittelten Effizienzen stimmen nur zum Teil mit der Literatur überein. Für das *c9,t11*-Isomere wurde eine Transfereffizienz von lediglich 2 % errechnet. Dieser Wert liegt deutlich unter der in der Literatur beschriebenen Transferrate. Nach den Angaben von CHOUINARD et al. (1999a,b) wurde *c9,t11* zu 33 % bzw. zu 22 % in das Milchlipid eingebaut. Die Daten zur Transfereffizienz von den Isomeren *c11,t13*, *t10,c12* und *t8,c10* stimmen hingegen mit der Literatur gut überein CHOUINARD et al. (1999a,b). Die Transfereffizienz des CLA-Gesamtgehaltes liegt unter den in der Literatur angegebenen Werten. Ein Erklärungsansatz dieser Variation könnte die Milchleistung sein. BESWICK und KENNELLY (2000) zeigten, dass die Regulation der Lipogenese vom Laktationsstadium abhängt. Aus eigenen Untersuchungen geht hervor, dass mit sinkender Milchleistung CLA in geringerem Umfang in das Milchlipid transferiert wurde (unveröffentlichte Daten). Gleiches trifft auch für die Einzelisomeren mit Ausnahme des *c9,t11*-Isomeren zu. Dieses scheint mit der Milchleistung negativ zu korrelieren. Ferner ist nicht auszuschließen, dass die Zusammensetzung der CLA-Präparate eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen. Ein Vergleich der Transfereffizienz zwischen den CLA-Anteilen zeigte, dass die *c,c*-Isomeren stärker in das Milchlipid eingebaut wurden als die Mischisomeren und *t,t*-Isomeren. Zwischen den *c,c*- und *t,t*-Isomeren bestand ein Transfereffizienzunterschied von 30 %. Die *c,c*-Isomeren scheinen von der Milchdrüse bevorzugt aufgenommen und in die Milchlipide eingebaut zu werden. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, dass die *t,t*-Isomeren verstärkt im Körper-

fett abgelagert wurden. Vergleichbare Resultate liegen auch für infundierte *cis*- und *trans*-Isomeren der Ölsäure vor (ROMO et al. 2000).

Anhand der CLA-Isomerenverteilung ist es möglich, Rückschlüsse auf das Futterregime und somit auf die Pansenfermentationsbedingungen bei den Tieren zu ziehen (KRAFT et al. 2003, PIPEROVA et al. 2002, GRINARI et al. 2000b). Bis heute sind präzise Angaben zur CLA-Isomerenverteilung im Milchfett selten (Abb. 5-5). Die Mehrheit der Literaturangaben zu den CLA-Isomeren bezieht sich auf vier Isomeren, die mittels GC-FID bestimmt wurden. Eine quantitativ differenzierte Isomerenverteilung ist erst durch die Kombination von GC-FID und Ag⁺-HPLC erreichbar (vgl. Kap. 2.5). Die für die Kontrollperiode (I) analysierten Messwerte bewegen sich in vergleichbarer Höhe zu den Literaturangaben (PIPEROVA et al. 2000, 2002). Eine Analyse zur differenzierten CLA-Isomerenverteilung nach duodenaler Infusion fehlt gänzlich in der Literatur.

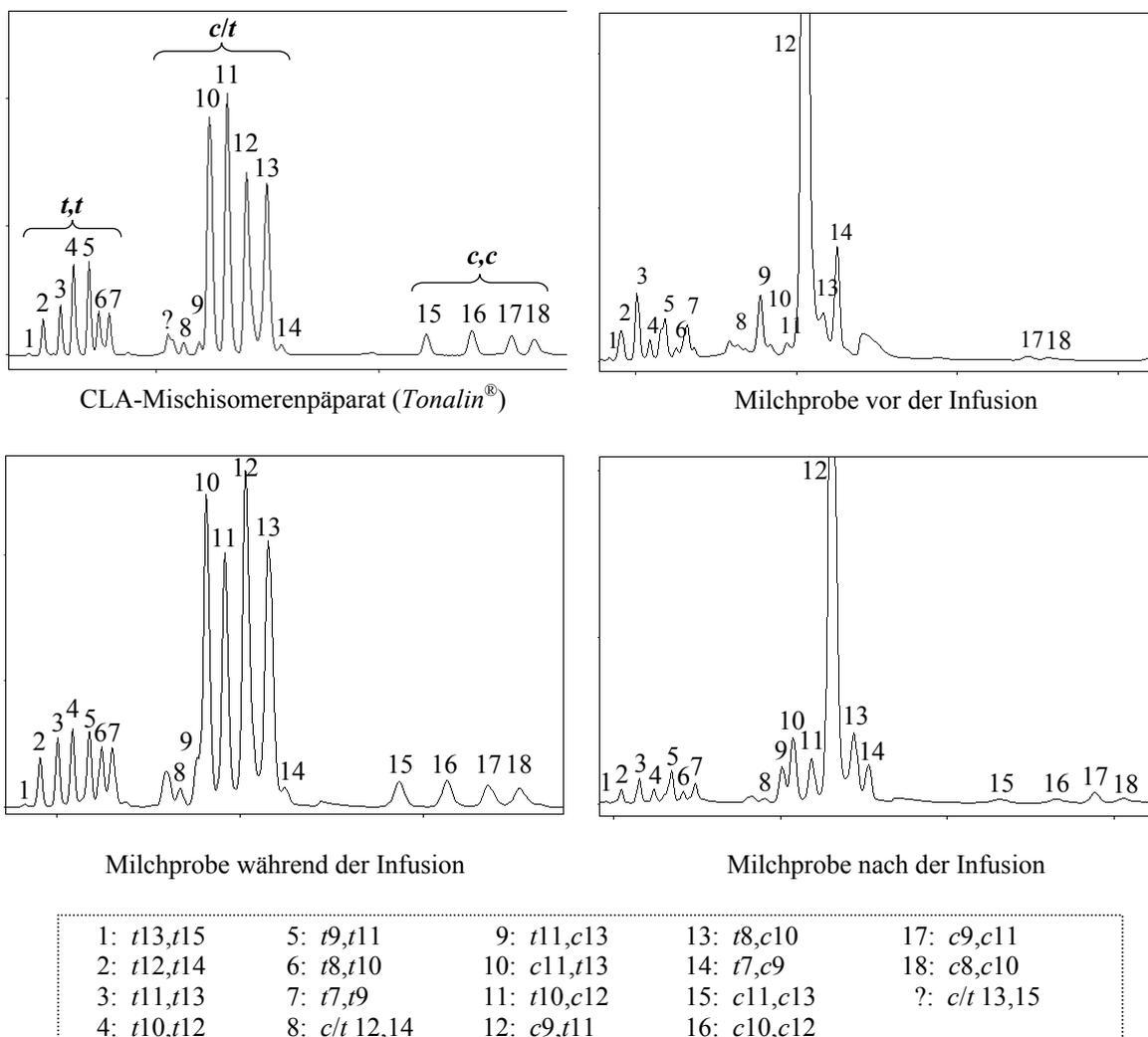


Abbildung 5-5: CLA-Isomeren-Chromatogramme von Milchproben vor, während und nach duodenaler Infusion eines CLA-Isomeregemisches

Aus dem vorliegenden Versuch geht hervor, dass der CLA-Gehalt des Milchfettes durch die Gabe von CLA deutlich erhöht werden kann - ohne die Milchleistung oder Milchhaltsstoffe wie Laktose und Eiweiß zu beeinflussen. Hierfür bieten sich pansengeschützte Präparate (z. B. Ca-Salze) an. Eine Senkung des Milchfettgehaltes wird durch das CLA-Isomere *t10,c12* und möglicherweise *t8,c10* erreicht. Kuhmilch mit einem geringen Fettgehalt ist heute bereits in einigen Ländern erwünscht (z. B. USA, Finnland). Es wäre vorstellbar, dass Milch mit einem hohen Gehalt an CLA bei gleichzeitig niedrigem Fettgehalt als "Functional Food" (Lebensmittel mit funktionellen Eigenschaften) auf dem Markt angeboten werden könnte. Dennoch sollte dies kritisch betrachtet werden. Zahlreiche Studien haben eindrucksvoll gezeigt, dass *t10,c12*-CLA massiv in den Fettstoffwechsel eingreift. Viele molekularbiologische Wirkmechanismen von *t10,c12*-CLA sind bis heute noch nicht (vollständig) aufgeklärt. Humanstudien, welche die chronische Aufnahme dieses Isomeren untersuchen, fehlen. Eine Anreicherung an *c9,t11*-CLA scheint hingegen vielmehr sinnvoll. Dieses Isomere wird als die potenteste krebshemmende Substanz des Milchfettes eingestuft (PARODI 2002, 2001). Da *c9,t11*-CLA nicht als pharmakologische Substanz einzuordnen ist, könnte eine damit angereicherte Milch als "Functional Food" einen wertvollen Beitrag in der Krebsprävention leisten.

6 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Aufgrund ihrer vielfältigen physiologischen und pharmakologischen Eigenschaften fanden die CLA im letzten Dezennium zunehmend wissenschaftliches Interesse. Untersuchungen an verschiedenen Krebsmodellen zeigen besonders eindrucksvoll, dass CLA die Karzinogenese hemmen, indem sie die Tumorinzidenz und die Metastasierung senken. Vergleicht man die CLA-Gehalte im Human- und im Tiereserum, ist es offensichtlich, dass der Gehalt im Menschen weit unter dem optimalen Level liegt um z. B. einer Krebsentstehung vorzubeugen. Die CLA-Aufnahme in Deutschland bewegt sich in Abhängigkeit von den Verzehrsgewohnheiten zwischen 300 und 500 mg pro Tag. Mit den derzeitigen Verzehrsgewohnheiten in Mitteleuropa ist es nicht möglich die CLA-Aufnahme zu erhöhen ohne die Zufuhr an Tierfetten über die Empfehlungen zu steigern. Aus diesem Grund sind Maßnahmen notwendig, die einen wesentlichen Beitrag zur Erhöhung des CLA-Körperpools beim Menschen leisten. In der vorliegenden Arbeit wurden drei verschiedene Möglichkeiten der Anreicherung von CLA untersucht. Dabei stand die Isomerenverteilung der CLA besonders im Vordergrund.

1. Humaninterventionsstudie zur Absorption eines CLA-Isomeregemisches

An der Untersuchung nahmen 8 freiwillige, gesunde, männliche Probanden teil. Die Studie wurde in eine Kontroll- und Interventionsperiode unterteilt, in der die Probanden eine standardisierte Diät über einen Zeitraum von 7 Tagen erhielten. Während der Interventionsperiode wurden zusätzlich 3 g eines CLA-Mischisomerenpräparates verzehrt. Nach einer zweitägigen Übergangsphase erfolgte über fünf Tage eine quantitative Urin- und Fäzessammlung. Am letzten Tag der jeweiligen Periode fand eine Blutabnahme statt. Der Gehalt an einzelnen Fettsäuren in den Lipiden wurde mittels GC-FID, die CLA-Isomerenverteilung unter Anwendung der Ag⁺-HPLC gemessen.

Im vorliegenden Versuch wurde kein Einfluss der CLA auf die fäkale Ausscheidung an Trockensubstanz, Fett und Stickstoff beobachtet. Infolge der CLA-Supplementation wurde eine signifikant erhöhte renale N-Ausscheidung festgestellt. Entgegen den bisher veröffentlichten Studien gibt dieses Ergebnis Anlass zur Annahme, dass CLA eine katabole Wirkung auf den Proteinstoffwechsel ausüben.

Die Supplementation von täglich 2 g CLA (absolut) führte zu einer Erhöhung des Serum-CLA-Spiegels um das Dreifache (2,8 vs. 7,7 mg/g Fett). Alle Isomeren des Präparates

wurden vergleichbar effektiv absorbiert. Bei den Probanden wurde eine positive Korrelation zwischen der CLA-Aufnahme und dem Serum-CLA-Gehalt festgestellt. Die Wiederfindungsrate von CLA im Serum - als ein Näherungswert - betrug 12 %. Entsprechend diesem Ergebnis wird angenommen, dass die supplementierten CLA bereits im Fettgewebe abgelagert oder zum Teil metabolisiert wurden. Die CLA-Zulage bewirkte eine Änderung der Fettsäurenverteilung. In den Serumlipiden wurde ein signifikanter Abfall des PUFA-Anteils und ein Anstieg des SFA-Anteils festgestellt. Die Summe der MUFA blieb unbeeinflusst. Infolge der CLA-Supplementation stieg die CLA-Konzentration in den Fäzeslipiden um das Doppelte an. Die CLA-Gehalte in den Fäzeslipiden lagen aufgrund starker individueller Schwankungen zwischen 0,4 und 2,1 mg/g Trockensubstanz bzw. zwischen 10 und 48 mg/d. Auf Grundlage dieser Ergebnisse kann postuliert werden, dass die bakterielle Genese bzw. der bakterielle Abbau der CLA zwischen den Individuen offensichtlich verschieden ist. Das auffällige, sich zu den Serumlipiden deutlich unterscheidende CLA-Isomerenmuster der Fäzeslipide spricht für eine CLA-Synthese durch die Intestinalbakterien. Es ist allerdings unwahrscheinlich, dass diese synthetisierten CLA zur Anreicherung der Gewebelipide beitragen.

Die vorliegenden Ergebnisse untermauern, dass CLA nahezu vollständig vom Intestinum absorbiert werden. Dieses Ergebnis ist insofern wichtig, als zahlreiche CLA-Supplemente auf den Markt (v. a. für Sportler) angeboten werden. Der CLA-Körperbestand kann mit Hilfe von CLA-Supplementen problemlos erhöht werden. In weiteren Studien sollte die im Versuch nachgewiesene katabole Wirkung näher untersucht und das für diesen Effekt verantwortliche Isomere identifiziert werden.

2. Studie am Tiermodell Ratte zur Anreicherung von CLA in Körperlipiden infolge Bildung aus CLA-Vorstufen

Wachsende männliche und weibliche Ratten (N = 24) wurden geschlechtsgetrennt, randomisiert in 3 Supplementationsgruppen (0 %, 0,5 % und 1 % Prüfsubstanz) aufgeteilt. Als Prüfsubstanz wurde ein kommerziell erhältliches VA-Präparat eingesetzt. Hierbei handelte es sich um ein Fettsäurengemisch, dessen Anteil an *t*VA und *c*VA 31 % bzw. 11 % der FAME betrug. Um eine isoenergetische Ration mit gleichem Fettgehalt zu erhalten wurde bei den Futtermischungen mit 0 % und 0,5 % VA-Anteil die entsprechende Differenz durch Sojaöl ausgeglichen. Nach einer Adaptationsphase (9 d) folgte eine Sammelphase, in der über 9 Tage Kot und Harn der Tiere quantitativ gesammelt wurden. Am Ende der In-

tervention wurden die Tiere getötet, Blut und verschiedene Gewebe bzw. Organe zur Analyse der Fettsäuren- und CLA-Isomerenverteilung entnommen.

Die Gehalte an *t*VA und *c*VA waren im Rattenkörper sowie in den verschiedenen Geweben und Organen der Zulagegruppen signifikant höher als bei den Kontrolltieren. Der CLA-Gesamtgehalt stieg gewebespezifisch in Abhängigkeit von der Dosis um das 7- bis 14-fache bzw. um das 13- bis 27-fache an. Die Erythrozytenmembran erwies sich als geeigneter Indikator für die Umwandlung von *t*VA in CLA. Die VA-Zulage führte zur Verschiebung der Isomerenanteile zugunsten des *c*₉,*t*₁₁-Isomeres. Der Anstieg der absoluten Menge der einzelnen Isomeren resultiert offenbar aus intramolekularen Isomerisierungsreaktionen. In allen Geweben bzw. Organen, mit Ausnahme des Gehirns, wurde eine Konversion von *t*VA in *c*₉,*t*₁₁-CLA nachgewiesen. Die Berechnung der Desaturaseaktivität ergab, dass vor allem im Fettgewebe und in den Ovarien der Ratte die Desaturation stattfand. Dieses Ergebnis untermauert die gewebespezifische Expression der Δ 9-Desaturase. *t*VA wurde als geeigneter Präkursor für *c*₉,*t*₁₁-CLA bestätigt. Im Gegensatz dazu sprechen die vorliegenden Ergebnisse dafür, dass *c*₉,*c*₁₁-CLA nicht direkt aus *c*VA gebildet wird. In den Fäzeslipiden wurde ein hoher CLA-Gehalt festgestellt, der mit sinkendem Sojaölanteil im Futter abnahm. Die im Sojaöl enthaltene LA wurde gegebenenfalls im Darm der Ratten zu CLA isomerisiert. Das CLA-Isomerenmuster der Fäzeslipide (hoher Anteil an *t,t*-, *c/t*- und *c,c*-10,12) unterschied sich deutlich von dem der Gewebelipide, das wahrscheinlich aus der Bakterientätigkeit resultiert. Es ist anzunehmen, dass die im Darm gebildeten CLA keinen Beitrag zur Anreicherung des CLA-Körperpools leisten. Die Ergebnisse aus der Studie zeigen eindrucksvoll, dass CLA endogen konzentrationsabhängig aus *t*VA gebildet werden können. Folglich leistet *t*VA einen wesentlichen Beitrag zur CLA-Anreicherung der Körperlipide. Die Ergebnisse sind nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar; zumindest ist aber eine Abschätzung auf der Grundlage der ermittelten Werte möglich. Die endogene Synthese von CLA aus *t*VA sollte vor allem bei der Schätzung der CLA-Versorgung berücksichtigt werden. Die Aufnahme von *t*VA beträgt etwa 1 g pro Tag und Person, wobei Milch und Milchprodukte die wichtigsten Quellen sind. Die Fütterung von *t*VA an Nutztiere - sowohl an Wiederkäuer als auch an Monogastriden - kann die CLA-Gehalte von Milch und auch Fleisch zusätzlich erhöhen. Diese Variante hätte gegenüber der Supplementation der Nahrung mit CLA den Vorteil, dass sich dadurch hauptsächlich das *c*₉,*t*₁₁-CLA-Isomere anreichert.

3. Studie zur Anreicherung von CLA in Milchlipiden durch duodenale Infusion von CLA-Isomeren

Der Versuch wurde mit vier fistulierten Kühen durchgeführt. Nach einer fünftägigen Kontrollperiode wurden 200 g/d eines CLA-Präparates in das proximale Duodenum über einen Zeitraum von fünf Tagen infundiert, wodurch die Pansenfermentation umgangen wurde. Daran schloss sich eine weitere Kontrollperiode an. Milch wurde täglich gesammelt und hinsichtlich Milchinhaltsstoffe, Fettsäurenmuster und CLA-Isomerenverteilung untersucht. Infolge der CLA-Infusion fiel der Milchfettgehalt innerhalb von 4 Tagen von 5 % auf 2,5 % ab. In der Nachperiode normalisierte sich der Fettgehalt nur langsam. Dieses Ergebnis untermauert die massive Hemmung der Milchfettsynthese durch CLA, die speziell auf das Isomere *t*10,*c*12 zurückgeführt wird. Die Infusion bewirkte eine Veränderung der Fettsäurenverteilung der Milchlipide. Der Gehalt an SCFA und MCFA wurde vermindert (Synthesehemmung), während der Gehalt an LCFA stieg. Der CLA-Gehalt der Milchlipide erhöhte sich während der Infusionsperiode im Mittel um das 7-fache (5,8 vs. 42,4 mg/g Fett). Die einzelnen Isomeren wurden alle - unterschiedlich effizient - in die Milchlipide inkorporiert. Offensichtlich werden die *c,c*-Isomeren im Vergleich zu den *t,t*-Isomeren bevorzugt von der Milchdrüse aufgenommen und in die Milchlipide eingebaut.

Die Anreicherung des Milchviehfutters ist folglich mit Pansen-geschützten CLA-Präparaten eine effiziente Möglichkeit, den CLA-Gehalt des Milchfettes deutlich zu erhöhen. Aufgrund der positiven Eigenschaften der CLA könnten CLA-reiche Milch- und Milchprodukte einen wertvollen Beitrag in der Gesundheitsprävention leisten. Mit der Idee diese "naturähnlichen" Produkte auf der Basis von wissenschaftlichen Erkenntnissen als "Functional Food" zu vermarkten, besteht die Chance, dass CLA zu einer gesünderen Ernährungsweise und zur Prävention von ernährungsbedingten Krankheiten beitragen könnten.

7 QUELLENVERZEICHNIS

- ADLOF RO: Analysis of fatty acid mono- and diacylglycerol positional isomers by silver ion high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 741: 135-138, 1996.
- ADLOF RO: Normal-phase separation effects with lipids on a silver ion high performance liquid chromatography column. *J Chromatogr A* 764: 337-340, 1997.
- ADLOF RO, Duval S, Emken EA: Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans. *Lipids* 35: 131-135, 2000.
- ALASNIER C, Berdeaux O, Chardigny JM, Sebedio JL: Fatty acid composition and conjugated linoleic acid content of different tissues in rats fed individual conjugated linoleic acid isomers given as triacylglycerols. *J Nutr Biochem* 13: 337-345, 2002.
- ANDERSON RL, Fullmer CS, Hollenbach EJ: Effects of the *trans* isomers of linoleic acid on the metabolism of linoleic acid in rats. *J Nutr* 105: 393-400, 1975.
- ARAB L: Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr* 133: 925S-932S, 2003.
- ARO A, Mannisto S, Salminen I, Ovaskainen ML, Kataja V, Uusitupa M: Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr Cancer* 38: 151-157, 2000.
- AYDIN R, Pariza MW, Cook ME: Olive oil prevents the adverse effects of dietary conjugated linoleic acid on chick hatchability and egg quality. *J Nutr* 131: 800-806, 2001.
- AZAIN MJ, Hausman DB, Sisk MB, Flatt WP, Jewell DE: Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. *J Nutr* 130: 1548-1554, 2000.
- BANNI S, Carta G, Contini MS, Angioni E, Deiana M, Dessi MA, Melis MP, Corongiu FP: Characterization of conjugated diene fatty acids in milk, dairy products, and lamb tissues. *J Nutr Biochem* 7: 150-155, 1996.
- BANNI S, Martin JC: Conjugated linoleic acid and metabolism. In: *Trans fatty acids in human nutrition*. (Sebedio JL and Christie WW ed.) 261-302. Oily Press, Dundee, 1998.
- BANNI S, Angioni E, Casu V, Melis MP, Carta G, Corongiu FP, Thompson H, Ip C: Decrease in linoleic acid metabolites as a potential mechanism in cancer risk reduction by conjugated linoleic acid. *Carinogenesis* 20: 1019-1024, 1999a.
- BANNI S, Angioni E, Carta G, Casu V, Deiana M, Dessi MA, Lucchi L, Melis MP, Rosa A, Vargiolu S, Corongiu FP: Influence of dietary conjugated linoleic acid on lipid metabolism in relation to its anticarcinogenic activity. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds.). Champaign, IL, AOCS Press. pp. 307-318, 1999b.
- BANNI S, Angioni E, Murru E, Carta G, Melis MP, Bauman D, Dong Y, Ip C: Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and suppresses development of premalignant lesions in rat mammary gland. *Nutr Cancer* 41: 91-97, 2001.
- BARTSCH H, Nair J, Owen RW: Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. *Carcinogenesis* 20: 2209-2218, 1999.

- BASU S, Kindahl H: Prostaglandin biosynthesis and its regulation in the bovine endometrium: A comparison between nonpregnant and pregnant status. *J Vet Med* 34: 487-500, 1987.
- BASU S: Radioimmunoassay of 8-iso-prostaglandin F2 α : an index for oxidative injury via free radical catalysed lipid peroxidation. *Prostag Leukotr Ess* 58: 319-325, 1998a.
- BASU S: Radioimmunoassay of 15keto-dihydro-prostaglandin F2 α : an index for inflammation via cyclooxygenase catalysed lipid peroxidation. *Prostag Leukotr Ess* 58: 347-352, 1998b.
- BASU S: Oxidative injury induced cyclooxygenase activation in experimental hepatotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 254: 764-767, 1999.
- BASU S, Smedman A, Vessby B: Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans. *FEBS Lett* 468: 33-36, 2000a.
- BASU S, Riserus U, Turpeinen A, Vessby B: Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in men with abdominal obesity. *Clin Sci* 99: 511-516, 2000b.
- BATES CJ, Thurman DI, Bingham SA, Margetts BM, Nelson M: Biochemical markers of nutrient intake. In: Design Concepts in Nutritional Epidemiology. Margetts BM, Nelson M (eds.). Oxford University Press, Oxford, 170-240, 1997.
- BATTA AK, Salen G, Batta P, Tint GS, Alberts DS, Earnest DL: Simultaneous quantitation of fatty acids, sterols and bile acids in human stool by capillary gas-liquid chromatography. *J Chrom B* 775: 153-161, 2002.
- BAUMGARD LH, Corl BA, Dwyer DA, Saebø A, Bauman DE: Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 278: R179-R184, 2000.
- BAUMGARD LH, Sangster JK, Bauman DE: Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J Nutr* 131: 1764-1769, 2001.
- BAUMGARD LH, Corl BA, Dwyer DA, Bauman DE: Effects of conjugated linoleic acids (CLA) on tissue response to homeostatic signals and plasma variables associated with lipid metabolism in lactating dairy cows. *J Anim Sci* 80: 1285-1293, 2002a.
- BAUMGARD LH, Matitashvili E, Corl BA, Dwyer DA, Bauman DE: *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *J Dairy Sci* 85: 2155-2163, 2002b.
- BELURY MA: Conjugated dienoic linoleate: a polyunsaturated fatty acid with unique chemoprotective properties. *Nutr Rev* 53: 83-89, 1995.
- BELURY MA, Kempa-Steczko A: Conjugated linoleic acid modulates hepatic lipid composition in mice. *Lipids* 32: 199-204, 1997.
- BELURY MA, Moya-Camarena SY, Liu KL, Heuvel JPV: Dietary conjugated linoleic acid induces peroxisome-specific enzyme accumulation and ornithine decarboxylase activity in mouse liver. *J Nutr Biochem* 8: 579-584, 1997.
- BELURY MA, Moya-Camarena SY, Lu M, Shi L, Leesnitzer LM, Blanchard SG: Conjugated linoleic acid is an activator and ligand for peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR γ). *Nutr Res* 22: 817-824, 2002.
-

- BENITO P, Nelson GJ, Kelley DS, Bartolini G, Schmidt PC, Simon V: The effect of conjugated linoleic acid on platelet function, platelet fatty acid composition, and blood coagulation in humans. *Lipids* 36: 221-227, 2001a.
- BENITO P, Nelson GJ, Kelley DS, Bartolini G, Schmidt PC, Simon V: The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. *Lipids* 36: 229-236, 2001b.
- BERDEAUX O, Voinot L, Angioni E, Juaneda P, Sebedio JL: A simple method of preparation of methyl *trans*-10,*cis*-12- and *cis*-9,*trans*-11-octadecadienoates from methyl linoleate. *J Am Oil Chem Soc* 75: 1749-1755, 1998.
- BERVEN G, Bye A, Hals O, Blankson H, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O: Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or obese human volunteers. *Eur J Lipid Sci Technol* 102: 455-462, 2000.
- BESWICK NS, Kennelly JJ: Role of stage of lactation in the regulation of fatty acid synthesis in the dairy cow. *J Dairy Sci* 83 (Suppl. 1): 169, 2000.
- BLANKSON H, Stakkestad JA, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O: Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J Nutr* 130: 2943-2948, 2000.
- BOOTH RG, Kon SK, Dann WJ, Moore T: A study of seasonal variation in butter fat: A seasonal spectroscopic variation in the fatty acid fraction. *Biochem J* 29: 133-137, 1935.
- BRAISSANT O, Foufelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W: Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors: tissue distribution of PPAR α , β and γ in the adult rat. *Endocrinology* 137: 354-366, 1995.
- BRAY GA, Lovejoy JC, Smith SR, DeLany JP, Lefevre M, Hwang D, Ryan DH, York DA: The influence of different fats and fatty acids on obesity, insulin resistance and inflammation. *J Nutr* 132: 2488-2491, 2002.
- BRENNER RR: The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals. *Mol Cell Biochem* 3: 41-52, 1974.
- BRETILLON L, Chardigny JM, Gregoire S, Berdeaux O, Sebedio JL: Effects of conjugated linoleic acid isomers on the hepatic microsomal desaturation activities in vitro. *Lipids* 34: 965-969, 1999.
- BRETT DD, Howling LJ, Morris LJ, James AT: Specificity of the fatty acid desaturases. *Arch Biochem Biophys* 143: 535, 1971.
- BRITTON M, Fong C, Wickens D, Yudkin J: Diet as a source of phospholipid esterified 9,11-octadecadienoic acid in humans. *Clin Sci* 83: 97-101, 1992.
- BROADWATER JA, Laundre BJ, Fox BG: Desaturation of *trans*-octadecenoyl-acyl carrier protein by stearoyl-acyl-carrier protein Δ^9 desaturase. *J Inorg Biochem* 78: 7-14, 2000.
- BRODIE AE, Manning VA, Ferguson KR, Jewell DE, Hu CY: Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and post-confluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in preconfluent cells. *J Nutr* 129: 602-606, 1999.
- BROWN JM, Halvorsen YD, Lea-Currie YR, Geigerman C, McIntosh M: Human preadipocyte differentiation is influenced by seeding density, thiazolidinediones, and conjugated linoleic acid. *FASEB J* 15: A996 (abstr.), 2001a.
-

- BROWN JM, Halvorsen YD, Lea-Currie YR, Geigerman C, McIntosh M: *Trans*-10, *cis*-12, but not *cis*-9, *trans*-11, conjugated linoleic acid attenuates lipogenesis in primary cultures of stromal vascular cells from human adipose tissue. *J Nutr* 131: 2316-2321, 2001b.
- BROWN JM, Fabiyi O, Lea-Currie YR, Storkson JM, Pariza MW, McIntosh MK: *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases triglyceride content by altering lipid metabolism, but not ppar γ or c/ebp α expression, in primary cultures of human (pre)adipocytes. *FASEB J* 16: 1015, 2002.
- CAMERON PJ, Rogers M, Oman J, May SG, Lunt DK, Smith SB: Stearoyl coenzyme A desaturase enzyme activity and mRNA level are not different in subcutaneous adipose tissue from Angus and American Wagyu steers. *J Anim Sci* 72: 2624-2628, 1994.
- CAREY MC, Small DM, Bliss CM: Lipid digestion and absorption. *Annu Rev Physiol* 45: 651-677, 1983.
- CAWOOD P, Wickens DG, Inverson SA, Braganza JM, Dormandy TL: The nature of diene conjugation in human serum, bile and duodenal juice. *FEBS Lett* 162: 239-243, 1983.
- CHANG HC, Janke J, Pusch F, Holman RT: Effect of double and triple bonds in fatty acid inhibitors upon desaturation of stearic acid by rat liver microsomes. *Biochim Biophys Acta* 306: 21-25, 1973.
- CHEN ZY, Chan PT, Kwan KY, Zhang A: Reassessment of the antioxidant activity of conjugated linoleic acids. *J Am Oil Chem Soc* 74: 749-753, 1997.
- CHIN SF, Liu W, Storkson JM, Ha YL, Pariza MW: Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J Food Comp Anal* 5: 185-197, 1992.
- CHIN SF, Yang X, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Pariza MW: The synthesis of CLA (conjugated dienoic isomers of linoleic acid) by intestinal microorganisms. *FASEB J* 7: A169 (abstr.), 1993.
- CHIN SF, Storkson JM, Liu W, Albright KJ, Pariza MW: Conjugated linoleic acid (9,11- and 10,12-octadecadienoic acid) is produced in conventional but not germ-free rats fed linoleic acid. *J Nutr* 124: 694-701, 1994.
- CHOI YJ, Kim YC, Han YB, Park Y, Pariza MW, Ntambi JM: The *trans*-10,*cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid downregulates stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr* 130: 1920-1924, 2000.
- CHOI YJ, Park Y, Pariza MW, Ntambi JM: Regulation of stearoyl-CoA desaturase activity by the *trans*-10,*cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid in HepG2 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 284: 689-693, 2001.
- CHOUINARD PY, Corneau L, Barbano DM, Metzger LE, Bauman DE: Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J Nutr* 129: 1579-1584, 1999a.
- CHOUINARD PY, Corneau L, Saebø A, Bauman DE: Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. *J Dairy Sci* 82: 2737-2745, 1999b.
- CHRISTIE WW: A stable silver-loaded column for the separation of lipids by high performance liquid chromatography. *J High Resol Chromatogr* 10: 148-150, 1987.
-

- CHRISTIE WW: Silver-ion high-performance liquid chromatography: the mechanism. *Lipid Technol* 10: 17-19, 1998.
- CHRISTIE, WW: A practical guide to the analysis of conjugated linoleic acid. *Inform* 12: 147-152, 2001.
- CLARKE SD, Armstrong MK, Jump DB: Nutritional control of rat liver FAS and S14mRNA abundance. *J Nutr* 120: 2118-2124, 1990.
- CONSIDINE RV, Shinha MK, Heiman ML: Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N Engl J Med* 334: 292-295, 1996.
- COOK H, Emken EA: Geometric and positional fatty acid isomers interact differently with Desaturation and elongation of linoleic and linolenic acids in cultured glioma cell. *Biochem Cell Biol* 68: 653-660, 1990.
- COOK ME, Miller CC, Park Y, Pariza M: Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. *Poult Sci* 72: 1301-1305, 1993.
- CORL BA, Baumgard LH, Dwyer DA, Griinari JM, Phillips BS, Bauman DE: The role of Delta(9)-desaturase in the production of *cis*-9, *trans*-11 CLA. *J Nutr Biochem* 12: 622-630, 2001.
- CORL BA, Baumgard LH, Griinari JM, Delmonte P, Morehouse KM, Yurawecz MP, Bauman DE: *Trans*-7,*cis*-9 CLA is synthesized endogenously by delta(9)-desaturase in dairy cows. *Lipids* 37: 681-688, 2002.
- DAVIS CL, Brown RE: Low-fat syndrome. In: Phillipson AT (Ed.), *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, UK, 545-565, 1970.
- DAVIS AL, McNeill GP, Caswell DC: Analysis of conjugated linoleic acid isomers by C-13 NMR spectroscopy. *Chem Phys Lipids* 97: 155-165, 1999.
- DELANY JP, Blohm F, Truett AA, Scimeca JA, West DB: Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Comp Physiol* 45: R1172-R1179, 1999.
- DESCHRIJVER R, Privett OS: Interrelationship between Dietary *trans* fatty acids and the 6- and 9-desaturases in the rat. *Lipids* 17: 27-34, 1982.
- DGE, Deutsche Gesellschaft für Ernährung: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. 1. Aufl., Umschau Braus GmbH Verlagsgesellschaft, Frankfurt am Main, 1991.
- DGF, Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft: 7th Proficiency test, Final report, 2001.
- DIONISI F, Golay PA, Elli M, Fay LB: Stability of cyclopropane and conjugated linoleic acids during fatty acid quantification in lactic acid bacteria. *Lipids* 34: 1107-1115, 1999.
- DOBSON G: Identification of conjugated fatty acids by gas chromatography-mass spectrometry of 4-methyl-1,2,4-triazoline-3,5-dione-adducts. *J Am Oil Chem Soc* 75: 137-142, 1998.
- DRACKLEY JK, Klusmeyer TH, Trusk AM, Clark JH: Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 75: 1517-1526, 1992.
-

- DU M, Ahn DU, Nam KC, Sell JL: Volatile profiles and lipid oxidation of irradiated cooked chicken meat from laying hens fed diets containing conjugated linoleic acid. *Poultry Sci* 80: 235-241, 2001.
- DUGAN MER, Aalhus JL, Schaefer AL, Kramer JKG: The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. *Can J Anim Sci* 77: 723-725, 1997.
- EDER K, Slomma N, Becker K: *Trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid suppresses the desaturation of linoleic and alpha-linolenic acids in HepG2 cells. *J Nutr* 132: 1115-1121, 2002.
- EDIONWE AO, Kies C: Comparison of palm and mixtures of refined palm and soybean oils on serum lipids and fecal fat and fatty acid excretions of adult humans. *Plant Foods Human Nutr* 56: 157-165, 2001.
- EMKEN EA, Rohwedder WK, Adlof RO, DeJarlais WJ, Gulley RM: Absorption and distribution of deuterium-labeled *trans*- and *cis*-octadecadienoic acid in human plasma and lipoprotein lipids. *Lipids* 21: 589-595, 1986.
- ENOCH HG, Catala A, Strittmatter P: Mechanism of rat liver microsomal stearyl-CoA desaturase. *J Biol Chem* 251: 5095-5103, 1976.
- ENS JG, Ma DWL, Cole KS, Field CJ, Clandinin MT: An assessment of *c9,t11* linoleic acid intake in a small group of young Canadians. *Nutr Res* 21: 955-960, 2001.
- EULITZ K, Yurawecz MP, Sehat N, Fritsche J, Roach JAG, Mossoba MM, Kramer JKG, Adlof RO, Ku Y: Preparation, separation, and confirmation of the eight geometrical *cis/trans* conjugated linoleic acid isomers 8,10-through 11,13-18:2. *Lipids* 34: 873-877, 1999.
- EVANS M, Geigerman C, Cook J, Curtis L, Kuebler B, McIntosh M: Conjugated linoleic acid suppresses triglyceride accumulation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. *Lipids* 35: 899-910, 2000.
- EVANS M, Park Y, Pariza M, Curtis L, Kuebler B, McIntosh M: *trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid reduces triglyceride content while differentially affecting peroxisome proliferator activated receptor 2 and aP2 expression in 3T3-L1 preadipocytes. *Lipids* 36: 1223-1232, 2001.
- EVANS ME, Brown JM, McIntosh MK: Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J Nutr Biochem* 13: 508-516, 2002.
- EYSSEN H, Verhulst A: Biotransformation linoleic acid and bile acids by *Eubacterium lentum*. *Appl Environ Microbiol* 47: 39-43, 1984.
- FIELD CJ, Clandinin MT: Modulation of adipose tissue fat composition by diet: a review. *Nutr Res* 4: 743-755, 1984.
- FOLCH J, Lees M, Sloane Stanley GH: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509, 1957.
- FORGERTY AC, Ford GL, Svoronos D: Octadeca-9,11-dienoic acid in foodstuffs and in the lipids of human blood and breast milk. *Nutr Rep Int* 38: 937-944, 1988.
- FREMANN D, Linseisen J, Wolfram G: Dietary conjugated linoleic acid (CLA) intake assessment and possible biomarkers of CLA intake in young women. *Public Health Nutr* 5: 73-80, 2002.
-

- FRITSCHKE J, Steinhart H: Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Z Lebensm Unters Forsch A* 2065: 77-82, 1998.
- FRITSCHKE J, Fritsche S, Solomon MB, Mossoba MM, Yurawecz MP, Morehouse K, Ku Y: Quantitative determination of conjugated linoleic acid isomers in beef fat. *Eur J Lipid Sci Technol* 102: 667-672, 2000.
- FRITSCHKE J, Yurawecz MP, Pawlosky R, Flanagan VP, Steinhart H, Ku Y: Spectroscopic characterization of unusual conjugated linoleic acid (CLA) isomers. *J Sep Sci* 24: 59-61, 2001.
- FUJIMOTO K, Kimoto H, Shishikura M, Endo Y, Ogimoto K: Biohydrogenation of linoleic acid by anaerobic bacteria isolated from rumen. *Biosci Biotechnol Biochem* 57: 1026-1027, 1993.
- FUKUDA S, Ninomiya N, Asanuma N, Hino T: Production of conjugated linoleic acid by intestinal bacteria in dogs and cats. *J Vet Med Sci* 64: 987-992, 2002.
- GATLIN LA, See MT, Larick DK, Lin X, Odle J: Conjugated linoleic acid in combination with supplemental dietary fat alters pork fat quality. *J Nutr* 132: 3105-3112, 2002.
- GLÄSER KR, Scheeder MRL, Wenk C: Dietary C18:1 *trans* fatty acids increase conjugated linoleic acid in adipose tissue of pigs. *Eur J Lipid Sci Technol* 102: 684-686, 2000.
- GRIINARI JM, Dwyer DA, McGuire MA, Bauman DE, Palmquist DL, Nurmela KVV: *Trans*-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 81: 1251-1261, 1998.
- GRIINARI JM, Bauman DE: Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds.). Champaign, IL, AOCS Press. Pp. 180-200, 1999.
- GRIINARI JM, Nurmela KVV, Dwyer DA, Barbano DM, Bauman DE: Variation of milk fat concentration of conjugated linoleic acid and milk fat percentage is associated with a change in ruminal biohydrogenation. *J Anim Sci* 77 (Suppl. 1), 117-118, 1999.
- GRIINARI JM, Cori BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KVV, Bauman DE: Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase. *J Nutr* 130: 2285-2291, 2000a.
- GRIINARI JM, Bauman DE, Chilliard Y, Peräjoki P, Nurmela KVV: Dietary influences on conjugated linoleic acids (CLA) in bovine milk fat. 3rd meeting of the European section of AOCS: Oils, fats, from basic research to industrial applications. 18-21 June, Helsinki, 2000b.
- GRIMM M: Einfluss einer exzessiven Phosphatzufuhr beim Menschen auf Knochenmarker und Endokrinum sowie antigenotoxische Effekte. *Dissertation*, Universität Jena, 2000.
- HA YL, Grimm NK, Pariza MW: Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8: 1881-1887, 1987.
- HA YL, Storkson J, Pariza MW: Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res* 50: 1097-1101, 1990.

- HANSON TW, Giesy JG, McGuire MA, Annen EL, Bauman DE, Saebø, McGuire MK: Conjugated linoleic acids as free fatty acids or triglycerides cause milk fat depression. *J Dairy Sci* 83 (Suppl. 1): 163, 2000.
- HARFOOT CG, Hazelwood GP: Lipid metabolism in the rumen. In: The rumen microbial ecosystem. Hobson PN (ed.). Elsevier Science Publishers, London. Pp. 285-322, 1988.
- HARRISON K, Cawood P, Inverson SA, Dormandy TL: Diene conjugation pattern in normal serum. *Life Chem Rep* 3: 41-44, 1985.
- HAUNER H, Petruschke T, Russ M, Rohrig K, Eckel J: Effects of tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cell culture. *Diabetologia* 38: 764-771, 1995.
- HEALTH CANADA. National nutritious food basket. No H 39 - 456/1998E Ottawa: Tunney's Pasture, 1998.
- HERBEL BK, McGuire MK, McGuire MA, Shultz TD: Safflower oil consumption does not increase plasma conjugated linoleic acid concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 67: 332-337, 1998.
- HOLLOWAY PW, Wakil SJ: Synthesis of fatty acids in animal tissues II. The occurrence and biosynthesis of *cis*-vaccenic acid. *J Biol Chem* 239: 2489-2495, 1964.
- HOLMAN RT, Mahfouz MM: *Cis* and *trans*-octadecenoic acids as precursors of polyunsaturated acids. *Prog Lipid Res* 20: 151-156, 1981.
- HØLMER G, Høy CE, Kirstein D: Influence of partially hydrogenated vegetable and marine oils on lipid metabolism in rat liver and heart. *Lipids* 17: 585-593, 1982.
- HØY CE, Hølmer G: Incorporation of *cis*- and *trans*-octadecenoic acids in the membranes of rat liver mitochondria. *Lipids* 14: 727-733, 1979.
- HOTAMISLIGIL GS, Shargill NS, Spiegelmann BM: Adipose expression of tumor necrosis factor alpha: direct role of obesity-linked insulin resistance. *Science* 259: 87-91, 1993.
- HOUSEKNECHT KL, Vanden Heuvel JP, Moya-Camarena SY, Portocarrero CP, Peck LW, Nickel KP, Belury MA: Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem Biophys Res Commun* 244: 678-682, 1998.
- HUANG YC, Luedecke LO, Shultz TD: Effect of cheddar cheese consumption on the plasma conjugated linoleic acid concentration in men. *Nutr Res* 14: 373-386, 1994.
- IGARASHI M, Miyazawa T: The growth inhibitory effect of conjugated linoleic acid on a human hepatoma cell line, HepG2, is induced by a change in fatty acid metabolism, but not the facilitation of lipid peroxidation in the cells. *Biochim Biophys Acta-Mol Cell Biol Lipids* 1530: 162-171, 2001.
- IP C, Chin SF, Scimeca JA, Pariza MW: Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res* 51: 6118-6124, 1991.
- IP C, Briggs SP, Haegele AD, Thompson HJ, Storkson J, Scimeca JA: The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis* 17: 1045-1050, 1996.
-

- IP C, Jiang C, Thompson HJ, Scimeca JA: Retention of conjugated linoleic acid in the mammary gland is associated with tumor inhibition during the post-initiation phase of carcinogenesis. *Carcinogenesis* 18: 755-759, 1997.
- IP C, Banni S, Angioni E, Carta G, McGinley J, Thompson HJ, Barbano D, Bauman D: Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J Nutr* 129: 2135-2142, 1999.
- ISSEMANN I, Green S: Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347: 645-650, 1990.
- IVERSEN SA, Cawood P, Madigan J, Lawson AM, Dormandy TL: Identification of a diene conjugated component of human lipid as octadeca-9,11-dienoic acid. *FEBS Lett* 171: 320-324, 1984.
- IVERSEN SA, Cawood P, Dormandy TL: A method for the measurement of a diene-conjugated derivative of linoleic acid, 18:2(9,11), in serum phospholipid, and possible origins. *Ann Clin Biochem* 22: 137-140, 1985.
- JAHREIS G, Fritsche J, Steinhart H: Conjugated linoleic acid in milk fat - high variation depending on production system. *Nutr Res* 17: 1479-1484, 1997.
- JAHREIS G: Krebshemmende Fettsäuren in Milch und Rindfleisch. *Ernährungs-Umschau* 44: 168-172, 1997.
- JAHREIS G, Fritsche J, Schöne F, Steinhart H: CLA in milk of different species. CLA What's going on?, No 1, p. 4, 1998.
- JAHREIS G, Fritsche J, Möckel P, Schöne F, Möller U, Steinhart H: The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, *cis*-9,*trans*-11 C18: 2, in milk of different species: Cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutr Res* 19: 1541-1549, 1999.
- JAHREIS G, Kraft J, Tischendorf F, Schöne F, von Loeffelholz C: Conjugated linoleic acids: Physiological effects in animal and man with special regard to body composition. *Eur J Lipid Sci Technol* 102: 695-703, 2000.
- JAHREIS G, Kraft J: Sources of conjugated linoleic acid in the human diet. *Lipid Technol*: 29-31, 2002.
- JAYAN GC, Herbein JH: "Healthier" dairy fat using *trans*-vaccenic acid. *Nutr Food Sci* 30: 304-309, 2000.
- JEFFCOAT R, James AT: Interrelationship between the dietary regulation of fatty acid synthesis and the fatty acyl-CoA desaturases. *Lipids* 12: 469-473, 1977.
- JIANG J, Wolk A, Vessby, B: Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue. *Am J Clin Nutr* 70: 21-27, 1999.
- JØRGENSEN H, Gabert VM, Hedemann MS, Jensen SK: Digestion of fat does not differ in growing pigs fed diets containing fish oil, rapeseed oil or coconut oil. *J Nutr* 130: 852-857, 2000.
- JUN WJ, Yang HC, Cho BHS: Comparison of conjugated linoleic acid and linoleic acid on cytotoxicity, synthesis, and secretion of lipids in HepG2 cells. *In Vitro Mol Toxicol* 13: 181-189, 2000.
- KAMLAGE B, Hartmann L, Gruhl B, Blaut M: Linoleic acid conjugation by human intestinal microorganisms is inhibited by glucose and other substrates *in vitro* and in gnotobiotic rats. *J Nutr* 130: 2036-2039, 2000.
-

- KAMPHUIS MMJW, Lejeune MPGM, Saris WHM, Westerterp-Plantenga MA: The effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on body weight regain, body composition, and resting metabolic rate in overweight subjects. *Int J Obes*: 27: 840-847, 2003.
- KAVANAUGH CJ, Liu KL, Belury MA: Effect of dietary conjugated linoleic acid on phorbol ester-induced PGE(2) production and hyperplasia in mouse epidermis. *Nutr Cancer* 33: 132-138, 1999.
- KELLEY DS, Warren JM, Simon VA, Bartolini G, Mackey BE, Erickson KL: Similar effects of *c9,t11*-CLA and *t10,c12*-CLA on immune cell functions in mice. *Lipids* 37: 725-728, 2002.
- KELSEY JA, Corl BA, Collier RC, Bauman DE: Effect of breed, parity and stage of lactation on milk fat content of CLA in the dairy cow. *J Dairy Sci* 85 (Suppl. 1): 298-299 (abstr.), 2002.
- KELLY ML, Berry JR, Dwyer DA, Griinari JM, Chouinard PY, Vanamburgh ME, Bauman DE: Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J Nutr* 128: 881-885, 1998.
- KEMP P, White RW, Lander DJ: The hydrogenation of unsaturated fatty acids by five bacterial isolates from the sheep rumen, including new species. *J Gen Microbiol* 90: 100-114, 1975.
- KEPLER CR, Tove SB: Biohydrogenation of unsaturated fatty acid. *J Biol Chem* 242: 5686-5692, 1967.
- KEPLER CR, Tucker WP, Tove SB: Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. V. Stereospecificity of proton addition and mechanism of action of linoleic acid Δ^{12} -*cis*, Δ^{11} -*trans* isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J Biol Chem* 246: 2765-2771, 1997.
- KERSTEN S, Desvergne B, Wahli W: Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 405: 421-424, 2000.
- KIM YJ, Liu RH, Rychlik JL, Russell JB: The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid. *J Appl Microbiol* 92: 976-982, 2002.
- KINSELLA JE: Stearoyl CoA as a precursor of oleic acid and glycerolipids in mammary microsomes from lactating bovine: possible regulatory step in milk triglyceride synthesis. *Lipids* 7: 349-355, 1972.
- KIRSTEIN D, Høy CE, Hølmer G: Effect of dietary fats on the delta 6- and delta 5-desaturation of fatty acids in rat liver microsomes. *Brit J Nutr* 50: 749-756, 1983.
- KOBA K, Akahoshi A, Yamasaki M, Tanaka K, Yamada K, Iwata T, Kamegai T, Tsutsumi K, Sugano M: Dietary conjugated linolenic acid in relation to CLA differently modifies body fat mass and serum and liver lipid levels in rats. *Lipids* 37: 343-350, 2002.
- KOHLMEIER L: Future of dietary exposure assessment. *Am J Clin Nutr* 61: 702S-709S, 1995.
- KOLETZKO B: *Trans* fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturates and growth in man. *Acta Paediatr* 81: 302-306, 1992.
- KRAFT J, Jahreis G: Konjugierte Linolsäuren: Genese und metabolische Wirkungen. *Ernährungs-Umschau* 48: 348-355, 2001.

- KRAFT J, Collomb M, Möckel P, Sieber R, Jahreis G: Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. *Lipids* 38: 657-664, 2003.
- KRAMER JKG, Parodi PW, Jensen RG, Mossoba MM, Yurawecz MP, Adlof RO: Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids* 33: 835, 1998a.
- KRAMER JKG, Sehat N, Dugan MER, Mossoba MM, Yurawecz MP, Roach JAG, Eulitz K, Aalhus JL, Schaefer AL, Ku Y: Distributions of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion high-performance liquid chromatography. *Lipids* 33: 549-558, 1998b.
- KRAMER JKG, Sehat N, Fritsche J, Mossoba MM, Eulitz MP, Yurawecz MP, Ku Y: Separation of conjugated linoleic acid isomers. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds.). Champaign, IL, AOCS Press. Pp. 215-225, 1999.
- KRAMER JKG, Cruz-Hernandez C, Zhou JQ: Conjugated linoleic acids and octadecenoic acids: Analysis by GC. *Eur J Lipid Sci Technol* 103: 600-609, 2001.
- KRAMER JKG, Zhou JQ: Conjugated linoleic acid and octadecenoic acids: Extraction and isolation of lipids. *Eur J Lipid Sci Technol* 103: 600-609, 2001.
- KRÄMER K, Jahreis G, Hoppe PP, Schöne FJ, Möckel P, Keller S: The effect of CLA on fatty acid in different fat compartments of pigs (preliminary results). CLA What's going on? European Concerted Action, Dijon (France), No. 2 / March 1999, 2-3, 1999.
- LANDAU JM, Sekowski A, Hamm MW: Dietary cholesterol and the activity of stearoyl CoA desaturases in rats: evidence for an indirect regulatory effect. *Biochim Biophys Acta* 1345: 349-357, 1997.
- LAWLESS F, Stanton C, L'Escop P, Devery R, Dillon P, Murphy JJ: Influence of breed on bovine milk *cis*-9, *trans*-11-conjugated linoleic acid content. *Livest Prod Sci* 62: 43-49, 1999.
- LAWSON LD, Hill EG, Holman RT: Suppression of arachidonic acid in lipids of rat tissues by dietary mixes of isomeric *cis* and *trans* octadecenoates. *J Nutr* 113: 1827-1835, 1983.
- LAWSON RE, Moss AR, Givens DI: The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. *Nutr Res Rev* 14: 153-172, 2001.
- LEE KN, Kritchevsky D, Pariza MW: Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108: 19-25, 1994.
- LEE KN, Pariza MW, Ntambi JM: Differential expression of hepatic stearoyl-CoA desaturase gene 1 in male and female mice. *Biochim Biophys Acta* 1304: 85-88, 1996.
- LEE KN, Pariza MW, Ntambi JM: Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun* 248: 817-821, 1998.
- LEFEVRE M, Lovejoy CJ, Smith S, Windhauser M, DeLany JP, Campagne C, Rood J, Bray GA: Acute effects of dietary *trans* fatty acids on postprandial insulin, glucose and triacylglyceride levels. *FASEB J* 13: A54 (abs.), 1999.
- LEHMANN L: Identifizierung und stereoselektive Synthesen ungesättigter Signalstoffe. *Dissertation*, Universität Hamburg, 2001.

- LI Y, Watkins BA: Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E-2 biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids. *Lipids* 33: 417-425, 1998.
- LIE KEN JIE, MSF, Pasha MK, Alam MS: Synthesis and nuclear magnetic resonance properties of all geometrical isomers of conjugated linoleic acids. *Lipids* 32: 1041-1044, 1997.
- LÖFFLER G, Petrides PE: Biochemie und Pathobiochemie. 6. Aufl., Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 973-974, 1998.
- LOOR JJ, Herbein JH: Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *J Nutr* 128: 2411-2419, 1998.
- LOOR JJ, Lin XB, Herbein JH: Dietary *trans*-vaccenic acid (*trans*11-18 : 1) increases concentration of *cis*9, *trans*11-conjugated linoleic acid (rumenic acid) in tissues of lactating mice and suckling pups. *Reprod Nutr Dev* 42: 85-99, 2002a.
- LOOR JJ, Quinlan LE, Bandara ABPA, Herbein JH: Distribution of *trans*-vaccenic acid and *cis*9,*trans*11-conjugated linoleic acid (rumenic acid) in blood plasma lipid fractions and secretion in milk fat of Jersey cows fed canola or soybean oil. *Anim Res* 51: 119-134, 2002b.
- LOWELL BB: PPARgamma: an essential regulator of adipogenesis and modulator of fat cell function. *Cell* 99: 239-242, 1998.
- MAHFOUZ MM, Valicenti AJ, Holman RT: Desaturation of isomeric *trans*-octadecnoic acids by rat liver microsomes. *Biochim Biophys Acta* 618: 1-12, 1980.
- MANSBRIDGE RJ, Blake JS: Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk fat. *Br J Nutr* 78: S37-S47, 1997.
- MARKS F, Fürstenberger G: Prostaglandins, leukotriens and other eicosanoids - From biogenesis to clinical application. Willéy-VCH, Weinheim, New York, Chechester, Brisbane, Singapore, Toronto, 1999.
- MASTERS N, McGuire MA, Beerman KA, Dasgupta N, McGuire MK: Maternal supplementation with CLA decreases milk fat in humans. *Lipids* 37: 133-138, 2002.
- MATITASHVILI E, Baumgard LH, Bauman DE: The effect of *trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA) infusion on milk fat synthesis and expression of lipogenic enzymes in the mammary gland of cows. *J Anim Sci* 79 (Suppl. 1): 310, 2000.
- MCGUIRE MK, McGuire MA, Ritzenthaler K, Shultz TD: Dietary sources and intakes of conjugated linoleic acid intake in In: Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Vol. 1. Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds.). Champaign, IL, AOCS Press. Pp. 369-377, 1999.
- MEDINA EA, Horn WF, Keim NL, Havel PJ, Benito P, Kelley DS, Nelson GJ, Erickson KL: Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids* 35: 783-788, 2000.
- MEIJER GW, van Tol A, van Berkel TJC, Weststrate JA: Effect of dietary elaidic versus vaccenic acid on blood and liver lipids in the hamster. *Atherosclerosis* 157: 31-40, 2001.
-

- MILLER CC, Park Y, Pariza MW, Cook ME: Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem Biophys Res Commun* 198: 1107-1112, 1994.
- MINER JL, Cederberg CA, Nielsen MK, Chen XL, Baile CA: Conjugated linoleic acid (CLA), body fat, and apoptosis. *Obesity Res* 9: 129-134, 2001.
- MORGADO N, Sanhueza J, Galleguillos A, Garrido A, Nieto S, Valenzuela A: Effect of dietary hydrogenated fish oil on the plasma lipoprotein profile and on the fatty acid composition of different tissues of the rat. *Ann Nutr Metab* 43: 310-318, 1999.
- MORROW JD, Hill KE, Burk KE, Nammour TM, Dadr KF, Roberts II LJ: A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 9383-9387, 1990.
- MORROW JD, Roberts II LJ: The isoprostanes. Current knowledge and direction for future research. *Biochem Pharmacol* 51: 1-9, 1996.
- MOSSOBA MM, McDonald RE, Armstrong DJ, Page SW: Identification of minor C18 triene and conjugated diene isomers in hydrogenated soybean oil and margarine by GC-MI-FT-IR spectroscopy. *J Chromatogr Sci* 29: 324-330, 1991.
- MOSSOBA MM: Application of gas chromatography-infrared spectroscopy to the confirmation of the double bond configuration of conjugated linoleic acid isomers. *Eur J Lipid Sci Technol* 103: 624-627, 2001.
- MOUGIOS V, Matsakas A, Petridou A, Ring S, Sagredos A, Melissopoulou A, Tsigilis N, Nikolaidis M: Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *J Nutr Biochem* 12: 585-594, 2001.
- MOYA-CAMARENA SY, Belury MA: Species differences in the metabolism and regulation of gene expression by conjugated linoleic acid. *Nutr Rev* 57: 336-340, 1999.
- NAUMANN K, Basler R: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch Band III VDLUFA, Verlag Neumann, Neudamm, Melsungen, Berlin, Basel, Wien, 1976.
- NOONE EJ, Roche HM, Nugent AP, Gibney MJ: The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects. *Brit J Nutr* 88: 243-251, 2002.
- NTAMBI JM: The regulation of stearoyl-CoA desaturase (SCD). *Prog Lipid Res* 34: 139-150, 1995.
- NTAMBI JM: Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipid Res* 40: 1546-1558, 1999.
- NTAMBI JM, Choi YJ, Kim YC: Regulation of stearoyl-CoA desaturase by conjugated linoleic acid. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds.). Champaign, IL, AOCS Press. Pp. 340-347, 1999.
- NTAMBI JM, Kim YC: Adipocyte differentiation and gene expression. *J Nutr* 130: 3122-3126, 2000.
- OFFER NW, Marsden M, Dixon J, Speake BK, Thacker FE: Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 poly-unsaturated fatty acids, *trans* acids and conjugated linoleic acid in bovine milk. *Anim Sci* 69: 613-625, 1999.
-

- OGAWA J, Matsumura K, Kishino S, Omura Y, Shimizu S: Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12-octadecanoic acid by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol* 67: 1246-1252, 2001.
- O'SHEA M, Stanton C, Devery R: Antioxidant enzyme defence responses of human MCF-7 and SW480 cancer cells to conjugated linoleic acid. *Anticancer Res* 19: 1953-1959, 1999.
- OSTROWSKA E, Muralitharan M, Cross RF, Bauman DE, Dunshea FR: Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J Nutr* 129: 2037-2042, 1999.
- PALMQUIST DL, Santora JE: Endogenous synthesis of rumenic acid in rodents and humans. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1, Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds.). Champaign, IL, AOCS Press. Chapter 2, pp. 201-207, 1999.
- PARIZA MW, Park Y, Cook ME: Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *Proc Soc Exp Biol Med* 223: 8-13, 2000.
- PARIZA MW, Park Y, Cook ME: The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res* 40: 283-298, 2001.
- PARK Y, Albright KJ, Liu W, Cook ME, Pariza MW: Dietary conjugated linoleic acid (CLA) reduces body fat content and isomers of CLA are incorporated into phospholipid fraction. *IFT Annual Meeting Book of Abstracts*: 183, 1995.
- PARK Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW: Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids* 32: 853-858, 1997.
- PARK Y, Albright KJ, Storkson JM, Liu W, Cook ME, Pariza MW: Changes in body composition during feeding and withdrawal of dietary conjugated linoleic acid. *Lipids* 34: 243-248, 1999a.
- PARK Y, Storkson JM, Albright KJ, Liu KJ, Pariza MW: Evidence that the *trans*-10,*cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids* 34: 235-241, 1999b.
- PARODI PW: Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Aust J Dairy Technol* 49: 93-97, 1994.
- PARODI PW: Cow's milk components with anti-cancer potential. *Aust J Dairy Technol* 56: 65-73, 2001.
- PARODI PW: Conjugated linoleic acid. *Food Aust* 54: 96-99, 2002.
- PETERSON DG, Kelsey JA, Bauman DE: Analysis of variation in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. *J Dairy Sci* 85: 2164-2172, 2002.
- PIPEROVA LS, Teter BB, Bruckental I, Sampugna J, Mills SE, Yurawecz MP, Fritsche J, Ku K, Erdman RA: Mammary lipogenic enzyme activity, *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J Nutr* 130: 2568-2574, 2000.
- PIPEROVA LS, Sampugna J, Teter BB, Kalscheur KF, Yurawecz MP, Ku Y, Morehouse KM, Erdman RA: Duodenal and milk *trans* octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9-containing CLA in lactating dairy cows. *J Nutr* 132: 1235-1241, 2002.
-

- POLLARD MR, Gunstone FD, James AT, Morris LJ: Desaturation of positional and geometric isomers of monoenic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. *Lipids* 15: 306-315, 1980.
- PRECHT D, Molquentin J: Frequency distributions of conjugated linoleic acid and *trans* fatty acid contents in European bovine milk fats. *Milk Sci Int* 55: 687-691, 2000.
- RAHMAN SM, Wang YM, Yotsumoto H, Cha JY, Han SY, Inoue S, Yanagita T: Effects of conjugated linoleic acid on serum leptin concentration, body-fat accumulation, and beta-oxidation of fatty acid in OLETF rats. *Nutrition* 17: 385-390, 2001.
- RAINIO A, Vahvaselka M, Suomalainen T, Laakso S: Reduction of linoleic acid inhibition in production of conjugated linoleic acid by *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii*. *Cand J Microbiol* 47: 735-740, 2001.
- RAINIO A, Vahvaselka M, Suomalainen T, Laakso S: Production of conjugated linoleic acid by *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii*. *Lait* 82: 91-101, 2002.
- RAMASWAMY N, Baer RJ, Schingoethe DJ, Hippen AR, Kasperson KM, Whitlock LA: Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. *J Dairy Sci* 84: 2144-2151, 2001.
- REHNER G, Daniel H: Biochemie der Ernährung. 1. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg, Berlin, 1999.
- REICHWALD-HACKER I, Ilsemann K, Mukherjee KD: Tissue-specific incorporation of positional isomers of dietary *cis*- and *trans*-octadecenoic acids in the rat. *J Nutr* 109: 1051-1056, 1979.
- RISERUS U, Berglund L, Vessby B: Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial. *Int J Obesity* 25: 1129-1135, 2001.
- RISERUS U, Basu S, Jovinge S, Fredrikson GN, Arnlov J, Vessby B: Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress and elevated C-reactive protein - A potential link to fatty acid-induced insulin resistance. *Circulation* 106: 1925-1929, 2002.
- RITZENTHALER KL, McGuire MK, Falen R, Shultz TD, Dasgupta N, McGuire MA: Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J Nutr* 131: 1548-1554, 2001.
- ROACH JAG: Analysis of CLA derivatives by GC/MS. *Eur J Lipid Sci Technol* 103: 621-624, 2001.
- ROACH JAG, Mossoba MM, Yurawecz MP, Kramer JKG: Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. *Anal Chimica Acta* 465: 207-226, 2002.
- ROBERTS LJ, Morrow JD: Measurement of F₂-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. *Free Radic Biol Med* 28: 505-513, 2000.
- ROMO GA, Erdmann RA, Teter BB, Sampugna J, Casper DP: Milk composition and apparent digestibilities of dietary fatty acids in lactating dairy cows abomasally infused with *cis* or *trans* fatty acids. *J Dairy Sci* 83: 2609-2619, 2000.
-

- ROSENTHAL MD, Whitehurst MC: Selective effects of isomeric *cis* and *trans* fatty acids on fatty acyl $\Delta 9$ and $\Delta 6$ desaturation by human skin fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 753: 450-459, 1983.
- RYDER JW, Portocarrero CP, Song XM, Cui L, Yu M, Combatsiaris T, Galuska D, Bauman DE, Barbano DM, Charron MJ, Zierath JR, Houseknecht KL: Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid - Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes* 50: 1149-1157, 2001.
- SALMINEN I, Mutanen M, Jauhiainen M, Aro A: Dietary *trans* fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *J Nutr Biochem* 9: 93-98, 1998.
- SAMUELSSON B, Goldyne M, Granström E, Hamberg M, Hammerström S, Malmsten C: Prostaglandins and thromboxanes. *Annu Rev Biochem* 47: 997-1029, 1978.
- SANDERS TA, Roshanai F: The influence of different types of omega 3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64: 91-99, 1983.
- SANTORA JE, Palmquist DL, Roehrig KL: Conversion of dietary *trans* 11 18:1 to conjugated linoleic acid in mice. *Spec Circ Ohio Agri Res Development Center* 163: 112-119, 1998.
- SANTORA JE, Palmquist DL, Roehrig KL: *Trans*-vaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice. *J Nutr* 130: 208-215, 2000.
- SATORY DL, Smith SB: Conjugated linoleic acid inhibits proliferation but stimulates lipid filling of murine 3T3-L1 preadipocytes. *J Nutr* 129: 92-97, 1999.
- SCHMANDKE H: F₂-Isoprostane aus Arachidonsäure - Biomarker für oxidativen Stress? *Ernährungs-Umschau* 47: 172-176, 2000.
- SCHONBERG S, Krokan HE: The inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives (cla) of linoleic acid on the growth of human tumor cell lines is in part due to increased lipid peroxidation. *Anticancer Res* 15: 1241-1246, 1995.
- SCHUCHARDT U, Lopes OC: Tetramethylguanidine catalyzed transesterification of fats and oils: a new method for rapid determination of their composition. *JAACS* 65: 1940-1941, 1988.
- SEBADIO JL, Juaneda P, Dobson G, Ramilison I, Martin JC, Chardigny JM, Christie W: Metabolites of conjugated isomers of linoleic acid (CLA) in the rat. *Biochem Biophys Acta* 1345: 5-10, 1997.
- SEBADIO JL, Angioni E, Chardigny JM, Gregoire S, Juaneda P, Berdeaux O: The effect of conjugated linoleic acid isomers on fatty acid profiles of liver and adipose tissues and their conversion to isomers of 16:2 and 18:3 conjugated fatty acids in rats. *Lipids* 36: 575-582, 2001.
- SEHAT N, Yurawecz MP, Roach JAG, Mossoba MM, Kramer JKG, Ku Y: Silver-ion-high-performance liquid chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. *Lipids* 33: 217-221, 1998.
- SEHAT N, Rickert R, Mossoba MM, Kramer JKG, Yurawecz MP, Roach JAG, Adlof RO, Morehouse KM, Fritsche J, Eulitz KD, Steinhart H, Ku Y: Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion-high-performance liquid chromatography. *Lipids* 34: 407-413, 1999.
-

- SEIFERT MF, Watkins BA: Role of dietary lipid and antioxidants in bone metabolism. *Nutr Res* 17: 1209-1228, 1997.
- SELTZER, S: *Cis-trans* isomerization. In: The Enzymes. Boyer PD (ed.). Academic Press, New York. Pp. 381-406, 1972.
- SINGH S, Hawke JC: The in vitro lipolysis and biohydrogenation of monogalactosyldiglycerides by whole rumen contents and its fractions. *J Sci Food Agric* 30: 603-612, 1979.
- SISK MB, Hausman DB, Martin RJ, Azain MJ: Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese Zucker rats. *J Nutr* 131: 1668-1674, 2001.
- SMEDMAN A, Vessby B: Conjugated linoleic acid supplementation in humans - Metabolic effects. *Lipids* 36: 773-781, 2001.
- SMITH SB, Hively TS, Cortese GM, Han JJ, Chung KY, Castenada P, Gilbert CD, Adams VL, Mersmann HJ: Conjugated linoleic acid depresses the Delta 9 desaturase index and stearyl coenzyme A desaturase enzyme activity in porcine subcutaneous adipose tissue. *J Anim Sci* 80: 2110-2115, 2002.
- SÖDERGREN E, Cederberg J, Basu S, Vessby B: Vitamin E supplementation decreases basal levels of F₂-isoprostanes and prostaglandin F_{2α} in rats. *J Nutr* 130: 10-14, 2000.
- SPITZER V: Structure analysis of fatty acids by gas-chromatographie - Low resolution electron impact mass spectroscopy of their 4,4-dimethyloxazolin derivatives. *Prog Lipid Res* 35: 387-408, 1997.
- STANGL G, Kirchgessner M: Zur Wirkung konjugierter Linolsäuren auf die Körperzusammensetzung und den Stoffwechsel von Ratten. *Proc Soc Nutr Physiol* 8: 141 (A105), 1999.
- STANGL GI, Müller H, Kirchgessner M: Conjugated linoleic acid effects on circulating hormones, metabolites and lipoproteins, and its proportion in fasting serum and erythrocyte membranes of swine. *Eur J Nutr* 38: 271-277, 1999.
- STANGL G: Conjugated linoleic acids exhibit a strong fat-to-lean partitioning effect, reduce serum VLDL lipids and redistribute tissue lipids in food-restricted rats. *J Nutr* 130: 1140-1146, 2000a.
- STANGL G: High dietary levels of a conjugated linoleic acid mixture alter hepatic glycerophospholipid class profile and cholesterol-carrying serum lipoproteins of rats. *J Nutr Biochem* 11: 184-191, 2000b.
- STANTON C, Lawless F, Murphy J, Devery R: Animal production of CLA. CLA What's going on? European Concerted Action, Dijon (France), No. 5, 2000.
- SUGANO M, Ikeda Y: Metabolic interactions between essential and *trans* fatty acids. *Curr Opinion in Lipidol* 7: 38-42, 1996.
- SUGANO M, Tsujita A, Yamasaki M, Yamada K, Ikeda I, Kritchevsky D: Lymphatic recovery, tissue distribution, and metabolic effects of conjugated linoleic acid in rats. *J Nutr Biochem* 8: 38-43, 1997.
- SVENSSON L: The effect of dietary partially hydrogenated marine oils on desaturation of fatty acids in rat liver microsomes. *Lipids* 18: 171-178, 1983.
- SZYMCZYK B, Pisulewski P, Szczurek W, Hanczakowski P: The effects of feeding conjugated linoleic acid (CLA) on rat growth performance, serum lipoproteins and subse-

- quent lipid composition of selected rat tissues. *J Sci Food Agric* 80: 1553-1558, 2000.
- SZYMCZYK B, Pisulewski P, Szczurek W, Hanczakowski P: Effects of conjugated linoleic acid on growth performance, feed conversion efficiency, and subsequent carcass quality in broiler chickens. *Brit J Nutr* 85: 465-473, 2001.
- TERPSTRA AHM, Beynen AC, Everts H, Kocsis S, Katan MB, Zock PL: The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta. *J Nutr* 132: 940-945, 2002.
- TISCHENDORF F, Schöne F, Kirchheim U, Jahreis G: Influence of a conjugated linoleic acid mixture on growth, organ weights, carcass traits and meat quality in growing pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr* 86: 117-128, 2002.
- TOCHER DR, Leaver MJ, Hodgson PA: Recent advances in the biochemistry and molecular biology of fatty acyl desaturases. *Prog Lipid Res* 37: 73-117, 1998.
- TRUITT A, McNeill G, Vanderhoek JY: Antiplatelet effects of conjugated linoleic acid isomers. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 1438: 239-246, 1999.
- TSUBOYAMA-KASAOKA N, Takahashi M, Tanemura K, Kim HJ, Tange T, Okuyama H, Kasai M, Ikemoto S, Ezaki O: Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes* 49: 1534-1542, 2000.
- TUREK JJ, Li Y, Schoenlein IA, Allen KGD, Watkins BA: Modulation of macrophage cytokine production by conjugated linoleic acids in influence by the dietary n-6:n-3 fatty acid ratio. *J Nutr Biochem* 9: 258-266, 1998.
- TURPEINEN AM, Basu S, Mutanen M: A high linoleic acid diet increases oxidative stress in vivo and affects nitric oxide metabolism in humans. *Prostag Leukotr Ess* 59: 229-233, 1999.
- TURPEINEN AM, Mutanen M, Aro A, Salminen I, Basu S, Palmquist DL, Griinari JM: Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am J Clin Nutr* 76: 504-510, 2002.
- VAN DEN BERG JJ, Cook NE, Tribble DL: Reinvestigation of the antioxidant properties of conjugated linoleic acid. *Lipids* 30: 599-605, 1995.
- VANDEN HEUVEL JP: Peroxisome proliferator-activated receptor - a critical link among fatty acids, gene expression and carcinogenesis. *J Nutr* 129: 5755-5805, 1999.
- VAN STAVEREN WA, Deurenberg P, Katan MB, Burema J, de Groot LCPGM, Hoffmans MDAF: Validity of the fatty acid composition of subcutaneous fat tissue microbiopsies as an estimate of the long-term average fatty acid composition of the diet of separate individuals. *Am J Epidemiol* 123: 455-463, 1986.
- VON LOEFFELHOLZ C, Kratzsch J, Jahreis G: Influence of conjugated linoleic acids on body composition and selected serum and endocrine parameters in resistance-trained athletes. *Eur J Lipid Sci Technol* 105: 251-259, 2003.
- VOORRIPS LE, Brants HAM, Kardinaal AFM, Hiddink GJ, van den Brandt PA, Goldbohm RA: Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. *Am J Clin Nutr* 76: 873-882, 2002.
-

- WAGNER K, Aulrich K, Lebzien P, Flachowsky G: Research note: Effect of duodenal-infused unsaturated fatty acid on dairy milk composition. *Arch Anim Nutr* 51: 349-354, 1998.
- WEST DB, DeLany JP, Camet PM, Blohm F, Truett AA, Scimeca J: Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am J Physiol* 44: R667-R672, 1998.
- WHITE SL, Bertrand MR, Wade SP, Washburn JT, Green J, Jenkins TC: Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J Dairy Sci* 84: 2295-2301, 2001.
- YAMASAKI M, Mansho K, Mishima H, Kimura G, Sasaki M, Kasai M, Tachibana H, Yamada K: Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid peroxidation and histological change in rat liver tissues. *J Agric Food Chem* 48: 6367-6371, 2000.
- YAMASAKI M, Chujo H, Koga Y, Oishi A, Rikimaru T, Shimada M, Sugimachi K, Tachibana H, Yamada K: Potent cytotoxic effect of the *trans*10, *cis*12 isomer of conjugated linoleic acid on rat hepatoma dRLh-84 cells. *Cancer Lett* 188: 171-180, 2002.
- YANG X: Isolation, identification and characterization of conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus reuteri* PYR8. *Ph.D. Thesis*, University of Wisconsin-Madison, 1997.
- YANG L, Leung LK, Huang Y, Chen ZY: Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers. *J Agric Food Chem* 48: 3072-3076, 2000.
- YU Y, Correll PH, Vanden Heuvel JP: Conjugated linoleic acid decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: evidence for a PPAR γ -dependent mechanism. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 1581: 89-99, 2002.
- YURAWECZ MP, Roach JAG, Sehat N, Mossoba MM, Kramer JKG, Fritsche J, Steinhart H, Ku Y: A new conjugated linoleic acid isomer, 7 *trans*, 9 *cis*-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue. *Lipids* 33: 803-809, 1998.
- YURAWECZ MP, Kramer JKG, Dugan MER, Sehat N, Mossoba MM, Yin JJ, Ku Y: Incorporation of conjugated linoleic fatty acids into biological matrices. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1. Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKG, Pariza MW, Nelson GJ (eds.). Champaign, IL, AOCS Press. Pp. 238-255, 1999.
- YURAWECZ MP, Morehouse KM: Silver-ion HPLC of conjugated linoleic acid isomers. *Eur J Lipid Sci Technol* 103: 609-613, 2001.
- ZABOLOTSKIY DA, Demin PM, Mylagkova GI: Synthesis of 9Z,11E-octadecadienoic acid methylester. *Russian Patent* 2,021,252, 1994.
- ZAMBELL KL, Keim NL, Van Loan MD, Gale B, Benito P, Kelley DS, Nelson GJ: Conjugated linoleic acid supplementation in humans: Effects on body composition and energy expenditure. *Lipids* 35: 777-782, 2000.
- ZHANG JY, Yu QT, Liu BN, Huan ZH: Chemical modification in mass spectrometry IV-2-alkenyl-dimethylloxazolines as derivatives for the double bond location of long chain olefinic acids. *Biom Environ Mass Spectrom* 15: 33-44, 1988.
- ZHANG A, Chen ZY: Oxidative stability of conjugated linoleic acid relative to other polyunsaturated fatty acids. *J Am Oil Chem Soc* 74: 1611-1613, 1997.
- ZHANG L, Ge L, Parimoo S, Stenn K, Prouty SM: Human stearoyl-CoA desaturase: alternative transcripts generated from a single gene by usage of tandem polyadenylation sites. *Biochem J* 340: 255-264, 1999.

ZOCK PL, Mensink, RP, Harryvan J, de Vries JHM, Katan MB: Fatty acids in serum cholesteryl esters as quantitative Biomarker of dietary intake in humans. *Am J Epidemiol* 145: 1114-1122, 1997.

ANHANG

Tabellenverzeichnis

| | | |
|---------------|--|-------|
| Tabelle A-1: | Beispiel für die Zusammenstellung der 7-tägigen standardisierten Kost (ca. 2500 kcal) | III |
| Tabelle A-2: | Fettsäurenverteilung der CLA-Präparate Selin [®] und Tonalin [®] [% der FAME] | IV |
| Tabelle A-3: | Fettsäurezusammensetzung der Prüfsubstanz VA [% der FAME] | V |
| Tabelle A-4: | Fettsäurezusammensetzung der Futtermischungen [mg/g Fett] | V |
| Tabelle A-5: | Chromatographiebedingungen der GC | VI |
| Tabelle A-6: | Mittlere Fettsäurenverteilung im Serum während der Kontroll- und CLA-Zulage-Periode [mg/g Fett] | VII |
| Tabelle A-7: | Mittlere Fettsäurenverteilung in den Fäzes während der Kontroll- und CLA-Zulage-Periode (mg/d; mg/g T) | VIII |
| Tabelle A-8: | Fettsäurenverteilung im Rattenkörper nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | IX |
| Tabelle A-9: | Fettsäurenverteilung im Karkass nach Gruppen [mg/g Fett] | X |
| Tabelle A-10: | Fettsäurenverteilung im Karkass nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XI |
| Tabelle A-11: | Vergleich der Fettsäurenverteilung im Muskel nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XII |
| Tabelle A-12: | Fettsäurenverteilung im weißen Fettgewebe nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XIII |
| Tabelle A-13: | Fettsäurenverteilung im braunen Fettgewebe nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XIV |
| Tabelle A-14: | Fettsäurenverteilung in der Leber nach Gruppen [mg/g Fett] | XV |
| Tabelle A-15: | Fettsäurenverteilung in der Leber nach Geschlecht und Gruppen [mg/g Fett] | XVI |
| Tabelle A-16: | Fettsäurenverteilung in den Nieren nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XVII |
| Tabelle A-17: | Fettsäurenverteilung im Herz nach Geschlecht und Gruppen [mg/g Fett] | XVIII |
| Tabelle A-18: | Fettsäurenverteilung im Thymus nach Geschlecht und Gruppen [mg/g Fett] | XIX |
| Tabelle A-19: | Fettsäurenverteilung im Gehirn nach Geschlecht und Gruppen [mg/g Fett] | XX |
| Tabelle A-20: | Fettsäurenverteilung in den Gonaden nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXI |
| Tabelle A-21: | Fettsäurenverteilung im Serum nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXII |
| Tabelle A-22: | Fettsäurenverteilung in den Erythrozyten nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXIII |

| | |
|---|--------|
| Tabelle A-23: Fettsäurenverteilung in den Fäzes nach Gruppen [mg/g Fett] | XXIV |
| Tabelle A-24: Fettsäurenverteilung in den Fäzes nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXV |
| Tabelle A-25: CLA-Isomerenverteilung im Rattenkörper nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXVI |
| Tabelle A-26: CLA-Isomerenverteilung im weißen und braunen Fettgewebe nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXVII |
| Tabelle A-27: CLA-Isomerenverteilung im Herz und den Nieren nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXVIII |
| Tabelle A-28: CLA-Isomerenverteilung im Thymus und in den Gonaden nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXIX |
| Tabelle A-29: CLA-Isomerenverteilung im Muskel und Hirn nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXX |
| Tabelle A-30: CLA-Isomerenverteilung im Karkass nach Geschlecht und Gruppe bzw. nach Gruppe [mg/g Fett] | XXXI |
| Tabelle A-31: CLA-Isomerenverteilung in der Leber nach Geschlecht und Gruppe bzw. nach Gruppe [mg/g Fett] | XXXII |
| Tabelle A-32: CLA-Isomerenverteilung im Serum und in den Erythrozyten nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXXIII |
| Tabelle A-33: CLA-Isomerenverteilung in den Fäzes nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett] | XXXIV |
| Tabelle A-34: Fettsäurenverteilung des Milchfettes | XXXV |
| Tabelle A-35: CLA-Isomerenverteilung des Milchfettes und scheinbare Transfereffizienz der einzelnen CLA-Isomeren in das Milchfett | XXXVI |

Tabelle A-1: Beispiel für die Zusammenstellung der 7-tägigen standardisierten Kost (ca. 2500 kcal)

| 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag |
|-------------------------|------------------------------|---------------------------------|----------------------|--------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| Lebensmittel | | | | | | |
| 160 g Vollkornbrot | 130 g Vollkornbrot | 160 g Vollkornbrot | 120 g Vollkornbrot | 160 g Vollkornbrot | 160 g Vollkornbrot | 130 g Vollkornbrot |
| 20 g Butter | 50 g Toastbrot | 20 g Butter | 50 g Toastbrot | 20 g Butter | 20 g Butter | 50 g Toastbrot |
| 25 g Marmelade | 20 g Butter | 25 g Marmelade | 20 g Butter | 25 g Marmelade | 25 g Marmelade | 20 g Butter |
| 20 g Frischkäse | 25 g Honig | 20 g Schnittkäse | 20 g Honig | 25 g Camembert | 20 g Schnittkäse | 25 g Marmelade |
| 20 g Schnittkäse | 25 g Camembert | 20 g Schmelzkäse | 20 g Schnittkäse | 50 g Quark | 20 g Schmelzkäse | 20 g Schnittkäse |
| 25 g Kalbsleberwurst | 50 g Quark | 30 g Cornflakes | 50 g Frischkäse | 25 g Teewurst | 25 g Kochschinken | 20 g Frischkäse |
| 30 g Schinken, roh | 25 g Salami | 25 g Kochschinken | 25 g Knackwurst | 30 g Schinken, roh | 25g Salami | 25g Knackwurst |
| 140 g Banane | 100 g Kiwi | 100 g Heringsfilet in Sahnesoße | 25 g Kalbsleberwurst | 30g Cornflakes | 150 g Birne | 25 g Kochschinken |
| 170 g Apfel | 150 g Gurke | 200 g Birne | 130 g Banane | 160 g Weintrauben | 150 g Kohlrabi | 220 g Banane |
| 130 g Tomate | 50 g Paprika | 200 g Kohlrabi | 150 g Paprika | 150 g Gurke | 70 g Paprika | 220 g Apfel |
| 20 g Schokolade | 18 g Duplo | 100 g Tomate | 160 g Apfel | 100 g Tomate | 25 g Twix | 100 g Tomate |
| 125 g Hähnchenschnitzel | 230 g Lachsschnitte mit Soße | 220 g Schweinebraten mit Soße | 300 g Pizza | 560 g Nudelplatte | 250 g Schweinelende mit Soße | 20 g Schokolade |
| 345 g Gemüse-Gratin | 130 g Reis 150 g Spinat | 110 g Kartoffelklöße | 250 g Milch | 250 g Milch | 120 g Kroketten | 360 g Eierpfannkuchen mit Füllung |
| Getränke | | | | | | |
| 250 g Milch | 250 g Milch | 250 g Milch | 250 g Milch | 250 g Milch | 250 g Milch | 250 g Milch |
| 250 g Orangensaft | 250 g Orangensaft | 250 g Orangensaft | 250 g Orangensaft | 250 g Orangensaft | 250 g Orangensaft | 250 g Orangensaft |
| 1 L Mineralwasser | 1 L Mineralwasser | 1 L Mineralwasser | 1 L Mineralwasser | 1 L Mineralwasser | 1 L Mineralwasser | 1 L Mineralwasser |

Tabelle A-2: Fettsäurenverteilung der CLA-Präparate Selin[®] und Tonalin[®] [% der FAME]

| | CLA-Präparat | |
|------------------------|--------------------|----------------------|
| | Selin [®] | Tonalin [®] |
| Fettsäure | | |
| 12:0 | 1,4 | 0,1 |
| 14:0 | 0,1 | 0,1 |
| 16:0 | 3,7 | 4,6 |
| 16:1 n7 | 0,1 | 0,1 |
| 18:0 | 1,4 | 2,0 |
| 18:1 n9 | 31,5 | 29,8 |
| 18:1 n7 | 0,6 | 0,7 |
| 18:2 n6 | 1,5 | 1,0 |
| 18:2 (CLA) | 56,0 | 54,0 |
| 18:3 n6 | 0,1 | 0,1 |
| 18:3 n3 | 0,1 | 0,1 |
| 20:0 | 0,3 | 0,2 |
| 20:1 n9 | 0,3 | 0,2 |
| 22:0 | 0,2 | 0,3 |
| CLA-Isomere | | |
| 13,15 | 0,1 | 0,1 |
| 12,14 | 2,4 | 1,9 |
| 11,13 | 6,3 | 2,6 |
| 10,12 | 8,5 | 5,2 |
| <i>t,t</i> 9,11 | 7,5 | 5,0 |
| 8,10 | 5,2 | 2,7 |
| 7,9 | 3,1 | 2,4 |
| 6,8 | 0,1 | - |
| | Σ | 33,2 |
| 12,14(c,t,t,c) | 2,0 | 0,8 |
| c11,t13 | 1,5 | 0,8 |
| t11,c13 | 13,0 | 17,1 |
| <i>c,t/t,c</i> t10,c12 | 14,9 | 19,8 |
| c9,t11 | 14,0 | 16,5 |
| t8,c10 | 11,3 | 15,8 |
| t7,c9 | 1,2 | 10,8 |
| | Σ | 57,8 |
| 12,14 | 0,3 | - |
| 11,13 | 1,9 | 2,1 |
| 10,12 | 2,4 | 2,7 |
| <i>c,c</i> 9,11 | 2,0 | 2,2 |
| 8,10 | 1,8 | 1,8 |
| | Σ | 9,2 |

Tabelle A-3: Fettsäurezusammensetzung der Prüfsubstanz VA [% der FAME]

| Fettsäure | % der FAME | C18:1-Isomeren | % der FAME |
|-----------|------------|---------------------------------|------------|
| C12:0 | 0,02 | <i>trans</i> -6/7 | 0,11 |
| C14:0 | 0,04 | <i>trans</i> -9 | 0,14 |
| C15:0 | 0,03 | <i>trans</i> -11 (<i>t</i> VA) | 31,06 |
| C16:0 | 1,46 | <i>trans</i> -12 | 31,29 |
| C16:1 | 0,04 | <i>trans</i> -15 | 0,19 |
| C17:0 | 0,07 | <i>cis</i> -9 | 0,56 |
| C18:0 | 10,48 | <i>cis</i> -11 (<i>c</i> VA) | 11,50 |
| C18:2 | 0,04 | <i>cis</i> -12 | 11,50 |
| C18:3 | 0,02 | <i>cis</i> -13 | 0,16 |
| C20:0 | 0,39 | <i>cis</i> -15 | 0,05 |

Tabelle A-4: Fettsäurezusammensetzung der Futtermischungen [mg/g Fett]

| | 0 % VA | 0,5 % VA | 1 % VA |
|----------------------|-----------|----------|--------|
| | mg/g Fett | | |
| 8:0 | 0,31 | 0,73 | 0,29 |
| 10:0 | 0,46 | 1,10 | 0,47 |
| 12:0 | 3,70 | 8,84 | 3,83 |
| 14:0 | 2,29 | 4,06 | 2,07 |
| 15:0 | 0,52 | 0,50 | 0,50 |
| 16:0 | 128,39 | 115,68 | 93,19 |
| 16:1 | 1,30 | 1,19 | 1,11 |
| 17:0 | 1,08 | 0,99 | 0,81 |
| 18:0 | 31,34 | 46,46 | 42,49 |
| 18:1 <i>t</i> 11 | 0,00 | 31,89 | 76,74 |
| 18:1 <i>t</i> 12 | 0,00 | 37,16 | 87,96 |
| 18:1 <i>c</i> 9 | 162,12 | 147,23 | 109,82 |
| 18:1 <i>c</i> 11 | 11,69 | 29,86 | 57,71 |
| 18:1 <i>c</i> 12 | 0,00 | 14,76 | 37,51 |
| 18:1 <i>c</i> 13 | 0,00 | 0,27 | 0,42 |
| 18:2 <i>n</i> 6 | 451,76 | 366,42 | 302,23 |
| 18:3 <i>n</i> 3 | 49,93 | 39,66 | 32,01 |
| 20:0 | 3,09 | 3,36 | 2,97 |
| 20:1 <i>n</i> 9 | 5,45 | 4,68 | 4,18 |
| 20:2 <i>n</i> 6 | 1,24 | 0,99 | 0,82 |
| 21:0 | 0,48 | 0,25 | 0,20 |
| 20:5 <i>n</i> 3 | 2,15 | 1,87 | 1,47 |
| 22:0 | 3,58 | 2,85 | 1,95 |
| 22:1 <i>n</i> 9 | 0,31 | 0,29 | 0,30 |
| 22:5 <i>n</i> 6 | 0,00 | 1,69 | 4,02 |
| 23:0/22:4 <i>n</i> 6 | 33,03 | 32,46 | 29,28 |
| 24:0 | 2,41 | 1,78 | 1,40 |
| 25:0 | 0,15 | 0,21 | 0,19 |
| sonstige | 1,78 | 1,03 | 1,13 |

Tabelle A-5: Chromatographiebedingungen der GC

| Parameter | Säule | |
|---------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | DB 225 | CP-SIL 88 |
| Trägergas | Wasserstoff (H ₂) | |
| Geschwindigkeit | 42 cm/s | 30 cm/s |
| Säulenfluss | 1,5 mL/min | 1,3 mL/min |
| Splitrate | 20:1 bzw. 100:1 | |
| Splitfluss | 150 mL/min | 130 mL/min |
| Injektortemperatur | 260°C | |
| Injektionsmodus | Split | |
| Injektionsvolumen | 1 µL | |
| <u>Druckprogramm</u> | | |
| Start | 66 kPa, 2 min | 198 kPa, 40 min |
| Steigungsrate 1 | 1,3 kPa/min auf 80 kPa | 7,4 kPa/min auf 215 kPa; 5 min |
| 2 | 0,3 kPa/min auf 85 kPa; 5 min | |
| <u>Temperaturprogramm</u> | | |
| Start | 70° C, 2 min | 172 °C, 40 min |
| Steigungsrate 1 | 10 °C/min auf 180 °C | 25 °C/min auf 240 °C; 10 min |
| 2 | 2 °C/min auf 220 °C; 5 min | |
| 3 | 2 °C/min auf 230 °C; 7 min | |
| Detektortemperatur | 270 °C | |
| Programmlaufzeit | 50,00 min | 52,72 min |

Tabelle A-6: Mittlere Fettsäurenverteilung im Serum während der Kontroll- und CLA-Zulage-Periode [mg/g Fett]

| Fettsäure | Kontroll-Periode | CLA-Zulage-Periode |
|-----------------------|------------------|--------------------|
| 12:0 | 1,11 ± 0,78 | 0,72 ± 0,28 |
| 14:0 | 10,67 ± 5,50 | 8,03 ± 1,57 |
| 14:1 | 0,46 ± 0,23 | 0,39 ± 0,13 |
| 16:0 | 200,81 ± 21,01 | 211,77 ± 21,86 |
| 16:1 n7 | 21,38 ± 6,34 | 21,46 ± 5,95 |
| 18:0 | 67,89 ± 6,47 | 68,57 ± 12,16 |
| 18:1 t11 | 1,95 ± 1,12 | 1,67 ± 0,38 |
| 18:1 c9 | 220,66 ± 20,25 | 224,86 ± 44,61 |
| 18:1 c11 | 19,53 ± 1,85 | 17,09 ± 3,26 |
| 18:2 n6 | 251,34 ± 46,07 | 218,33 ± 61,08* |
| 18:2 (CLA) | 2,76 ± 0,60 | 7,69 ± 0,61* |
| 18:3 n6 | 2,72 ± 0,34 | 2,35 ± 0,63 |
| 18:3 n3 | 4,88 ± 0,96 | 5,02 ± 1,34 |
| 20:0 | 0,78 ± 0,22 | 0,90 ± 0,73 |
| 20:1 n9 | 2,54 ± 0,39 | 2,39 ± 0,39 |
| 20:2 n6 | 2,11 ± 0,21 | 1,95 ± 0,29 |
| 20:3 n6 | 12,86 ± 2,22 | 12,41 ± 2,14 |
| 20:4 n6 | 43,64 ± 9,17 | 43,05 ± 11,51 |
| 20:5 n3 | 4,21 ± 2,33 | 5,25 ± 1,90 |
| 22:0 | 0,84 ± 0,58 | 0,45 ± 0,07 |
| 22:4 n3 | 0,10 ± 0,03 | 0,15 ± 0,07 |
| 22:5 n3 | 3,37 ± 0,88 | 3,59 ± 0,66 |
| 22:6 n3 | 8,80 ± 2,67 | 10,57 ± 3,15 |
| 24:0 | 0,38 ± 0,15 | 0,53 ± 0,47 |
| Sonstige | 20,32 ± 3,57 | 23,87 ± 4,46* |
| Fettsäurenanteile | | |
| SFA | 291,92 ± 26,33 | 303,11 ± 23,91* |
| MUFA | 266,93 ± 27,56 | 268,67 ± 47,79 |
| PUFA | 334,48 ± 50,97 | 303,10 ± 75,76* |
| TFA | 9,80 ± 2,99 | 10,42 ± 2,87 |
| Fettsäurenanteile (%) | | |
| SFA | 32,23 ± 2,88 | 33,98 ± 3,21* |
| MUFA | 29,48 ± 3,18 | 30,12 ± 5,50 |
| PUFA | 36,91 ± 5,47 | 33,86 ± 8,18 |
| CLA | 0,30 ± 0,08 | 0,86 ± 0,07* |
| TFA | 1,08 ± 0,32 | 1,17 ± 0,33 |

* signifikante Unterschiede ($P < 0,05$)

Tabelle A-7: Mittlere Fettsäurenverteilung in den Fäzes während der Kontroll- und CLA-Zulage-Periode (mg/d; mg/g T)

| Fettsäure | mg/d ¹ | | mg/g T | |
|-----------------------|-------------------|------------------|---------------|---------------|
| | Kontrolle | CLA | Kontrolle | CLA |
| 14:0 | 28,29 ± 9,50 | 45,48 ± 11,63* | 1,48 ± 0,68 | 1,95 ± 0,68* |
| 14:1 | 0,63 ± 0,25 | 0,72 ± 0,22 | 0,03 ± 0,02 | 0,03 ± 0,01 |
| 15:0 | 32,82 ± 7,16 | 41,56 ± 11,23 | 1,8 ± 1,1 | 1,7 ± 0,34 |
| 16:0 | 487,42 ± 24,98 | 594,8 ± 80,36* | 25,98 ± 12,14 | 25,27 ± 5,84 |
| 16:1 n7 | 12,75 ± 0,93 | 15,29 ± 2,06* | 0,67 ± 0,29 | 0,65 ± 0,17 |
| 18:0 | 219,18 ± 30,92 | 218,35 ± 31,47 | 11,47 ± 4,89 | 9,17 ± 1,50 |
| 18:1 t11 | 17,34 ± 4,00 | 19,33 ± 9,23 | 0,93 ± 0,50 | 0,85 ± 0,50 |
| 18:1 c9 | 1076,27 ± 50,36 | 1055,78 ± 179,22 | 56,77 ± 24,55 | 45,05 ± 12,17 |
| 18:1 c11 | 45,16 ± 2,17 | 50,70 ± 9,34 | 2,40 ± 1,09 | 2,18 ± 0,71 |
| 18:2 n6 | 1506,00 ± 72,15 | 1211,84 ± 85,41* | 80,14 ± 36,04 | 51,56 ± 9,86* |
| 18:3 n6 | 1,52 ± 1,10 | 0,59 ± 0,44* | 0,08 ± 0,06 | 0,03 ± 0,02* |
| 18:3 n3 | 792,03 ± 96,71 | 866,76 ± 128,17 | 43,16 ± 21,82 | 36,67 ± 7,45 |
| 18:2 (CLA) | 9,49 ± 3,30 | 23,98 ± 14,27* | 0,51 ± 0,29 | 1,02 ± 0,62* |
| 20:0 | 16,36 ± 2,44 | 15,40 ± 2,57 | 0,87 ± 0,42 | 0,6 ± 0,13 |
| 20:1 n9 | 11,84 ± 2,01 | 13,28 ± 2,90 | 0,63 ± 0,30 | 0,57 ± 0,19 |
| 20:2 n6 | 1,90 ± 0,35 | 2,33 ± 0,83 | 0,10 ± 0,05 | 0,10 ± 0,05 |
| 20:4 n6 | 1,74 ± 0,58 | 2,92 ± 1,43 | 0,04 ± 0,01 | 0,13 ± 0,07* |
| 22:0 | 10,97 ± 1,76 | 12,40 ± 1,69 | 0,59 ± 0,30 | 0,53 ± 0,11 |
| 24:0 | 7,50 ± 0,68 | 8,95 ± 1,08* | 0,40 ± 0,18 | 0,38 ± 0,07 |
| 24:1 n9 | 0,79 ± 0,45 | 1,51 ± 0,44* | 0,03 ± 0,01 | 0,06 ± 0,03* |
| 25:0 | 0,47 ± 0,50 | 0,90 ± 0,75 | 0,03 ± 0,04 | 0,04 ± 0,03 |
| Verzweigkettige FS | 165,36 ± 45,69 | 203,42 ± 76,94 | 9,20 ± 6,63 | 8,28 ± 2,10 |
| Sonstige | 66,40 ± 11,98 | 68,45 ± 13,63 | 3,47 ± 1,49 | 2,92 ± 0,83 |
| Fettsäurenanteile (%) | | | | |
| SFA | | | 21,88 ± 1,71 | 26,06 ± 3,76* |
| MUFA | | | 25,69 ± 1,22 | 25,68 ± 3,95 |
| PUFA | | | 51,12 ± 2,21 | 46,69 ± 2,73* |
| TFA | | | 1,19 ± 0,37 | 1,03 ± 0,40 |
| CLA | | | 0,21 ± 0,07 | 0,54 ± 0,33* |

¹ normiert auf 5 g fäkal ausgeschiedenes Fett* signifikante Unterschiede ($P < 0,05$)

Tabelle A-8: Fettsäurenverteilung im Rattenkörper nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | | |
|------------|-----------|--------|-----------------------|--------|-------|--------|--|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | |
| 10:0 | 2,73 | 2,19 | 1,96 | 2,72 | 1,66 | 2,06 | |
| 12:0 | 6,04 | 5,72 | 5,57 | 6,55 | 4,33 | 5,38 | |
| 14:0 | 8,84 | 8,58 | 8,88 | 9,30 | 8,24 | 8,75 | |
| 14:1 | 0,45 | 0,45 | 0,37 | 0,44 | 0,42 | 0,42 | |
| 16:0 | 89,58 | 87,05 | 92,67 | 87,90 | 94,25 | 92,02 | |
| 16:1 n7 | 13,22 | 12,09 | 12,60 | 12,81 | 14,39 | 13,66 | |
| 18:0 | 29,07 | 36,97 | 31,77 | 35,22 | 31,83 | 33,34 | |
| 18:1 c9 | 74,43 | 69,90 | 69,38 | 70,57 | 63,63 | 70,12 | |
| 18:1 c11 | 11,77 | 11,95 | 16,61 | 15,02 | 20,64 | 19,03 | |
| 18:1 c12 | 0,03 | 0,05 | 2,48 | 2,11 | 5,62 | 5,01 | |
| 18:1 t11 | 0,21 | 0,15 | 4,65 | 4,06 | 9,20 | 8,81 | |
| 18:1 t12 | 0,08 | 0,08 | 6,81 | 5,65 | 13,71 | 12,07 | |
| 18:2 n6 | 129,27 | 114,23 | 114,11 | 111,51 | 92,07 | 105,22 | |
| 18:2 (CLA) | 0,31 | 0,23 | 1,79 | 1,80 | 3,76 | 3,63 | |
| 18:3 n6 | 0,51 | 0,54 | 0,54 | 0,59 | 0,30 | 0,58 | |
| 18:3 n3 | 8,97 | 6,21 | 7,63 | 6,87 | 5,35 | 6,76 | |
| 20:0 | 0,44 | 0,61 | 0,48 | 0,54 | 0,45 | 0,50 | |
| 20:1 n9 | 1,47 | 1,78 | 1,41 | 1,49 | 1,29 | 1,42 | |
| 20:2 n6 | 1,86 | 2,00 | 1,67 | 1,72 | 1,20 | 1,24 | |
| 20:3 n3 | 1,50 | 2,15 | 2,08 | 2,11 | 2,03 | 1,77 | |
| 20:4 n6 | 21,26 | 28,00 | 23,79 | 25,35 | 23,15 | 22,52 | |
| 20:5 n3 | 0,45 | 0,53 | 0,50 | 0,57 | 0,38 | 0,49 | |
| 22:5 n6 | 2,96 | 2,83 | 3,30 | 2,36 | 2,93 | 1,85 | |
| 22:5 n3 | 6,52 | 12,16 | 7,79 | 9,94 | 8,29 | 8,05 | |
| 22:6 n3 | 2,72 | 4,18 | 3,04 | 3,75 | 3,01 | 3,67 | |
| Sonstige | 13,04 | 15,82 | 14,12 | 14,05 | 12,38 | 13,47 | |
| | | | Fettsäurenanteile (%) | | | | |
| SFA | 32,93 | 33,99 | 33,94 | 34,18 | 33,56 | 33,99 | |
| MUFA | 23,90 | 22,82 | 24,30 | 24,26 | 25,00 | 25,86 | |
| PUFA | 41,62 | 40,81 | 38,78 | 38,87 | 32,70 | 35,88 | |
| CLA | 0,07 | 0,05 | 0,42 | 0,42 | 0,88 | 0,85 | |
| TFA | 1,81 | 2,30 | 4,68 | 4,17 | 7,23 | 6,91 | |
| | | | Fettsäurenindizes | | | | |
| 14:0/14:1 | 19,64 | 19,07 | 24,00 | 21,14 | 19,62 | 20,83 | |
| 16:0/16:1 | 6,78 | 7,20 | 7,35 | 6,86 | 6,55 | 6,74 | |
| 18:0/18:1 | 0,39 | 0,53 | 0,46 | 0,50 | 0,50 | 0,48 | |
| Δ9-DI | 0,47 | 0,44 | 0,45 | 0,45 | 0,45 | 0,46 | |

Tabelle A-9: Fettsäurenverteilung im Karkass nach Gruppen [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | |
|------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | 0 % | 0,5 % | 1 % |
| 10:0 | 5,76 ± 1,02 | 5,38 ± 1,36 | 4,15 ± 0,72 |
| 12:0 | 13,63 ± 1,83 | 13,96 ± 2,93 | 11,04 ± 1,21 |
| 14:0 | 20,17 ± 1,79 | 20,92 ± 2,54 | 19,46 ± 1,42 |
| 16:0 | 183,06 ± 6,06 | 186,00 ± 3,05 | 194,93 ± 7,97 |
| 16:1 n7 | 29,70 ± 2,29 | 8,95 ± 3,54 | 10,91 ± 3,1 |
| 18:0 | 55,01 ± 8,79 | 56,83 ± 3,07 | 57,90 ± 7,67 |
| 18:1 c9 | 164,58 ± 5,99 | 156,82 ± 7,80 | 148,83 ± 9,81 |
| 18:1 c11 | 25,63 ± 1,39 ^a | 32,94 ± 1,28 ^b | 42,57 ± 4,35 ^c |
| 18:1 c12 | 0,09 ± 0,03 ^a | 4,91 ± 0,56 ^b | 11,34 ± 1,60 ^c |
| 18:1 t11 | 0,39 ± 0,13 ^a | 8,88 ± 1,14 ^b | 18,65 ± 2,77 ^c |
| 18:1 t12 | 0,18 ± 0,07 ^a | 11,17 ± 1,36 ^b | 23,98 ± 3,45 ^c |
| 18:2 n6 | 283,68 ± 19,67 ^a | 258,23 ± 7,46 ^{a,b} | 227,54 ± 19,54 ^b |
| 18:2 (CLA) | 0,61 ± 0,19 ^a | 3,90 ± 0,17 ^b | 8,09 ± 0,72 ^c |
| 18:3 n6 | 1,13 ± 0,04 | 1,189 ± 0,06 | 0,80 ± 0,40 |
| 18:3 n3 | 17,30 ± 3,82 | 16,41 ± 1,51 | 13,62 ± 3,30 |
| 20:0 | 1,19 ± 0,25 | 1,16 ± 0,11 | 1,07 ± 0,11 |
| 20:1 n9 | 3,72 ± 0,47 | 3,26 ± 0,20 | 3,08 ± 0,44 |
| 20:2 n6 | 4,04 ± 0,34 ^a | 4,40 ± 0,32 ^b | 2,44 ± 0,16 ^c |
| 20:3 n3 | 3,70 ± 1,00 ^a | 3,66 ± 0,37 ^b | 0,58 ± 0,29 ^b |
| 20:4 n6 | 34,24 ± 10,05 | 32,70 ± 3,72 | 30,90 ± 6,83 |
| 20:5 n3 | 0,90 ± 0,13 | 0,88 ± 0,07 | 0,59 ± 0,23 |
| 22:5 n3 | 6,07 ± 1,46 | 5,81 ± 0,31 | 5,07 ± 0,88 |
| 22:6 n3 | 22,67 ± 2,56 | 21,16 ± 3,80 | 19,94 ± 3,44 |
| Sonstige | 20,99 ± 2,59 | 19,83 ± 1,58 | 18,02 ± 2,57 |
| | | Fettsäurenanteile | |
| SFA | 32,79 ± 1,16 | 33,15 ± 0,79 | 33,45 ± 1,29 |
| MUFA | 25,30 ± 0,71 | 25,66 ± 1,05 | 26,80 ± 0,73 |
| PUFA | 41,59 ± 0,47 ^a | 38,25 ± 0,69 ^b | 33,81 ± 1,78 ^c |
| CLA | 0,07 ± 0,02 ^a | 0,43 ± 0,02 ^b | 0,90 ± 0,08 ^c |
| TFA | 0,24 ± 0,04 ^a | 2,48 ± 0,27 ^b | 5,04 ± 0,77 ^c |
| | | Fettsäurenindizes | |
| 14:0/14:1 | 18,78 ± 2,75 | 21,69 ± 3,77 | 30,38 ± 12,77 |
| 16:0/16:1 | 6,20 ± 0,65 | 6,52 ± 0,88 | 6,19 ± 0,62 |
| 18:0/18:1 | 0,34 ± 0,07 | 0,36 ± 0,04 | 0,39 ± 0,07 |
| Δ9-DI | 0,46 ± 0,02 | 0,45 ± 0,01 | 0,45 ± 0,01 |

a, b, c – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

Tabelle A-10: Fettsäurenverteilung im Karkass nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|------------|-----------|--------|-----------------------|--------|--------|--------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 10:0 | 6,50 | 5,01 | 4,53 | 6,23 | 3,80 | 4,51 |
| 12:0 | 14,19 | 13,07 | 12,88 | 15,04 | 10,17 | 11,90 |
| 14:0 | 20,54 | 19,79 | 20,44 | 21,39 | 19,40 | 19,52 |
| 14:1 | 1,07 | 1,10 | 0,91 | 1,07 | 0,48 | 0,99 |
| 16:0 | 184,67 | 181,46 | 188,13 | 183,87 | 198,88 | 190,99 |
| 16:1 n7 | 30,63 | 28,76 | 28,27 | 29,56 | 32,96 | 30,72 |
| 18:0 | 47,49 | 62,53 | 56,61 | 57,05 | 61,80 | 54,00 |
| 18:1 c9 | 169,57 | 159,58 | 155,63 | 158,01 | 143,89 | 153,78 |
| 18:1 c11 | 25,11 | 26,15 | 33,95 | 31,95 | 45,11 | 40,04 |
| 18:1 c12 | 0,08 | 0,10 | 5,29 | 4,53 | 12,15 | 10,53 |
| 18:1 t11 | 0,47 | 0,31 | 9,60 | 8,15 | 19,55 | 17,74 |
| 18:1 t12 | 0,18 | 0,17 | 12,19 | 10,14 | 25,74 | 22,21 |
| 18:2 n6 | 300,37 | 266,99 | 262,58 | 253,89 | 216,48 | 238,60 |
| 18:2 (CLA) | 0,73 | 0,50 | 3,98 | 3,83 | 8,28 | 7,90 |
| 18:3 n6 | 1,13 | 1,13 | 1,14 | 1,22 | 0,46 | 1,14 |
| 18:3 n3 | 20,59 | 14,00 | 17,43 | 15,40 | 11,97 | 15,28 |
| 20:0 | 0,97 | 1,40 | 1,10 | 1,23 | 1,06 | 1,09 |
| 20:1 n9 | 3,32 | 4,13 | 3,14 | 3,39 | 2,98 | 3,17 |
| 20:2 n6 | 3,81 | 4,28 | 3,20 | 3,60 | 2,37 | 2,51 |
| 20:3 n3 | 2,84 | 4,55 | 3,45 | 3,87 | 3,38 | 2,97 |
| 20:4 n6 | 25,65 | 42,83 | 30,70 | 34,70 | 33,79 | 28,01 |
| 20:5 n3 | 0,80 | 0,99 | 0,82 | 0,94 | 0,44 | 0,75 |
| 22:5 n3 | 4,82 | 7,32 | 5,62 | 6,02 | 5,47 | 4,67 |
| 22:6 n3 | 15,51 | 29,84 | 18,42 | 23,89 | 20,99 | 18,89 |
| Sonstige | 18,85 | 23,13 | 19,30 | 20,36 | 18,24 | 17,79 |
| | | | Fettsäurenanteile (%) | | | |
| SFA | 32,14 | 33,43 | 33,07 | 33,24 | 34,16 | 32,74 |
| MUFA | 25,79 | 24,82 | 25,55 | 25,76 | 26,74 | 26,86 |
| PUFA | 41,77 | 41,42 | 38,24 | 28,26 | 32,83 | 34,80 |
| CLA | 0,08 | 0,06 | 0,44 | 0,43 | 0,92 | 0,88 |
| TFA | 0,22 | 0,26 | 2,67 | 2,29 | 5,34 | 4,73 |
| | | | Fettsäurenindizes | | | |
| 14:0/14:1 | 19,08 | 18,47 | 23,20 | 20,19 | 40,93 | 19,83 |
| 16:0/16:1 | 6,04 | 6,36 | 6,75 | 6,29 | 6,12 | 6,26 |
| 18:0/18:1 | 0,28 | 0,39 | 0,36 | 0,36 | 0,43 | 0,35 |
| Δ9-DI | 0,47 | 0,45 | 0,45 | 0,46 | 0,44 | 0,46 |

Tabelle A-11: Vergleich der Fettsäurenverteilung im Muskel nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 10:0 | 6,46 | 7,19 | 0,35 | 0,38 | 0,43 | 0,46 |
| 12:0 | 15,73 | 17,05 | 17,10 | 18,17 | 15,16 | 17,64 |
| 14:0 | 19,84 | 20,85 | 21,29 | 20,79 | 20,61 | 21,79 |
| 14:1 | 0,66 | 0,65 | 0,64 | 0,61 | 0,75 | 0,76 |
| 16:0 | 179,24 | 171,51 | 178,21 | 170,24 | 174,17 | 170,48 |
| 16:1 n7 | 18,22 | 17,35 | 20,41 | 19,13 | 23,71 | 22,13 |
| 18:0 | 60,61 | 57,07 | 52,91 | 58,57 | 48,11 | 48,55 |
| 18:1 c9 | 128,91 | 137,45 | 129,30 | 134,70 | 131,18 | 139,34 |
| 18:1 c11 | 23,81 | 23,28 | 31,34 | 28,67 | 40,96 | 37,48 |
| 18:1 c12 | 0,00 | 0,13 | 5,01 | 4,07 | 12,13 | 10,34 |
| 18:1 t11 | 0,38 | 0,44 | 8,89 | 7,79 | 20,68 | 18,19 |
| 18:1 t12 | 0,00 | 0,23 | 12,02 | 10,47 | 27,16 | 23,24 |
| 18:2 n6 | 313,86 | 306,93 | 302,57 | 288,58 | 273,64 | 270,99 |
| 18:2 (CLA) | 0,40 | 0,52 | 2,92 | 2,46 | 6,62 | 5,99 |
| 18:3 n6 | 16,66 | 14,42 | 16,69 | 15,51 | 14,53 | 13,81 |
| 20:0 | 0,60 | 0,70 | 0,50 | 0,73 | 0,67 | 0,77 |
| 20:1 n9 | 2,22 | 2,62 | 2,01 | 2,27 | 2,18 | 2,33 |
| 20:2 n6 | 3,57 | 3,76 | 2,75 | 3,18 | 2,28 | 2,63 |
| 20:3 n3 | 3,61 | 3,82 | 3,20 | 3,84 | 2,99 | 2,98 |
| 20:4 n6 | 44,80 | 44,72 | 37,82 | 43,11 | 32,09 | 32,75 |
| 20:5 n3 | 1,12 | 1,11 | 0,86 | 1,25 | 0,81 | 0,87 |
| 22:5 n3 | 9,44 | 8,98 | 8,25 | 7,38 | 6,32 | 6,66 |
| 22:6 n3 | 33,15 | 37,96 | 27,28 | 29,74 | 23,28 | 25,84 |
| Sonstige | 17,88 | 19,95 | 13,53 | 20,04 | 13,40 | 16,38 |
| | Fettsäurenanteile (%) | | | | | |
| SFA | 32,98 | 32,23 | 31,86 | 32,44 | 30,57 | 31,03 |
| MUFA | 19,47 | 20,42 | 21,05 | 21,28 | 23,56 | 23,79 |
| PUFA | 47,33 | 46,97 | 44,29 | 43,66 | 39,59 | 39,64 |
| CLA | 0,04 | 0,06 | 0,32 | 0,27 | 0,74 | 0,67 |
| TFA | 0,18 | 0,31 | 2,47 | 2,36 | 5,55 | 4,88 |
| | Fettsäurenindizes | | | | | |
| 14:0/14:1 | 30,06 | 32,00 | 33,12 | 34,22 | 27,49 | 29,41 |
| 16:0/16:1 | 9,84 | 9,89 | 8,73 | 8,90 | 7,34 | 7,70 |
| 18:0/18:1 | 0,47 | 0,42 | 0,41 | 0,43 | 0,37 | 0,35 |
| Δ9-DI | 0,40 | 0,42 | 0,42 | 0,42 | 0,45 | 0,45 |

Tabelle A-12: Fettsäurenverteilung im weißen Fettgewebe nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | | |
|------------|-----------|--------|-----------------------|--------|--------|--------|--|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | |
| 10:0 | 4,56 | 5,90 | 4,60 | 5,06 | 3,67 | 4,01 | |
| 12:0 | 10,08 | 13,60 | 11,83 | 11,91 | 8,44 | 10,35 | |
| 14:0 | 18,39 | 20,28 | 19,11 | 18,57 | 17,58 | 19,60 | |
| 16:0 | 203,92 | 193,27 | 193,67 | 209,28 | 202,25 | 226,40 | |
| 16:1 n7 | 33,51 | 24,79 | 31,13 | 28,04 | 36,07 | 31,26 | |
| 18:0 | 32,35 | 38,11 | 31,63 | 39,37 | 34,74 | 43,36 | |
| 18:1 c9 | 191,13 | 193,12 | 177,31 | 182,85 | 165,28 | 168,17 | |
| 18:1 c11 | 22,00 | 22,90 | 32,06 | 30,85 | 45,46 | 40,55 | |
| 18:1 c12 | 0,00 | 0,13 | 7,32 | 6,48 | 17,56 | 14,81 | |
| 18:1 t11 | 0,21 | 0,55 | 12,94 | 11,45 | 28,48 | 25,42 | |
| 18:1 t12 | 0,00 | 0,12 | 15,73 | 13,99 | 36,06 | 30,98 | |
| 18:2 n6 | 324,67 | 321,81 | 296,46 | 277,86 | 239,85 | 229,15 | |
| 18:2 (CLA) | 0,54 | 0,65 | 5,53 | 5,11 | 13,18 | 11,45 | |
| 18:3 n6 | 1,33 | 1,59 | 1,40 | 1,74 | 1,71 | 1,40 | |
| 18:3 n3 | 25,81 | 22,31 | 25,61 | 21,93 | 19,55 | 16,13 | |
| 20:0 | 0,74 | 0,92 | 0,80 | 0,96 | 0,84 | 1,05 | |
| 20:1 n9 | 2,83 | 3,21 | 2,50 | 2,53 | 2,34 | 2,09 | |
| 20:2 n6 | 2,95 | 3,27 | 2,60 | 2,61 | 1,88 | 1,90 | |
| 20:3 n3 | 1,59 | 2,39 | 1,77 | 2,08 | 1,32 | 1,29 | |
| 20:4 n6 | 7,05 | 10,18 | 7,02 | 8,47 | 5,76 | 5,98 | |
| 22:5 n3 | 1,35 | 1,69 | 1,47 | 1,52 | 0,98 | 0,97 | |
| 22:6 n3 | 3,08 | 4,82 | 2,92 | 3,81 | 2,24 | 2,58 | |
| Sonstige | 10,84 | 13,16 | 19,62 | 11,76 | 13,10 | 10,64 | |
| | | | Fettsäurenanteile (%) | | | | |
| SFA | 30,98 | 31,28 | 30,09 | 32,67 | 30,69 | 34,63 | |
| MUFA | 27,91 | 27,35 | 28,06 | 28,05 | 29,91 | 28,77 | |
| PUFA | 40,91 | 41,10 | 37,88 | 35,77 | 30,51 | 28,87 | |
| CLA | 0,06 | 0,07 | 0,62 | 0,57 | 1,47 | 1,27 | |
| TFA | 0,07 | 0,19 | 3,35 | 2,93 | 7,42 | 6,45 | |
| | | | Fettsäurenindizes | | | | |
| 16:0/16:1 | 6,09 | 7,80 | 6,22 | 7,46 | 5,61 | 7,24 | |
| 18:0/18:1 | 0,17 | 0,20 | 0,18 | 0,22 | 0,21 | 0,26 | |
| Δ9-DI | 0,49 | 0,49 | 0,50 | 0,47 | 0,49 | 0,45 | |

Tabelle A-13: Fettsäurenverteilung im braunen Fettgewebe nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 10:0 | 9,43 | 7,35 | 9,65 | 11,73 | 8,12 | 10,41 |
| 12:0 | 22,63 | 17,46 | 22,98 | 25,04 | 20,92 | 22,25 |
| 14:0 | 30,52 | 27,65 | 30,38 | 20,78 | 29,74 | 28,15 |
| 14:1 | 0,88 | 0,69 | 0,98 | 0,72 | 1,00 | 0,90 |
| 16:0 | 190,92 | 190,37 | 193,17 | 182,78 | 188,39 | 182,00 |
| 16:1 n7 | 23,63 | 18,81 | 27,66 | 21,92 | 29,05 | 26,04 |
| 18:0 | 35,80 | 54,38 | 34,87 | 38,47 | 36,43 | 36,82 |
| 18:1 c9 | 188,70 | 185,62 | 180,52 | 182,21 | 173,44 | 181,94 |
| 18:1 c11 | 21,98 | 21,29 | 29,10 | 28,65 | 40,71 | 38,68 |
| 18:1 c12 | 0,13 | 0,12 | 5,13 | 4,74 | 12,88 | 11,26 |
| 18:1 t11 | 0,46 | 0,54 | 10,20 | 9,58 | 23,08 | 20,71 |
| 18:1 t12 | 0,31 | 0,25 | 11,58 | 10,85 | 27,54 | 24,06 |
| 18:2 n6 | 321,54 | 311,26 | 290,18 | 294,36 | 258,03 | 258,98 |
| 18:2 (CLA) | 0,35 | 0,40 | 2,76 | 2,69 | 7,24 | 6,67 |
| 18:3 n6 | 1,28 | 1,27 | 1,25 | 1,67 | 1,29 | 1,39 |
| 18:3 n3 | 21,74 | 18,33 | 21,55 | 20,51 | 17,80 | 16,42 |
| 20:0 | 0,81 | 1,44 | 0,80 | 0,93 | 0,80 | 0,94 |
| 20:1 n9 | 2,93 | 3,54 | 2,57 | 2,85 | 2,47 | 2,92 |
| 20:2 n6 | 2,92 | 3,64 | 2,34 | 2,98 | 1,98 | 2,77 |
| 20:3 n3 | 1,41 | 2,66 | 1,24 | 2,03 | 0,95 | 1,74 |
| 20:4 n6 | 5,82 | 10,90 | 5,33 | 7,96 | 4,48 | 6,99 |
| 22:5 n3 | 1,05 | 2,20 | 0,83 | 1,39 | 0,53 | 1,33 |
| 22:6 n3 | 2,04 | 4,85 | 1,46 | 3,05 | 1,14 | 2,77 |
| Sonstige | 12,25 | 14,34 | 12,17 | 13,14 | 11,09 | 12,63 |
| | Fettsäurenanteile (%) | | | | | |
| SFA | 33,29 | 34,31 | 33,55 | 33,09 | 32,57 | 32,21 |
| MUFA | 26,62 | 26,03 | 29,98 | 29,31 | 34,70 | 34,35 |
| PUFA | 39,84 | 39,69 | 36,54 | 37,65 | 32,84 | 33,57 |
| CLA | 0,04 | 0,04 | 0,31 | 0,30 | 0,80 | 0,74 |
| TFA | 0,20 | 0,32 | 2,53 | 2,39 | 5,76 | 5,13 |
| | Fettsäurenindizes | | | | | |
| 14:0/14:1 | 34,53 | 40,17 | 31,34 | 40,04 | 29,66 | 31,26 |
| 16:0/16:1 | 8,08 | 10,12 | 6,98 | 8,34 | 6,49 | 6,99 |
| 18:0/18:1 | 0,19 | 0,29 | 0,19 | 0,21 | 0,21 | 0,20 |
| Δ9-DI | 0,48 | 0,45 | 0,48 | 0,48 | 0,49 | 0,50 |

Tabelle A-14: Fettsäurenverteilung in der Leber nach Gruppen [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | |
|------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| | 0 % | 0,5 % | 1 % |
| 12:0 | 1,33 ± 0,57 ^a | 0,70 ± 0,35 ^b | 0,76 ± 0,25 ^b |
| 14:0 | 2,34 ± 0,69 | 2,58 ± 0,56 | 2,70 ± 0,50 |
| 16:0 | 147,85 ± 12,39 | 144,19 ± 27,52 | 143,58 ± 27,61 |
| 16:1 n7 | 4,42 ± 0,90 ^a | 8,95 ± 3,54 ^b | 10,91 ± 3,19 ^b |
| 18:0 | 202,53 ± 20,54 ^a | 168,48 ± 42,39 ^{a,b} | 150,53 ± 34,38 ^b |
| 18:1 c9 | 40,56 ± 2,68 ^a | 49,98 ± 4,29 ^{a,b} | 54,03 ± 12,33 ^b |
| 18:1 c11 | 19,70 ± 3,63 ^a | 32,92 ± 9,79 ^b | 31,92 ± 8,70 ^b |
| 18:1 c12 | 0,02 ± 0,03 ^a | 3,54 ± 0,93 ^b | 7,88 ± 1,97 ^c |
| 18:1 t11 | 0,41 ± 0,18 ^a | 10,74 ± 1,29 ^b | 18,04 ± 2,42 ^c |
| 18:1 t12 | 0,11 ± 0,11 ^a | 29,20 ± 4,62 ^b | 52,67 ± 11,62 ^c |
| 18:2 n6 | 173,41 ± 13,30 ^a | 156,56 ± 34,62 ^{a,b} | 133,98 ± 32,71 ^b |
| 18:2 (CLA) | 0,19 ± 0,08 ^a | 2,30 ± 0,92 ^b | 5,02 ± 1,69 ^c |
| 18:3 n6 | 1,82 ± 0,62 | 1,79 ± 0,44 | 2,24 ± 0,39 |
| 18:3 n3 | 4,43 ± 0,62 ^a | 3,25 ± 0,42 ^b | 2,74 ± 0,41 ^b |
| 20:0 | 0,42 ± 0,13 | 0,37 ± 0,09 | 0,33 ± 0,7 |
| 20:2 n6 | 4,05 ± 0,91 | 4,50 ± 1,36 | 3,32 ± 1,10 |
| 20:3 n3 | 4,63 ± 0,86 ^a | 10,13 ± 1,78 ^b | 11,25 ± 2,3 ^b |
| 20:4 n6 | 212,21 ± 8,45 ^a | 191,96 ± 18,63 ^b | 186,84 ± 11,99 ^b |
| 20:5 n3 | 2,32 ± 0,31 ^a | 3,25 ± 0,77 ^b | 3,74 ± 0,51 ^b |
| 22:5 n3 | 6,41 ± 0,66 ^a | 8,03 ± 1,45 ^b | 7,83 ± 1,11 ^{a,b} |
| 22:6 n3 | 54,28 ± 13,92 | 50,05 ± 9,61 | 52,17 ± 7,50 |
| Sonstige | 14,98 ± 1,57 | 15,20 ± 2,82 | 15,42 ± 2,40 |
| | | Fettsäurenanteile | |
| SFA | 40,81 ± 0,96 ^a | 36,50 ± 2,08 ^b | 34,35 ± 1,16 ^c |
| MUFA | 7,51 ± 0,59 ^a | 10,92 ± 2,03 ^b | 11,91 ± 1,96 ^b |
| PUFA | 51,55 ± 0,59 ^a | 47,75 ± 2,23 ^b | 45,00 ± 3,11 ^b |
| CLA | 0,10 ± 0,13 ^a | 0,26 ± 0,10 ^a | 0,56 ± 0,19 ^b |
| TFA | 0,94 ± 0,67 ^a | 41,18 ± 5,87 ^b | 73,52 ± 13,89 ^c |
| | | Fettsäurenindizes | |
| 16:0/16:1 | 34,27 ± 5,14 ^a | 17,52 ± 4,28 ^b | 13,54 ± 5,15 ^b |
| 18:0/18:1 | 5,01 ± 0,64 ^a | 3,45 ± 1,14 ^b | 2,95 ± 1,09 ^b |
| Δ9-DI | 0,16 ± 0,01 ^a | 0,23 ± 0,04 ^b | 0,25 ± 0,03 ^b |

a, b, c – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

Tabelle A-15: Fettsäurenverteilung in der Leber nach Geschlecht und Gruppen [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | | |
|------------|-----------|--------|-----------------------|--------|--------|--------|--|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | |
| 12:0 | 1,29 | 1,39 | 0,69 | 0,71 | 0,73 | 0,78 | |
| 14:0 | 2,48 | 2,21 | 3,06 | 2,11 | 30,3 | 2,36 | |
| 16:0 | 157,39 | 138,32 | 169,50 | 118,87 | 168,60 | 118,56 | |
| 16:1 n7 | 5,19 | 3,66 | 12,09 | 5,80 | 13,72 | 8,09 | |
| 18:0 | 184,85 | 220,20 | 130,16 | 206,80 | 118,65 | 182,42 | |
| 18:1 c9 | 39,99 | 41,44 | 53,18 | 46,79 | 56,35 | 51,71 | |
| 18:1 c11 | 22,75 | 16,66 | 41,97 | 23,87 | 37,27 | 26,57 | |
| 18:1 c12 | 0,02 | 0,01 | 4,35 | 2,73 | 9,38 | 6,38 | |
| 18:1 t11 | 0,50 | 0,32 | 11,03 | 10,44 | 17,82 | 18,26 | |
| 18:1 t12 | 0,16 | 0,06 | 32,92 | 25,48 | 60,32 | 45,04 | |
| 18:2 n6 | 184,26 | 162,57 | 161,01 | 152,10 | 127,10 | 140,81 | |
| 18:2 (CLA) | 0,23 | 0,14 | 3,11 | 1,49 | 6,38 | 3,66 | |
| 18:3 n6 | 1,29 | 2,36 | 1,57 | 2,01 | 2,08 | 2,40 | |
| 18:3 n3 | 4,83 | 4,03 | 3,36 | 3,13 | 2,77 | 2,71 | |
| 20:0 | 0,50 | 0,34 | 0,44 | 0,30 | 0,37 | 0,29 | |
| 20:1 n9 | 1,25 | 0,97 | 1,66 | 0,81 | 1,28 | 0,80 | |
| 20:2 n6 | 4,71 | 3,39 | 5,73 | 3,27 | 4,27 | 2,37 | |
| 20:3 n3 | 4,68 | 4,58 | 11,06 | 9,19 | 13,10 | 9,41 | |
| 20:4 n6 | 217,54 | 206,89 | 181,28 | 202,64 | 178,42 | 195,26 | |
| 20:5 n3 | 2,27 | 2,38 | 3,03 | 3,48 | 3,92 | 3,55 | |
| 22:5 n3 | 6,32 | 6,49 | 9,27 | 6,80 | 8,80 | 6,85 | |
| 22:6 n3 | 41,81 | 66,74 | 41,94 | 58,17 | 46,57 | 57,78 | |
| Sonstige | 15,14 | 14,83 | 17,35 | 13,06 | 17,03 | 13,83 | |
| | | | Fettsäurenanteile (%) | | | | |
| SFA | 39,97 | 41,97 | 35,27 | 37,72 | 33,74 | 34,97 | |
| MUFA | 7,87 | 7,15 | 12,76 | 9,07 | 13,28 | 10,54 | |
| PUFA | 52,01 | 51,09 | 46,54 | 48,97 | 43,18 | 46,18 | |
| CLA | 0,03 | 0,02 | 0,35 | 0,17 | 0,71 | 0,41 | |
| TFA | 0,13 | 0,08 | 5,08 | 4,07 | 9,08 | 7,28 | |
| | | | Fettsäurenindizes | | | | |
| 16:0/16:1 | 30,37 | 38,19 | 14,18 | 20,87 | 12,36 | 14,73 | |
| 18:0/18:1 | 4,63 | 5,40 | 2,45 | 4,45 | 2,15 | 3,74 | |
| Δ9-DI | 0,16 | 0,15 | 0,26 | 0,19 | 0,27 | 0,22 | |

Tabelle A-16: Fettsäurenverteilung in den Nieren nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | | |
|------------|-----------|--------|-----------------------|--------|--------|--------|--|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | |
| 10:0 | 0,61 | 0,90 | 0,00 | 1,52 | 0,41 | 1,09 | |
| 12:0 | 2,32 | 3,05 | 2,14 | 4,23 | 2,53 | 3,16 | |
| 14:0 | 9,15 | 7,82 | 8,25 | 10,25 | 10,73 | 9,97 | |
| 14:1 | 0,61 | 0,60 | 0,25 | 0,25 | 0,34 | 0,31 | |
| 16:0 | 195,32 | 183,04 | 192,70 | 186,01 | 205,17 | 191,56 | |
| 16:1 n7 | 23,58 | 14,55 | 18,55 | 21,75 | 30,10 | 23,48 | |
| 18:0 | 112,55 | 125,94 | 126,35 | 102,51 | 93,33 | 102,11 | |
| 18:1 c9 | 130,00 | 112,79 | 102,75 | 126,91 | 123,45 | 117,56 | |
| 18:1 c11 | 22,34 | 24,99 | 27,02 | 28,90 | 35,87 | 36,06 | |
| 18:1 c12 | 0,10 | 0,13 | 3,01 | 3,93 | 9,98 | 8,68 | |
| 18:1 t11 | 0,30 | 0,41 | 5,80 | 6,99 | 15,43 | 14,62 | |
| 18:1 t12 | 0,00 | 0,12 | 12,85 | 11,78 | 27,47 | 24,26 | |
| 18:2 n6 | 198,85 | 187,44 | 164,12 | 199,50 | 166,02 | 167,07 | |
| 18:2 (CLA) | 0,36 | 0,37 | 3,38 | 2,22 | 8,53 | 6,94 | |
| 18:3 n6 | 0,59 | 0,76 | 0,27 | 0,92 | 0,36 | 0,82 | |
| 18:3 n3 | 10,25 | 7,54 | 5,40 | 9,82 | 7,76 | 6,92 | |
| 20:0 | 1,27 | 1,59 | 1,38 | 1,49 | 1,11 | 1,49 | |
| 20:1 n9 | 1,92 | 1,94 | 1,45 | 1,79 | 1,45 | 1,54 | |
| 20:2 n6 | 3,92 | 4,66 | 3,68 | 3,59 | 2,19 | 2,53 | |
| 20:3 n3 | 4,80 | 6,39 | 7,31 | 5,94 | 5,74 | 5,89 | |
| 20:4 n6 | 141,90 | 164,08 | 177,88 | 129,39 | 122,64 | 133,05 | |
| 22:5 n3 | 2,66 | 3,39 | 2,61 | 2,45 | 1,77 | 2,18 | |
| 22:6 n3 | 13,35 | 20,90 | 14,48 | 16,66 | 10,63 | 16,77 | |
| Sonstige | 23,34 | 26,86 | 19,72 | 19,84 | 17,31 | 21,80 | |
| | | | Fettsäurenanteile (%) | | | | |
| SFA | 38,80 | 37,95 | 37,18 | 35,66 | 36,20 | 36,03 | |
| MUFA | 17,71 | 17,59 | 19,66 | 20,68 | 22,60 | 21,14 | |
| PUFA | 43,33 | 44,16 | 40,66 | 41,16 | 35,36 | 37,42 | |
| CLA | 0,04 | 0,04 | 0,36 | 0,25 | 0,95 | 0,77 | |
| TFA | 0,13 | 0,15 | 2,09 | 2,23 | 4,90 | 4,56 | |
| | | | Fettsäurenindizes | | | | |
| 14:0/14:1 | 15,00 | 13,04 | 33,00 | 41,46 | 31,95 | 32,16 | |
| 16:0/16:1 | 8,28 | 12,58 | 10,39 | 8,55 | 6,82 | 8,16 | |
| 18:0/18:1 | 0,87 | 1,12 | 1,23 | 0,81 | 0,76 | 0,87 | |
| Δ9-DI | 0,37 | 0,34 | 0,32 | 0,39 | 0,40 | 0,39 | |

Tabelle A-17: Fettsäurenverteilung im Herz nach Geschlecht und Gruppen [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 10:0 | 0,43 | 0,25 | 0,60 | 0,76 | 0,86 | 0,60 |
| 12:0 | 1,59 | 1,34 | 2,05 | 2,72 | 2,28 | 1,22 |
| 14:0 | 3,28 | 2,57 | 4,17 | 4,07 | 7,27 | 3,67 |
| 14:1 | 0,15 | 0,25 | 0,12 | 0,09 | 0,20 | 0,12 |
| 16:0 | 107,43 | 99,88 | 110,56 | 108,52 | 136,79 | 113,60 |
| 16:1 n7 | 3,85 | 2,54 | 5,27 | 4,49 | 9,98 | 6,10 |
| 18:0 | 188,38 | 201,09 | 150,14 | 160,60 | 127,88 | 133,56 |
| 18:1 c9 | 42,58 | 34,62 | 46,86 | 46,66 | 70,53 | 56,44 |
| 18:1 c11 | 31,06 | 30,62 | 40,78 | 38,06 | 43,38 | 44,03 |
| 18:1 c12 | 0,14 | 0,16 | 3,91 | 3,65 | 9,12 | 7,89 |
| 18:1 t11 | 0,56 | 0,50 | 12,64 | 11,80 | 21,27 | 18,20 |
| 18:1 t12 | 0,37 | 0,25 | 21,46 | 20,00 | 34,32 | 31,82 |
| 18:2 n-6 | 222,21 | 197,67 | 239,88 | 212,79 | 196,66 | 223,55 |
| 18:2 (CLA) | 0,27 | 0,30 | 1,85 | 1,00 | 3,79 | 2,19 |
| 18:3 n6 | 0,27 | 0,31 | 0,28 | 0,35 | 0,30 | 0,29 |
| 18:3 n3 | 3,65 | 3,20 | 3,61 | 3,90 | 4,44 | 2,67 |
| 20:0 | 1,26 | 1,18 | 1,08 | 1,09 | 1,04 | 0,96 |
| 20:1 n9 | 1,70 | 1,53 | 1,43 | 1,49 | 1,57 | 1,53 |
| 20:2 n6 | 3,82 | 3,34 | 2,60 | 2,50 | 1,85 | 2,05 |
| 20:3 n3 | 4,05 | 4,23 | 4,24 | 4,33 | 3,67 | 4,39 |
| 20:4 n6 | 166,95 | 183,70 | 145,20 | 153,97 | 126,29 | 145,82 |
| 20:5 n3 | 0,94 | 0,82 | 0,70 | 0,66 | 0,53 | 0,73 |
| 22:5 n3 | 15,54 | 14,74 | 15,17 | 13,79 | 1,01 | 12,90 |
| 22:6 n3 | 84,10 | 101,58 | 72,98 | 91,15 | 69,70 | 70,02 |
| Sonstige | 15,05 | 13,32 | 11,76 | 12,00 | 15,24 | 14,49 |
| | Fettsäurenanteile (%) | | | | | |
| SFA | 34,87 | 35,23 | 30,90 | 31,91 | 32,17 | 29,42 |
| MUFA | 9,04 | 7,96 | 11,10 | 10,65 | 15,08 | 13,12 |
| PUFA | 55,89 | 56,65 | 53,90 | 53,70 | 46,05 | 51,46 |
| CLA | 0,01 | 0,01 | 0,13 | 0,07 | 0,32 | 0,16 |
| TFA | 0,17 | 0,14 | 3,90 | 3,62 | 6,27 | 5,76 |
| | Fettsäurenindizes | | | | | |
| 14:0/14:1 | 22,32 | 10,47 | 36,19 | 43,44 | 35,68 | 31,24 |
| 16:0/16:1 | 27,92 | 36,38 | 20,98 | 24,16 | 13,71 | 18,63 |
| 18:0/18:1 | 4,42 | 5,81 | 3,20 | 3,44 | 1,81 | 2,37 |
| Δ9-DI | 0,21 | 0,18 | 0,26 | 0,25 | 0,31 | 0,30 |

Tabelle A-18: Fettsäurenverteilung im Thymus nach Geschlecht und Gruppen [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|------------|-----------------------|--------|--------|--------|---------|--------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 10:0 | 0,30 | 0,17 | 0,35 | 0,43 | 1,25 | 0,87 |
| 12:0 | 1,77 | 1,88 | 2,67 | 2,84 | 2,58 | 3,28 |
| 14:0 | 12,79 | 13,56 | 17,62 | 13,77 | 16,06 | 14,16 |
| 14:1 | 0,39 | 0,31 | 0,55 | 0,50 | 0,69 | 0,33 |
| 16:0 | 218,97 | 214,97 | 252,38 | 226,55 | 243,05 | 226,35 |
| 16:1 n7 | 15,82 | 11,20 | 23,05 | 17,22 | 28,82 | 20,76 |
| 18:0 | 118,97 | 127,10 | 113,16 | 111,94 | 99,44 | 104,15 |
| 18:1 c9 | 143,60 | 140,84 | 153,27 | 133,92 | 5147,59 | 135,00 |
| 18:1 c11 | 30,99 | 27,16 | 31,55 | 36,15 | 40,39 | 44,28 |
| 18:1 c12 | 0,08 | 0,11 | 3,29 | 3,70 | 8,05 | 9,08 |
| 18:1 t11 | 0,26 | 0,41 | 5,24 | 6,19 | 10,54 | 13,51 |
| 18:1 t12 | 0,15 | 0,19 | 8,17 | 9,47 | 17,60 | 20,44 |
| 18:2 n6 | 161,88 | 188,85 | 130,71 | 144,40 | 113,61 | 122,82 |
| 18:2 (CLA) | 0,35 | 0,55 | 2,78 | 2,87 | 7,25 | 7,27 |
| 18:3 n6 | 0,37 | 0,48 | 0,36 | 0,50 | 0,49 | 0,58 |
| 18:3 n3 | 6,44 | 6,89 | 5,59 | 6,41 | 4,75 | 5,14 |
| 20:0 | 1,54 | 2,25 | 1,49 | 1,55 | 1,20 | 1,30 |
| 20:1 n9 | 10,12 | 10,05 | 8,42 | 9,95 | 8,44 | 10,38 |
| 20:2 n6 | 13,24 | 10,20 | 8,81 | 9,98 | 8,71 | 8,77 |
| 20:3 n3 | 8,09 | 8,16 | 6,28 | 7,81 | 6,40 | 7,95 |
| 20:4 n6 | 115,66 | 96,86 | 89,38 | 109,99 | 93,35 | 109,39 |
| 20:5 n3 | 0,86 | 0,88 | 0,69 | 0,71 | 0,56 | 0,71 |
| 22:5 n3 | 3,95 | 4,37 | 2,84 | 3,23 | 2,47 | 2,94 |
| 22:6 n3 | 5,79 | 8,54 | 4,44 | 6,51 | 4,44 | 6,30 |
| Sonstige | 26,75 | 22,71 | 26,02 | 33,34 | 31,91 | 24,21 |
| | Fettsäurenanteile (%) | | | | | |
| SFA | 41,53 | 41,74 | 44,77 | 42,00 | 42,49 | 40,69 |
| MUFA | 22,80 | 21,48 | 25,10 | 23,04 | 26,71 | 24,87 |
| PUFA | 35,35 | 36,53 | 28,01 | 32,50 | 26,33 | 29,51 |
| CLA | 0,04 | 0,06 | 0,31 | 0,32 | 0,81 | 0,82 |
| TFA | 0,28 | 0,19 | 1,81 | 2,15 | 3,66 | 4,11 |
| | Fettsäurenindizes | | | | | |
| 14:0/14:1 | 32,79 | 44,26 | 31,97 | 27,77 | 23,19 | 42,70 |
| 16:0/16:1 | 13,84 | 19,20 | 10,95 | 13,15 | 8,43 | 10,90 |
| 18:0/18:1 | 0,83 | 0,90 | 0,74 | 0,84 | 0,67 | 0,77 |
| Δ9-DI | 0,35 | 0,34 | 0,35 | 0,35 | 0,38 | 0,37 |

Tabelle A-19: Fettsäurenverteilung im Gehirn nach Geschlecht und Gruppen [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | | |
|------------|-----------|--------|-----------------------|--------|--------|--------|--|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | |
| 12:0 | 0,67 | 1,60 | 0,49 | 0,94 | 1,87 | 1,42 | |
| 14:0 | 2,26 | 2,05 | 1,59 | 1,79 | 2,05 | 1,90 | |
| 16:0 | 200,66 | 196,81 | 199,42 | 197,87 | 199,41 | 198,56 | |
| 16:1 n7 | 5,24 | 4,37 | 4,68 | 4,73 | 5,10 | 5,07 | |
| 18:0 | 186,49 | 188,00 | 185,74 | 186,73 | 184,25 | 187,36 | |
| 18:1 c9 | 168,98 | 167,28 | 160,33 | 172,81 | 153,59 | 172,14 | |
| 18:1 c11 | 38,83 | 32,71 | 36,06 | 37,83 | 34,56 | 38,83 | |
| 18:1 c12 | 0,00 | 0,00 | 0,16 | 0,25 | 0,45 | 0,54 | |
| 18:1 t11 | 0,10 | 0,32 | 0,33 | 0,56 | 0,60 | 0,93 | |
| 18:1 t12 | 0,00 | 0,00 | 0,60 | 0,63 | 1,13 | 1,53 | |
| 18:2 n-6 | 19,87 | 12,20 | 10,64 | 10,76 | 10,67 | 12,40 | |
| 18:2 (CLA) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |
| 20:0 | 3,73 | 3,06 | 3,23 | 2,96 | 3,19 | 3,41 | |
| 20:1 n9 | 17,40 | 15,08 | 14,37 | 14,17 | 15,28 | 17,42 | |
| 20:2 n6 | 2,25 | 1,71 | 1,88 | 1,66 | 1,87 | 1,86 | |
| 20:3 n3 | 5,63 | 5,67 | 5,55 | 5,34 | 5,47 | 5,33 | |
| 20:4 n6 | 99,85 | 97,46 | 101,22 | 100,05 | 97,09 | 95,29 | |
| 22:5 n3 | 1,82 | 1,58 | 1,57 | 1,45 | 1,37 | 1,28 | |
| 22:6 n3 | 134,33 | 139,93 | 142,99 | 144,79 | 135,90 | 140,50 | |
| Sonstige | 12,01 | 29,38 | 27,30 | 12,99 | 45,18 | 13,49 | |
| | | | Fettsäurenanteile (%) | | | | |
| SFA | 44,76 | 45,76 | 45,32 | 44,50 | 46,39 | 44,73 | |
| MUFA | 25,88 | 25,19 | 24,79 | 25,88 | 24,55 | 26,35 | |
| PUFA | 29,30 | 28,75 | 29,37 | 29,38 | 28,06 | 28,53 | |
| CLA | 0,00 | 0,04 | 0,01 | 0,03 | 0,03 | 0,06 | |
| | | | Fettsäurenindizes | | | | |
| 16:0/16:1 | 38,29 | 45,04 | 42,61 | 41,83 | 39,10 | 39,16 | |
| 18:0/18:1 | 1,10 | 1,12 | 1,16 | 1,08 | 1,20 | 1,09 | |
| Δ9-DI | 0,35 | 0,35 | 0,34 | 0,36 | 0,33 | 0,36 | |

Tabelle A-20: Fettsäurenverteilung in den Gonaden nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 10:0 | 1,60 | 4,47 | 1,49 | 5,31 | 2,30 | 3,27 |
| 12:0 | 3,53 | 10,15 | 4,89 | 11,33 | 4,58 | 8,43 |
| 14:0 | 8,68 | 16,73 | 9,30 | 15,53 | 10,07 | 14,79 |
| 14:1 | 0,61 | 0,60 | 0,24 | 0,53 | 0,32 | 0,63 |
| 16:0 | 230,92 | 187,41 | 233,24 | 180,17 | 230,27 | 180,94 |
| 16:1 n7 | 28,92 | 22,32 | 24,16 | 22,09 | 30,90 | 26,83 |
| 18:0 | 41,78 | 45,72 | 42,50 | 46,76 | 40,77 | 46,39 |
| 18:1 c9 | 145,34 | 184,08 | 132,78 | 172,75 | 134,84 | 161,36 |
| 18:1 c11 | 20,48 | 22,29 | 26,84 | 31,34 | 34,75 | 43,04 |
| 18:1 c12 | 0,09 | 0,14 | 4,16 | 6,47 | 10,63 | 15,01 |
| 18:1 t11 | 0,16 | 0,55 | 7,08 | 12,34 | 15,85 | 26,29 |
| 18:1 t12 | 0,19 | 0,26 | 7,80 | 14,85 | 19,90 | 32,36 |
| 18:2 n6 | 206,21 | 320,01 | 178,06 | 287,31 | 166,36 | 246,74 |
| 18:2 (CLA) | 0,53 | 0,71 | 3,99 | 4,26 | 10,13 | 10,05 |
| 18:3 n6 | 1,38 | 1,59 | 1,51 | 1,84 | 1,65 | 1,84 |
| 18:3 n3 | 16,28 | 23,07 | 13,57 | 22,34 | 12,33 | 17,68 |
| 20:1 n9 | 2,05 | 3,09 | 1,61 | 2,85 | 1,51 | 2,61 |
| 20:2 n6 | 2,99 | 3,89 | 2,80 | 3,38 | 2,28 | 2,82 |
| 20:3 n3 | 6,11 | 3,32 | 7,36 | 3,38 | 5,89 | 2,92 |
| 20:4 n6 | 69,55 | 33,35 | 76,59 | 25,62 | 63,81 | 27,22 |
| 20:5 n3 | 1,34 | 0,96 | 1,22 | 1,21 | 0,91 | 0,77 |
| 22:5 n6 | 85,87 | 1,70 | 95,00 | 1,96 | 76,65 | 1,84 |
| 22:5 n3 | 2,21 | 2,88 | 1,98 | 2,86 | 1,72 | 2,60 |
| 22:6 n3 | 10,46 | 6,84 | 10,53 | 7,57 | 9,41 | 7,15 |
| Sonstige | 12,31 | 14,56 | 10,87 | 15,62 | 10,82 | 15,94 |
| | Fettsäurenanteile (%) | | | | | |
| SFA | 32,82 | 30,71 | 33,27 | 30,13 | 32,82 | 29,44 |
| MUFA | 22,03 | 25,98 | 21,17 | 26,39 | 23,79 | 27,92 |
| PUFA | 44,91 | 43,01 | 43,33 | 39,77 | 37,99 | 34,69 |
| CLA | 0,06 | 0,08 | 0,44 | 0,47 | 1,13 | 1,12 |
| TFA | 0,18 | 0,22 | 1,79 | 3,22 | 4,28 | 6,83 |
| | Fettsäurenindizes | | | | | |
| 14:0/14:1 | 14,27 | 28,03 | 39,57 | 29,42 | 31,88 | 23,37 |
| 16:0/16:1 | 7,98 | 8,40 | 9,65 | 8,16 | 7,45 | 6,74 |
| 18:0/18:1 | 0,29 | 0,25 | 0,32 | 0,27 | 0,30 | 0,29 |
| Δ9-DI | 0,43 | 0,51 | 0,41 | 0,52 | 0,44 | 0,52 |

Tabelle A-21: Fettsäurenverteilung im Serum nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|------------|-----------|--------|-----------------------|--------|--------|--------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 12:0 | 6,42 | 3,51 | 6,66 | 3,00 | 12,76 | 7,28 |
| 14:0 | 4,19 | 3,18 | 5,76 | 4,29 | 5,70 | 4,44 |
| 14:1 | 1,25 | 0,85 | 1,25 | 0,71 | 1,66 | 0,80 |
| 16:0 | 195,36 | 158,88 | 171,80 | 159,04 | 168,65 | 143,54 |
| 16:1 n7 | 5,27 | 6,18 | 13,29 | 10,08 | 14,49 | 10,05 |
| 18:0 | 60,10 | 128,32 | 69,88 | 108,48 | 69,01 | 115,11 |
| 18:1 c9 | 88,85 | 109,92 | 107,92 | 110,26 | 101,41 | 98,99 |
| 18:1 c11 | 10,62 | 8,83 | 32,99 | 27,03 | 35,31 | 26,23 |
| 18:1 c12 | 0,91 | 1,05 | 6,90 | 5,49 | 12,64 | 10,55 |
| 18:1 t11 | 4,54 | 1,47 | 11,43 | 10,63 | 17,92 | 17,85 |
| 18:1 t12 | 1,95 | 1,42 | 20,51 | 18,27 | 36,19 | 31,98 |
| 18:2 n6 | 258,24 | 221,27 | 273,37 | 246,51 | 226,68 | 198,13 |
| 18:2 (CLA) | 0,63 | 0,71 | 3,86 | 2,11 | 6,74 | 4,65 |
| 18:3 n6 | 1,96 | 2,33 | 1,89 | 2,58 | 3,14 | 3,22 |
| 18:3 n3 | 8,92 | 8,34 | 6,08 | 5,35 | 3,95 | 3,03 |
| 20:0 | 2,19 | 1,14 | 1,85 | 1,14 | 0,69 | 1,21 |
| 20:1 n9 | 0,41 | 0,40 | 2,19 | 1,73 | 1,72 | 1,26 |
| 20:2 n6 | 1,80 | 2,39 | 3,79 | 2,80 | 3,05 | 1,71 |
| 20:3 n3 | 2,85 | 3,87 | 5,92 | 6,34 | 8,11 | 6,73 |
| 20:4 n6 | 159,52 | 211,31 | 91,77 | 114,41 | 100,57 | 138,01 |
| 20:5 n3 | 5,23 | 7,58 | 5,32 | 2,82 | 4,81 | 3,45 |
| 22:2 n6 | 5,05 | 5,90 | 5,91 | 6,84 | 11,75 | 12,72 |
| 22:5 n3 | 3,36 | 3,42 | 5,79 | 4,45 | 5,13 | 3,39 |
| 22:6 n3 | 22,08 | 27,35 | 16,97 | 15,65 | 17,82 | 17,43 |
| Sonstige | 34,94 | 30,18 | 29,49 | 26,07 | 38,04 | 34,63 |
| | | | Fettsäurenanteile (%) | | | |
| SFA | 33,43 | 33,60 | 30,96 | 33,15 | 31,31 | 34,25 |
| MUFA | 12,44 | 13,80 | 18,65 | 17,72 | 19,17 | 15,82 |
| PUFA | 52,57 | 51,79 | 46,02 | 45,33 | 42,25 | 43,33 |
| CLA | 0,07 | 0,07 | 0,43 | 0,23 | 0,74 | 0,52 |
| TFA | 1,49 | 0,73 | 3,95 | 3,56 | 6,53 | 6,08 |
| | | | Fettsäurenindizes | | | |
| 14:0/14:1 | 3,36 | 3,73 | 4,62 | 6,03 | 3,44 | 5,54 |
| 16:0/16:1 | 37,04 | 25,72 | 12,93 | 15,77 | 11,64 | 14,28 |
| 18:0/18:1 | 0,68 | 1,17 | 0,65 | 0,98 | 0,68 | 1,34 |
| Δ9-DI | 0,29 | 0,30 | 0,34 | 0,35 | 0,39 | 0,39 |

Tabelle A-22: Fettsäurenverteilung in den Erythrozyten nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | |
| 12:0 | 1,50 | 1,51 | 1,35 | 0,00 | 0,00 | |
| 14:0 | 2,39 | 2,224 | 2,27 | 2,05 | 2,27 | |
| 14:1 | 0,49 | 0,76 | 0,35 | 1,55 | 0,31 | |
| 16:0 | 224,50 | 212,61 | 213,95 | 234,00 | 241,96 | |
| 16:1 n7 | 2,63 | 5,00 | 5,28 | 2,70 | 4,04 | |
| 18:0 | 93,39 | 97,27 | 70,24 | 131,67 | 121,74 | |
| 18:1 c9 | 67,66 | 69,15 | 69,88 | 69,62 | 54,03 | |
| 18:1 c11 | 33,03 | 36,11 | 35,91 | 38,42 | 36,57 | |
| 18:1 c12 | 0,29 | 3,48 | 5,62 | 2,11 | 7,85 | |
| 18:1 t11 | 0,62 | 6,62 | 10,99 | 7,67 | 11,23 | |
| 18:1 t12 | 0,28 | 15,45 | 30,14 | 17,41 | 27,59 | |
| 18:2 n6 | 130,19 | 135,19 | 139,39 | 130,99 | 112,02 | |
| 18:2 (CLA) | 0,90 | 1,42 | 2,53 | 2,85 | 2,96 | |
| 18:3 n3 | 1,06 | 1,87 | 0,40 | 0,42 | 0,29 | |
| 20:0 | 1,10 | 1,40 | 0,95 | 1,44 | 0,93 | |
| 20:1 n9 | 1,68 | 2,28 | 1,47 | 1,39 | 1,06 | |
| 20:2 n6 | 7,47 | 4,84 | 5,10 | 6,10 | 4,45 | |
| 20:3 n3 | 6,09 | 5,93 | 8,25 | 6,51 | 5,76 | |
| 20:4 n6 | 228,08 | 149,44 | 196,87 | 168,93 | 196,76 | |
| 20:5 n3 | 2,45 | 1,88 | 2,13 | 1,13 | 1,60 | |
| 22:5 n3 | 28,13 | 18,88 | 20,27 | 13,27 | 18,09 | |
| 22:6 n3 | 32,21 | 21,70 | 25,58 | 16,27 | 23,18 | |
| Sonstige | 32,77 | 38,21 | 32,36 | 34,42 | 27,16 | |
| | Fettsäurenanteile (%) | | | | | |
| SFA | 38,83 | 41,24 | 35,44 | 44,41 | 43,13 | |
| MUFA | 12,09 | 14,52 | 13,96 | 13,40 | 11,79 | |
| PUFA | 48,52 | 40,92 | 45,28 | 38,72 | 40,22 | |
| CLA | 0,10 | 0,11 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | |
| TFA | 0,45 | 3,15 | 5,04 | 3,14 | 4,53 | |
| | Fettsäurenindizes | | | | | |
| 14:0/14:1 | 4,88 | 2,96 | 6,50 | 1,32 | 7,30 | |
| 16:0/16:1 | 85,20 | 42,53 | 40,53 | 86,52 | 59,84 | |
| 18:0/18:1 | 1,38 | 1,41 | 1,01 | 1,89 | 2,25 | |
| Δ9-DI | 0,24 | 0,26 | 0,28 | 0,23 | 0,21 | |

Tabelle A-23: Fettsäurenverteilung in den Fäzes nach Gruppen [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | |
|---------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | 0 % | 1 % | 2 % |
| 12:0 | 4,86 ± 0,86 ^a | 6,01 ± 0,97 ^b | 4,59 ± 0,74 ^a |
| 14:0 | 17,87 ± 1,07 | 16,75 ± 1,92 | 17,40 ± 3,83 |
| 15:0 | 33,31 ± 4,07 ^a | 26,76 ± 4,06 ^b | 26,24 ± 5,43 ^b |
| 16:0 | 175,90 ± 11,98 | 164,73 ± 9,85 | 169,18 ± 15,33 |
| 16:1 n7 | 1,99 ± 0,29 | 1,37 ± 1,05 | 1,81 ± 0,98 |
| 18:0 | 45,95 ± 8,68 | 38,33 ± 7,68 | 42,57 ± 10,98 |
| 18:1 c9 | 114,37 ± 7,87 | 117,93 ± 7,24 | 116,23 ± 12,49 |
| 18:1 c11 | 21,17 ± 3,15 ^b | 22,59 ± 2,72 ^b | 33,58 ± 5,57 ^a |
| 18:1 c12 | 7,54 ± 3,88 ^b | 9,45 ± 4,97 ^b | 15,23 ± 3,74 ^a |
| 18:1 t11 | 9,01 ± 4,22 ^a | 15,40 ± 3,76 ^b | 22,93 ± 6,97 ^b |
| 18:1 t12 | 1,80 ± 1,37 ^a | 9,93 ± 2,09 ^b | 15,47 ± 7,48 ^b |
| 18:2 n6 | 271,63 ± 23,94 | 296,04 ± 35,62 | 272,59 ± 36,89 |
| 18:2 (CLA) | 2,93 ± 0,27 ^a | 2,15 ± 0,16 ^b | 2,01 ± 0,11 ^b |
| 18:3 n3 | 23,78 ± 2,54 | 25,94 ± 3,95 | 23,40 ± 3,51 |
| 18:4 n3 | 5,62 ± 0,80 ^a | 3,55 ± 1,88 ^b | 1,63 ± 1,20 ^c |
| 20:0 | 4,51 ± 0,45 ^a | 4,24 ± 0,42 ^{a,b} | 3,93 ± 0,34 ^b |
| 20:1 n9 | 6,88 ± 0,93 | 6,04 ± 0,95 | 6,41 ± 0,62 |
| 20:4 n6 | 3,11 ± 1,10 | 2,75 ± 0,36 | 3,09 ± 0,76 |
| 22:0 | 7,01 ± 0,40 ^a | 5,95 ± 0,62 ^b | 5,39 ± 0,64 ^b |
| 24:0 | 10,20 ± 1,95 | 8,95 ± 2,27 | 8,73 ± 1,58 |
| Verzweigtkettige FS | 98,28 ± 7,37 | 87,11 ± 22,33 | 87,87 ± 14,37 |
| Sonstige | 20,99 ± 4,64 ^a | 17,22 ± 3,30 ^{a,b} | 15,23 ± 4,20 ^b |
| | Fettsäurenanteile | | |
| SFA | 45,27 ± 3,06 | 40,73 ± 4,25 | 41,26 ± 4,87 |
| MUFA | 17,23 ± 0,65 ^b | 17,80 ± 0,59 ^b | 19,60 ± 2,14 ^a |
| PUFA | 34,18 ± 2,84 | 36,90 ± 4,42 | 33,68 ± 4,54 |
| CLA | 0,55 ± 0,14 | 0,55 ± 0,13 | 0,55 ± 0,13 |
| TFA | 2,99 ± 0,67 ^a | 4,33 ± 0,84 ^{a,b} | 5,24 ± 2,38 ^b |

a, b, c – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

Tabelle A-24: Fettsäurenverteilung in den Fäzes nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Fettsäure | VA-Zulage | | | | | |
|--------------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 12:0 | 4,63 | 5,08 | 5,66 | 6,37 | 4,75 | 4,42 |
| 14:0 | 18,03 | 17,70 | 17,59 | 15,91 | 19,49 | 15,31 |
| 15 :0 | 34,46 | 32,17 | 27,28 | 26,24 | 29,19 | 23,29 |
| 16:0 | 185,21 | 166,59 | 171,79 | 157,68 | 181,56 | 156,79 |
| 16:1 n7 | 2,00 | 19,99 | 0,98 | 1,76 | 2,08 | 1,54 |
| 18:0 | 45,59 | 46,31 | 42,54 | 34,11 | 51,93 | 33,20 |
| 18:1 c9 | 109,26 | 119,48 | 113,41 | 122,44 | 117,22 | 115,23 |
| 18:1 c11 | 22,56 | 19,78 | 24,32 | 20,86 | 34,89 | 32,26 |
| 18:1 c12 | 7,86 | 7,21 | 12,58 | 6,31 | 17,88 | 12,59 |
| 18:1 t11 | 7,56 | 10,46 | 15,67 | 15,14 | 13,57 | 24,84 |
| 18:1 t12 | 2,44 | 1,15 | 11,65 | 8,21 | 14,81 | 16,12 |
| 18:2 n6 | 257,30 | 285,96 | 270,58 | 321,50 | 243,22 | 301,95 |
| 18:2 (CLA) | 2,95 | 2,91 | 2,20 | 2,10 | 2,01 | 2,01 |
| 18:3 n3 | 22,45 | 25,11 | 23,06 | 28,81 | 20,52 | 26,29 |
| 18:4 n3 | 5,58 | 5,65 | 3,97 | 3,13 | 2,13 | 1,13 |
| 20:0 | 4,58 | 4,45 | 4,48 | 4,00 | 4,16 | 3,70 |
| 20:1 n9 | 6,79 | 6,97 | 5,47 | 6,61 | 6,31 | 6,51 |
| 20:4 n6 | 3,61 | 2,62 | 2,73 | 2,76 | 2,41 | 3,77 |
| 22:0 | 6,88 | 7,14 | 6,18 | 5,72 | 5,27 | 5,51 |
| 24 :0 | 11,92 | 8,48 | 10,80 | 7,10 | 10,05 | 7,42 |
| Verzweigkettige FS | 102,89 | 93,68 | 96,95 | 77,26 | 93,20 | 82,53 |
| Sonstige | 22,40 | 19,58 | 18,70 | 15,74 | 17,61 | 12,86 |
| | Fettsäurenanteile (%) | | | | | |
| SFA | 47,15 | 43,39 | 43,34 | 38,12 | 44,99 | 37,53 |
| MUFA | 16,94 | 17,52 | 17,82 | 17,77 | 20,27 | 18,93 |
| PUFA | 32,55 | 35,82 | 33,75 | 40,05 | 30,01 | 37,35 |
| CLA | 0,55 | 0,54 | 0,55 | 0,55 | 0,55 | 0,55 |
| TFA | 30,3 | 2,95 | 4,84 | 3,82 | 4,50 | 5,97 |

Tabelle A-25: CLA-Isomerenverteilung im Rattenkörper nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | VA-Zulage | | | | | | | | | | | |
|------------------------|------------------|------------------|-------------|------------------|-------------|------------------|-------------|------------------|-------------|------------------|-------------|------------------|
| | 0 % | | | | 0,5 % | | | | 1 % | | | |
| | ♂ | | ♀ | | ♂ | | ♀ | | ♂ | ♀ | | |
| <i>t13,t15</i> | - | - | - | - | 0,001 | (0,07 %) | 0,001 | (0,08 %) | 0,002 | (0,06 %) | 0,003 | (0,07 %) |
| <i>t12,t14</i> | 0,001 | (0,46 %) | 0,001 | (0,52 %) | 0,003 | (0,16 %) | 0,003 | (0,18 %) | 0,004 | (0,11 %) | 0,004 | (0,11 %) |
| <i>t11,t13</i> | 0,004 | (1,44 %) | 0,003 | (1,11 %) | 0,005 | (0,26 %) | 0,005 | (0,30 %) | 0,007 | (0,17 %) | 0,006 | (0,16 %) |
| <i>t10,t12</i> | 0,007 | (2,23 %) | 0,003 | (1,47 %) | 0,010 | (0,56 %) | 0,010 | (0,57 %) | 0,016 | (0,41 %) | 0,016 | (0,43 %) |
| <i>t9,t11</i> | 0,016 | (5,18 %) | 0,011 | (5,07 %) | 0,045 | (2,43 %) | 0,043 | (2,56 %) | 0,076 | (1,98 %) | 0,075 | (2,05 %) |
| <i>t8,t10</i> | 0,014 | (4,43 %) | 0,009 | (3,81 %) | 0,035 | (1,90 %) | 0,035 | (2,08 %) | 0,062 | (1,60 %) | 0,058 | (1,58 %) |
| <i>t7,t9</i> | 0,006 | (1,77 %) | 0,004 | (1,56 %) | 0,047 | (2,52 %) | 0,045 | (2,67 %) | 0,077 | (1,99 %) | 0,073 | (1,99 %) |
| <i>t6,t8</i> | 0,006 | (1,86 %) | 0,004 | (1,82 %) | 0,004 | (0,22 %) | 0,005 | (0,31 %) | 0,003 | (0,08 %) | 0,002 | (0,07 %) |
| <i>12,14 (c,t/t,c)</i> | 0,002 | (0,58 %) | 0,003 | (1,54 %) | 0,008 | (0,45 %) | 0,008 | (0,46 %) | 0,015 | (0,39 %) | 0,013 | (0,36 %) |
| <i>11,13 (c,t/t,c)</i> | 0,009 | (2,87 %) | 0,007 | (2,96 %) | 0,015 | (0,81 %) | 0,013 | (0,76 %) | 0,025 | (0,66 %) | 0,020 | (0,56 %) |
| <i>t10,c12</i> | 0,015 | (4,82 %) | 0,007 | (3,24 %) | 0,021 | (1,14 %) | 0,012 | (0,71 %) | 0,018 | (0,46 %) | 0,014 | (0,39 %) |
| <i>c9,t11</i> | 0,181 | (57,95 %) | 0,130 | (57,52 %) | 1,567 | (84,50 %) | 1,418 | (84,21 %) | 3,411 | (88,51 %) | 3,255 | (89,08 %) |
| <i>t8,c10</i> | 0,007 | (2,15 %) | 0,004 | (1,69 %) | 0,021 | (1,15 %) | 0,018 | (1,06 %) | 0,050 | (1,30 %) | 0,042 | (1,15 %) |
| <i>t7,c9/t6,t8</i> | 0,007 | (2,25 %) | 0,005 | (2,37 %) | 0,012 | (0,66 %) | 0,015 | (0,86 %) | 0,019 | (0,50 %) | 0,019 | (0,53 %) |
| <i>c12,c14 ?</i> | 0,003 | (1,01 %) | 0,007 | (3,26 %) | 0,004 | (0,20 %) | 0,002 | (0,10 %) | 0,001 | (0,01 %) | 0,001 | (0,01 %) |
| <i>c11,c13</i> | 0,001 | (0,14 %) | 0,001 | (0,49 %) | 0,005 | (0,26 %) | 0,004 | (0,25 %) | 0,007 | (0,18 %) | 0,011 | (0,29 %) |
| <i>c10,c12</i> | 0,007 | (2,24 %) | 0,007 | (3,01 %) | 0,012 | (0,63 %) | 0,012 | (0,72 %) | 0,012 | (0,30 %) | 0,011 | (0,29 %) |
| <i>c9,c11</i> | 0,024 | (7,85 %) | 0,018 | (7,85 %) | 0,035 | (1,87 %) | 0,031 | (1,81 %) | 0,042 | (1,08 %) | 0,034 | (0,92 %) |
| <i>c8,c10</i> | 0,002 | (0,57 %) | 0,001 | (0,39 %) | 0,003 | (0,14 %) | 0,004 | (0,25 %) | 0,018 | (0,48 %) | 0,006 | (0,15 %) |
| <i>c7,c9 ?</i> | 0,001 | (0,20 %) | 0,001 | (0,34 %) | 0,002 | (0,09 %) | 0,001 | (0,04 %) | 0,002 | (0,04 %) | 0,002 | (0,05 %) |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | | | | |
| <i>t,t</i> | 0,05 | (17,38 %) | 0,03 | (15,35 %) | 0,15 | (8,11 %) | 0,15 | (8,76 %) | 0,25 | (6,40 %) | 0,24 | (6,46 %) |
| <i>c,t/t,c</i> | 0,22 | (70,62 %) | 0,16 | (69,33 %) | 1,65 | (88,71 %) | 1,48 | (88,07 %) | 3,54 | (91,80 %) | 3,36 | (91,82 %) |
| <i>c,c</i> | 0,04 | (12,06 %) | 0,03 | (15,40 %) | 0,06 | (3,20 %) | 0,05 | (3,11 %) | 0,07 | (1,84 %) | 0,06 | (1,73 %) |

Tabelle A-26: CLA-Isomerenverteilung im weißen und braunen Fettgewebe nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | weißes Fettgewebe | | | | | | braunes Fettgewebe | | | | | |
|---|-------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| <i>t</i> 12, <i>t</i> 14 | 0,003 | 0,003 | 0,006 | 0,006 | 0,009 | 0,011 | 0,004 | 0,004 | 0,005 | 0,005 | 0,008 | 0,008 |
| <i>t</i> 11, <i>t</i> 13 | 0,004 | 0,005 | 0,009 | 0,009 | 0,013 | 0,011 | 0,007 | 0,009 | 0,006 | 0,006 | 0,014 | 0,010 |
| <i>t</i> 10, <i>t</i> 12 | 0,008 | 0,014 | 0,028 | 0,026 | 0,046 | 0,046 | 0,026 | 0,014 | 0,020 | 0,019 | 0,038 | 0,035 |
| <i>t</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,023 | 0,028 | 0,096 | 0,087 | 0,186 | 0,172 | 0,024 | 0,039 | 0,075 | 0,080 | 0,162 | 0,172 |
| <i>t</i> 8, <i>t</i> 10 | 0,026 | 0,027 | 0,117 | 0,094 | 0,226 | 0,192 | 0,015 | 0,030 | 0,082 | 0,081 | 0,186 | 0,154 |
| <i>t</i> 7, <i>t</i> 9 | 0,007 | 0,008 | 0,119 | 0,103 | 0,239 | 0,204 | 0,018 | 0,009 | 0,077 | 0,088 | 0,185 | 0,155 |
| <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,008 | 0,010 | 0,009 | 0,007 | 0,007 | 0,009 | 0,014 | 0,016 | 0,010 | 0,020 | 0,014 | 0,009 |
| 12,14 (<i>c</i> , <i>t</i> / <i>t</i> , <i>c</i>) | 0,002 | 0,002 | 0,013 | 0,015 | 0,025 | 0,025 | 0,002 | 0,004 | 0,010 | 0,009 | 0,017 | 0,018 |
| 11,13 (<i>c</i> , <i>t</i> / <i>t</i> , <i>c</i>) | 0,007 | 0,010 | 0,025 | 0,027 | 0,053 | 0,039 | 0,009 | 0,011 | 0,017 | 0,018 | 0,036 | 0,032 |
| <i>t</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,024 | 0,037 | 0,031 | 0,035 | 0,062 | 0,049 | 0,021 | 0,026 | 0,042 | 0,034 | 0,041 | 0,031 |
| <i>c</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,357 | 0,447 | 4,874 | 4,515 | 11,875 | 11,433 | 0,348 | 0,399 | 2,762 | 2,686 | 7,235 | 6,673 |
| <i>t</i> 8, <i>c</i> 10 | 0,003 | 0,003 | 0,076 | 0,075 | 0,185 | 0,125 | 0,005 | 0,005 | 0,040 | 0,045 | 0,112 | 0,080 |
| <i>t</i> 7, <i>c</i> 9/ <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,016 | 0,016 | 0,031 | 0,028 | 0,095 | 0,038 | 0,010 | 0,012 | 0,026 | 0,029 | 0,017 | 0,019 |
| <i>c</i> 12, <i>c</i> 14 ? | 0,001 | 0,001 | 0,003 | 0,002 | 0,002 | 0,001 | 0,005 | 0,006 | 0,003 | 0,003 | 0,003 | 0,006 |
| <i>c</i> 11, <i>c</i> 13 | 0,002 | 0,002 | 0,015 | 0,011 | 0,012 | 0,017 | 0,001 | 0,002 | 0,011 | 0,011 | 0,017 | 0,017 |
| <i>c</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,002 | 0,001 | 0,002 | 0,005 | 0,004 | 0,004 | 0,001 | 0,002 | 0,005 | 0,007 | 0,003 | 0,006 |
| <i>c</i> 9, <i>c</i> 11 | 0,039 | 0,034 | 0,076 | 0,065 | 0,107 | 0,074 | 0,035 | 0,041 | 0,058 | 0,053 | 0,075 | 0,065 |
| <i>c</i> 8, <i>c</i> 10 ? | 0,001 | 0,002 | 0,002 | 0,003 | 0,872 | 0,026 | 0,006 | 0,004 | 0,010 | 0,012 | 0,019 | 0,015 |
| <i>c</i> 7, <i>c</i> 9 ? | 0,003 | 0,003 | - | - | - | - | 0,001 | 0,002 | - | - | - | - |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | | | | |
| <i>t</i> , <i>t</i> | 0,08 | 0,09 | 0,38 | 0,33 | 0,73 | 0,65 | 0,11 | 0,12 | 0,28 | 0,30 | 0,61 | 0,54 |
| <i>c</i> , <i>t</i> / <i>t</i> , <i>c</i> | 0,41 | 0,52 | 5,05 | 4,70 | 12,29 | 10,68 | 0,39 | 0,46 | 2,90 | 2,82 | 7,46 | 6,85 |
| <i>c</i> , <i>c</i> | 0,05 | 0,04 | 0,10 | 0,09 | 0,16 | 0,12 | 0,05 | 0,06 | 0,09 | 0,08 | 0,12 | 0,11 |

Tabelle A-27: CLA-Isomerenverteilung im Herz und den Nieren nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | Herz | | | | | | Nieren | | | | | |
|------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| <i>t13,t15</i> | - | - | 0,011 | 0,010 | 0,020 | 0,024 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t12,t14</i> | 0,001 | 0,001 | 0,006 | 0,006 | 0,013 | 0,014 | 0,001 | 0,001 | 0,005 | 0,010 | 0,008 | 0,005 |
| <i>t11,t13</i> | 0,005 | 0,006 | 0,022 | 0,018 | 0,030 | 0,035 | 0,005 | 0,005 | 0,008 | 0,006 | 0,031 | 0,017 |
| <i>t10,t12</i> | 0,003 | 0,004 | 0,101 | 0,008 | 0,021 | 0,013 | 0,008 | 0,006 | 0,017 | 0,011 | 0,045 | 0,031 |
| <i>t9,t11</i> | 0,030 | 0,035 | 0,159 | 0,084 | 0,288 | 0,190 | 0,020 | 0,023 | 0,097 | 0,076 | 0,172 | 0,146 |
| <i>t8,t10</i> | 0,002 | 0,002 | 0,023 | 0,010 | 0,086 | 0,043 | 0,010 | 0,008 | 0,060 | 0,036 | 0,112 | 0,092 |
| <i>t7,t9</i> | 0,001 | 0,001 | 0,033 | 0,026 | 0,116 | 0,099 | 0,004 | 0,003 | 0,088 | 0,065 | 0,137 | 0,128 |
| <i>t6,t8</i> | - | - | - | - | - | - | 0,001 | 0,001 | 0,006 | 0,006 | 0,001 | 0,002 |
| <i>12,14 (c,t/t,c)</i> | 0,003 | 0,003 | 0,054 | 0,040 | 0,061 | 0,087 | 0,007 | 0,008 | 0,015 | 0,012 | 0,022 | 0,024 |
| <i>11,13 (c,t/t,c)</i> | 0,018 | 0,015 | 0,039 | 0,031 | 0,047 | 0,052 | 0,015 | 0,013 | 0,026 | 0,018 | 0,055 | 0,038 |
| <i>t10,c12</i> | 0,017 | 0,010 | 0,064 | 0,012 | 0,019 | 0,012 | 0,017 | 0,017 | 0,023 | 0,009 | 0,048 | 0,016 |
| <i>c9,t11</i> | 0,103 | 0,103 | 1,170 | 0,603 | 2,850 | 1,410 | 0,222 | 0,225 | 2,890 | 1,879 | 7,670 | 6,262 |
| <i>t8,c10</i> | 0,000 | 0,000 | 0,018 | 0,010 | 0,063 | 0,105 | 0,019 | 0,016 | 0,058 | 0,033 | 0,104 | 0,083 |
| <i>t7,c9/t6,t8</i> | 0,018 | 0,026 | 0,032 | 0,021 | 0,012 | 0,019 | 0,006 | 0,006 | 0,025 | 0,015 | 0,055 | 0,042 |
| <i>c10,c12</i> | 0,005 | 0,009 | 0,006 | 0,008 | 0,009 | 0,003 | 0,004 | 0,004 | 0,007 | 0,007 | 0,007 | 0,007 |
| <i>c9,c11</i> | 0,044 | 0,067 | 0,048 | 0,084 | 0,078 | 0,043 | 0,024 | 0,028 | 0,044 | 0,035 | 0,054 | 0,040 |
| <i>c8,c10</i> | 0,011 | 0,012 | 0,033 | 0,015 | 0,023 | 0,012 | 0,003 | 0,003 | 0,002 | 0,002 | 0,001 | 0,003 |
| <i>c7,c9 ?</i> | 0,004 | 0,004 | 0,037 | 0,014 | 0,051 | 0,031 | 0,002 | 0,004 | 0,006 | 0,005 | 0,006 | 0,006 |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | | | | |
| <i>t,t</i> | 0,04 | 0,05 | 0,36 | 0,16 | 0,57 | 0,42 | 0,05 | 0,05 | 0,29 | 0,21 | 0,51 | 0,42 |
| <i>c,t/t,c</i> | 0,16 | 0,16 | 1,37 | 0,72 | 3,05 | 1,68 | 0,29 | 0,29 | 3,04 | 1,97 | 7,95 | 6,46 |
| <i>c,c</i> | 0,06 | 0,09 | 0,12 | 0,12 | 0,16 | 0,09 | 0,03 | 0,04 | 0,06 | 0,05 | 0,07 | 0,06 |

Tabelle A-28: CLA-Isomerenverteilung im Thymus und in den Gonaden nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | Thymus | | | | | | Gonaden | | | | | |
|--------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| <i>t13,t15</i> | - | - | 0,007 | 0,008 | 0,020 | 0,019 | - | - | 0,001 | 0,001 | 0,003 | 0,002 |
| <i>t12,t14</i> | 0,001 | 0,002 | 0,010 | 0,010 | 0,020 | 0,020 | 0,003 | 0,004 | 0,007 | 0,006 | 0,012 | 0,006 |
| <i>t11,t13</i> | 0,003 | 0,005 | 0,007 | 0,008 | 0,020 | 0,018 | 0,003 | 0,006 | 0,010 | 0,008 | 0,008 | 0,010 |
| <i>t10,t12</i> | 0,005 | 0,008 | 0,012 | 0,016 | 0,030 | 0,036 | 0,007 | 0,014 | 0,017 | 0,020 | 0,036 | 0,038 |
| <i>t9,t11</i> | 0,030 | 0,059 | 0,079 | 0,079 | 0,222 | 0,230 | 0,019 | 0,033 | 0,080 | 0,087 | 0,157 | 0,144 |
| <i>t8,t10</i> | 0,007 | 0,010 | 0,070 | 0,079 | 0,136 | 0,129 | 0,016 | 0,021 | 0,070 | 0,081 | 0,132 | 0,151 |
| <i>t7,t9</i> | 0,002 | 0,004 | 0,058 | 0,048 | 0,127 | 0,102 | 0,015 | 0,022 | 0,078 | 0,090 | 0,157 | 0,152 |
| <i>t6,t8</i> | 0,002 | 0,005 | - | - | - | - | 0,006 | 0,012 | 0,009 | 0,004 | 0,004 | 0,009 |
| | | | | | | | | | | | | |
| 12,14 (<i>c,t/t,c</i>) | 0,002 | 0,006 | 0,012 | 0,013 | 0,031 | 0,036 | 0,001 | 0,003 | 0,009 | 0,010 | 0,021 | 0,019 |
| 11,13 (<i>c,t/t,c</i>) | 0,023 | 0,019 | 0,087 | 0,085 | 0,194 | 0,186 | 0,007 | 0,011 | 0,021 | 0,022 | 0,045 | 0,041 |
| <i>t10,c12</i> | 0,029 | 0,020 | 0,022 | 0,012 | 0,029 | 0,024 | 0,019 | 0,037 | 0,023 | 0,016 | 0,034 | 0,049 |
| <i>c9,t11</i> | 0,148 | 0,246 | 2,174 | 2,271 | 6,107 | 6,238 | 0,324 | 0,456 | 3,510 | 3,808 | 9,236 | 9,151 |
| <i>t8,c10</i> | 0,005 | 0,008 | 0,047 | 0,020 | 0,025 | 0,043 | 0,002 | 0,002 | 0,031 | 0,030 | 0,089 | 0,053 |
| <i>t7,c9/t6,t8</i> | 0,032 | 0,053 | 0,041 | 0,054 | 0,073 | 0,072 | 0,014 | 0,014 | 0,015 | 0,020 | 0,044 | 0,047 |
| | | | | | | | | | | | | |
| <i>c12,c14 ?</i> | - | - | 0,005 | 0,006 | 0,011 | 0,008 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c11,c13</i> | 0,004 | 0,007 | 0,005 | 0,005 | 0,004 | 0,005 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c10,c12</i> | 0,003 | 0,005 | 0,080 | 0,088 | 0,121 | 0,109 | 0,031 | 0,028 | 0,021 | 0,014 | 0,019 | 0,049 |
| <i>c9,c11</i> | 0,054 | 0,094 | 0,052 | 0,058 | 0,072 | 0,091 | 0,057 | 0,047 | 0,082 | 0,035 | 0,112 | 0,104 |
| <i>c8,c10 ?</i> | - | - | 0,011 | 0,007 | 0,005 | 0,007 | 0,007 | 0,001 | 0,009 | 0,013 | 0,017 | 0,023 |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | | | | |
| <i>t,t</i> | 0,05 | 0,09 | 0,24 | 0,25 | 0,57 | 0,55 | 0,07 | 0,11 | 0,27 | 0,30 | 0,51 | 0,51 |
| <i>c,t/t,c</i> | 0,24 | 0,35 | 2,38 | 2,46 | 6,46 | 6,60 | 0,37 | 0,52 | 3,61 | 3,91 | 9,47 | 9,36 |
| <i>c,c</i> | 0,06 | 0,11 | 0,15 | 0,16 | 0,21 | 0,22 | 0,09 | 0,08 | 0,11 | 0,06 | 0,15 | 0,18 |

Tabelle A-29: CLA-Isomerenverteilung im Muskel und Hirn nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | Muskel | | | | | | Hirn | | | | | |
|---|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|---|-------|---|-----|---|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| <i>t</i> 12, <i>t</i> 14 | 0,003 | 0,003 | 0,002 | 0,002 | 0,008 | 0,012 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 11, <i>t</i> 13 | 0,004 | 0,006 | 0,010 | 0,010 | 0,024 | 0,024 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 10, <i>t</i> 12 | 0,008 | 0,012 | 0,031 | 0,029 | 0,037 | 0,034 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,017 | 0,025 | 0,072 | 0,064 | 0,150 | 0,142 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 8, <i>t</i> 10 | 0,011 | 0,012 | 0,061 | 0,055 | 0,150 | 0,126 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 7, <i>t</i> 9 | 0,013 | 0,016 | 0,093 | 0,076 | 0,175 | 0,152 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,008 | 0,012 | 0,013 | 0,013 | 0,012 | 0,014 | - | - | - | - | - | - |
| 12,14 (<i>c</i> , <i>t</i> / <i>t</i> , <i>c</i>) | 0,002 | 0,002 | 0,011 | 0,010 | 0,019 | 0,022 | - | - | - | - | - | - |
| 11,13 (<i>c</i> , <i>t</i> / <i>t</i> , <i>c</i>) | 0,009 | 0,010 | 0,025 | 0,020 | 0,032 | 0,033 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,018 | 0,025 | 0,302 | 0,026 | 0,053 | 0,045 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,231 | 0,310 | 2,136 | 2,017 | 5,726 | 5,199 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 8, <i>c</i> 10 | 0,003 | 0,003 | 0,049 | 0,042 | 0,071 | 0,055 | - | - | - | - | - | - |
| <i>t</i> 7, <i>c</i> 9/ <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,008 | 0,010 | 0,019 | 0,019 | 0,037 | 0,030 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i> 12, <i>c</i> 14 ? | 0,004 | 0,007 | 0,005 | 0,004 | 0,003 | 0,003 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i> 11, <i>c</i> 13 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,029 | 0,031 | 0,024 | 0,020 | 0,024 | 0,019 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i> 9, <i>c</i> 11 | 0,030 | 0,032 | 0,056 | 0,045 | 0,072 | 0,062 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i> 8, <i>c</i> 10 ? | 0,001 | 0,002 | 0,008 | 0,007 | 0,024 | 0,020 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i> 7, <i>c</i> 9 ? | 0,001 | 0,001 | 0,003 | 0,002 | 0,000 | 0,000 | - | - | - | - | - | - |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | | | | |
| <i>t</i>,<i>t</i> | 0,06 | 0,09 | 0,28 | 0,25 | 0,56 | 0,50 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i>,<i>t</i>/<i>t</i>,<i>c</i> | 0,27 | 0,36 | 2,54 | 2,13 | 5,94 | 5,38 | - | - | - | - | - | - |
| <i>c</i>,<i>c</i> | 0,07 | 0,07 | 0,09 | 0,08 | 0,12 | 0,10 | - | - | - | - | - | - |

Tabelle A-30: CLA-Isomerenverteilung im Karkass nach Geschlecht und Gruppe bzw. nach Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | VA-Zulage | | | | | | | | |
|------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | 0 % | 0,5 % | 1 % |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | | |
| <i>t13,t15</i> | - | - | 0,003 | 0,003 | 0,006 | 0,006 | - ^a | 0,003 ± 0,000 ^b | 0,006 ± 0,001 ^c |
| <i>t12,t14</i> | 0,003 | 0,003 | 0,006 | 0,007 | 0,009 | 0,008 | 0,003 ± 0,000 ^a | 0,006 ± 0,001 ^b | 0,008 ± 0,001 ^c |
| <i>t11,t13</i> | 0,011 | 0,006 | 0,009 | 0,011 | 0,011 | 0,010 | 0,008 ± 0,005 | 0,010 ± 0,002 | 0,011 ± 0,002 |
| <i>t10,t12</i> | 0,017 | 0,007 | 0,022 | 0,021 | 0,034 | 0,034 | 0,012 ± 0,008 ^b | 0,022 ± 0,002 ^b | 0,034 ± 0,006 ^a |
| <i>t9,t11</i> | 0,038 | 0,025 | 0,097 | 0,098 | 0,168 | 0,161 | 0,032 ± 0,010 ^a | 0,097 ± 0,003 ^b | 0,164 ± 0,018 ^c |
| <i>t8,t10</i> | 0,033 | 0,020 | 0,079 | 0,081 | 0,137 | 0,125 | 0,027 ± 0,010 ^a | 0,080 ± 0,003 ^b | 0,131 ± 0,012 ^c |
| <i>t7,t9</i> | 0,012 | 0,007 | 0,096 | 0,100 | 0,158 | 0,146 | 0,010 ± 0,004 ^a | 0,098 ± 0,007 ^b | 0,152 ± 0,016 ^c |
| <i>t6,t8</i> | 0,014 | 0,009 | 0,009 | 0,012 | 0,007 | 0,005 | 0,012 ± 0,004 | 0,011 ± 0,004 | 0,006 ± 0,001 |
| <i>12,14 (c,t/t,c)</i> | 0,004 | 0,008 | 0,015 | 0,016 | 0,029 | 0,025 | 0,006 ± 0,003 ^a | 0,016 ± 0,001 ^b | 0,027 ± 0,002 ^c |
| <i>11,13 (c,t/t,c)</i> | 0,021 | 0,015 | 0,027 | 0,028 | 0,049 | 0,041 | 0,018 ± 0,007 ^b | 0,027 ± 0,001 ^b | 0,045 ± 0,005 ^a |
| <i>t10,c12</i> | 0,036 | 0,015 | 0,031 | 0,027 | 0,038 | 0,030 | 0,025 ± 0,014 | 0,029 ± 0,004 | 0,034 ± 0,011 |
| <i>c9,t11</i> | 0,422 | 0,288 | 3,391 | 3,230 | 7,339 | 7,040 | 0,355 ± 0,111 ^a | 3,311 ± 0,184 ^b | 7,189 ± 0,630 ^c |
| <i>t8,c10</i> | 0,016 | 0,009 | 0,036 | 0,037 | 0,106 | 0,089 | 0,013 ± 0,005 ^a | 0,036 ± 0,005 ^b | 0,098 ± 0,010 ^c |
| <i>t7,c9/t6,t8</i> | 0,016 | 0,012 | 0,026 | 0,033 | 0,040 | 0,042 | 0,014 ± 0,003 ^a | 0,030 ± 0,006 ^b | 0,041 ± 0,007 ^b |
| <i>c12,c14 ?</i> | 0,008 | 0,018 | 0,007 | 0,003 | - | - | 0,013 ± 0,007 ^a | 0,005 ± 0,003 ^{a,b} | - ^b |
| <i>c11,c13</i> | 0,001 | 0,003 | 0,011 | 0,010 | 0,018 | 0,026 | 0,002 ± 0,001 ^a | 0,010 ± 0,001 ^b | 0,022 ± 0,005 ^c |
| <i>c10,c12</i> | 0,012 | 0,013 | 0,026 | 0,028 | 0,024 | 0,020 | 0,012 ± 0,003 ^a | 0,027 ± 0,003 ^b | 0,022 ± 0,003 ^b |
| <i>c9,c11</i> | 0,057 | 0,040 | 0,071 | 0,070 | 0,091 | 0,074 | 0,049 ± 0,015 ^a | 0,070 ± 0,006 ^{a,b} | 0,083 ± 0,011 ^b |
| <i>c8,c10</i> | 0,004 | 0,002 | 0,005 | 0,010 | 0,017 | 0,011 | 0,003 ± 0,001 ^a | 0,007 ± 0,004 ^{a,b} | 0,014 ± 0,004 ^b |
| <i>c7,c9 ?</i> | 0,001 | 0,002 | 0,004 | 0,001 | 0,004 | 0,004 | 0,002 ± 0,001 | 0,002 ± 0,002 | 0,004 ± 0,002 |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | |
| <i>t,t</i> | 0,13 | 0,08 | 0,32 | 0,33 | 0,53 | 0,49 | 0,10 ± 0,04^a | 0,33 ± 0,02^b | 0,51 ± 0,05^c |
| <i>c,t/t,c</i> | 0,52 | 0,35 | 3,53 | 3,37 | 7,60 | 7,27 | 0,43 ± 0,14^a | 1,35 ± 0,18^b | 7,43 ± 0,65^c |
| <i>c,c</i> | 0,08 | 0,08 | 0,12 | 0,12 | 0,15 | 0,14 | 0,08 ± 0,02^a | 0,12 ± 0,01^b | 0,15 ± 0,01^b |

Tabelle A-31: CLA-Isomerenverteilung in der Leber nach Geschlecht und Gruppe bzw. nach Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | VA-Zulage | | | | | | | | | |
|--|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | 0 % | | 0,5 % | 1 % |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | | | |
| <i>t</i> 12, <i>t</i> 14 | 0,002 | 0,001 | 0,007 | 0,003 | 0,012 | 0,008 | | 0,001 ± 0,001 ^a | 0,005 ± 0,002 ^b | 0,010 ± 0,003 ^c |
| <i>t</i> 11, <i>t</i> 13 | 0,004 | 0,000 | 0,016 | 0,009 | 0,029 | 0,020 | | 0,002 ± 0,001 ^a | 0,013 ± 0,006 ^b | 0,024 ± 0,009 ^c |
| <i>t</i> 10, <i>t</i> 12 | 0,004 | 0,001 | 0,009 | 0,006 | 0,017 | 0,013 | | 0,002 ± 0,002 ^a | 0,007 ± 0,002 ^b | 0,015 ± 0,003 ^c |
| <i>t</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,009 | 0,006 | 0,068 | 0,044 | 0,091 | 0,070 | | 0,008 ± 0,003 ^a | 0,056 ± 0,017 ^b | 0,080 ± 0,018 ^c |
| <i>t</i> 8, <i>t</i> 10 | 0,010 | 0,001 | 0,025 | 0,019 | 0,039 | 0,035 | | 0,006 ± 0,005 ^a | 0,022 ± 0,008 ^b | 0,037 ± 0,006 ^c |
| <i>t</i> 7, <i>t</i> 9 | 0,004 | 0,008 | 0,111 | 0,066 | 0,186 | 0,160 | | 0,006 ± 0,003 ^a | 0,089 ± 0,029 ^b | 0,173 ± 0,022 ^c |
| <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,001 | 0,001 | - | - | - | - | | 0,001 ± 0,000 ^a | - ^b | - ^b |
| 12,14 (<i>c,t/t,c</i>) | 0,001 | 0,002 | 0,040 | 0,025 | 0,066 | 0,042 | | 0,001 ± 0,001 ^a | 0,032 ± 0,010 ^b | 0,054 ± 0,018 ^c |
| 11,13 (<i>c,t/t,c</i>) | 0,008 | 0,005 | 0,067 | 0,022 | 0,104 | 0,041 | | 0,007 ± 0,002 ^a | 0,044 ± 0,026 ^b | 0,073 ± 0,038 ^b |
| <i>t</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,007 | 0,006 | 0,017 | 0,012 | 0,016 | 0,015 | | 0,006 ± 0,002 ^a | 0,015 ± 0,005 ^b | 0,015 ± 0,004 ^b |
| <i>c</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,119 | 0,075 | 2,479 | 1,175 | 5,556 | 3,086 | | 0,097 ± 0,040 ^a | 1,826 ± 0,738 ^b | 4,321 ± 1,523 ^c |
| <i>t</i> 8, <i>c</i> 10 | 0,003 | 0,002 | 0,113 | 0,043 | 0,112 | 0,069 | | 0,003 ± 0,001 ^a | 0,079 ± 0,045 ^b | 0,091 ± 0,024 ^b |
| <i>t</i> 7, <i>c</i> 9/ <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,001 | 0,002 | 0,019 | 0,012 | 0,027 | 0,022 | | 0,001 ± 0,001 ^a | 0,015 ± 0,006 ^b | 0,025 ± 0,009 ^c |
| <i>c</i> 12, <i>c</i> 14 ? | 0,001 | 0,002 | 0,020 | 0,008 | 0,008 | 0,009 | | 0,004 ± 0,002 ^a | 0,014 ± 0,010 ^b | 0,008 ± 0,002 ^{a,b} |
| <i>c</i> 11, <i>c</i> 13 | 0,008 | 0,005 | 0,008 | 0,011 | 0,006 | 0,001 | | 0,002 ± 0,000 ^a | 0,009 ± 0,006 ^b | 0,003 ± 0,003 ^a |
| <i>c</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,007 | 0,006 | 0,011 | 0,009 | 0,038 | 0,039 | | 0,028 ± 0,013 ^a | 0,010 ± 0,007 ^b | 0,039 ± 0,007 ^a |
| <i>c</i> 9, <i>c</i> 11 | 0,119 | 0,075 | 0,091 | 0,028 | 0,073 | 0,026 | | 0,010 ± 0,005 ^a | 0,060 ± 0,036 ^b | 0,049 ± 0,029 ^b |
| <i>c</i> 8, <i>c</i> 10 | - | - | 0,003 | 0,001 | 0,003 | 0,003 | | - ^a | 0,001 ± 0,001 ^b | 0,003 ± 0,000 ^c |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | | |
| <i>t,t</i> | 0,03 | 0,02 | 0,24 | 0,15 | 0,37 | 0,31 | | 0,03 ± 0,01^a | 0,19 ± 0,06^b | 0,34 ± 0,06^c |
| <i>c,t/t,c</i> | 0,14 | 0,09 | 2,74 | 1,29 | 5,88 | 3,28 | | 0,12 ± 0,04^a | 2,01 ± 0,82^b | 4,58 ± 1,60^c |
| <i>c,c</i> | 0,06 | 0,03 | 0,13 | 0,06 | 0,13 | 0,08 | | 0,04 ± 0,02^a | 0,09 ± 0,04^b | 0,10 ± 0,04^b |

a, b, c – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes (P < 0,05)

Tabelle A-32: CLA-Isomerenverteilung im Serum und in den Erythrozyten nach Geschlecht und Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | Serum | | | | | | Erythrozyten | | | | | |
|------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| <i>t12,t14</i> | 0,012 | 0,011 | 0,007 | 0,007 | 0,011 | 0,006 | - | 0,005 | 0,016 | 0,026 | 0,024 | |
| <i>t11,t13</i> | 0,017 | 0,021 | 0,014 | 0,009 | 0,031 | 0,014 | - | 0,005 | 0,008 | 0,013 | 0,012 | |
| <i>t10,t12</i> | 0,013 | 0,014 | 0,037 | 0,008 | 0,030 | 0,012 | - | 0,009 | 0,016 | 0,024 | 0,009 | |
| <i>t9,t11</i> | 0,066 | 0,090 | 0,130 | 0,048 | 0,245 | 0,105 | 0,144 | 0,034 | 0,041 | 0,099 | 0,081 | |
| <i>t8,t10</i> | 0,006 | 0,010 | 0,026 | 0,031 | 0,060 | 0,033 | - | 0,003 | 0,014 | 0,023 | 0,037 | |
| <i>t7,t9</i> | 0,008 | 0,013 | 0,129 | 0,064 | 0,152 | 0,089 | - | 0,016 | 0,023 | 0,071 | 0,082 | |
| <i>t6,t8</i> | - | - | - | - | - | - | - | 0,006 | 0,010 | 0,005 | 0,006 | |
| <i>12,14 (c,t/t,c)</i> | 0,004 | 0,011 | 0,019 | 0,012 | 0,029 | 0,020 | 0,003 | 0,005 | 0,018 | 0,030 | 0,042 | |
| <i>11,13 (c,t/t,c)</i> | 0,031 | 0,042 | 0,068 | 0,024 | 0,057 | 0,029 | 0,031 | 0,012 | 0,028 | 0,042 | 0,042 | |
| <i>t10,c12</i> | 0,076 | 0,086 | 0,146 | 0,065 | 0,172 | 0,083 | 0,150 | 0,096 | 0,131 | 0,157 | 0,114 | |
| <i>c9,t11</i> | 0,351 | 0,342 | 3,773 | 1,739 | 5,684 | 3,274 | 0,326 | 0,431 | 0,647 | 1,449 | 1,422 | |
| <i>t8,c10</i> | 0,017 | 0,028 | 0,224 | 0,074 | 0,215 | 0,133 | 0,019 | 0,011 | 0,021 | 0,028 | 0,055 | |
| <i>t7,c9/t6,t8</i> | 0,009 | 0,007 | 0,020 | 0,009 | 0,040 | 0,027 | 0,024 | 0,095 | 0,169 | 0,102 | 0,105 | |
| <i>c9,c11</i> | 0,023 | 0,034 | 0,054 | 0,018 | 0,019 | 0,033 | 0,186 | 0,673 | 1,373 | 0,754 | 0,911 | |
| <i>c8,c10</i> | - | - | - | - | - | - | 0,020 | 0,020 | 0,016 | 0,032 | 0,023 | |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | | | | |
| <i>t,t</i> | 0,12 | 0,16 | 0,34 | 0,17 | 0,53 | 0,26 | 0,14 | 0,08 | 0,13 | 0,26 | 0,25 | |
| <i>c,t/t,c</i> | 0,49 | 0,52 | 4,25 | 1,92 | 6,20 | 3,57 | 0,55 | 0,65 | 1,01 | 1,81 | 1,78 | |
| <i>c,c</i> | 0,02 | 0,03 | 0,05 | 0,02 | 0,02 | 0,03 | 0,21 | 0,69 | 1,39 | 0,79 | 0,93 | |

Tabelle A-33: CLA-Isomerenverteilung in den Fäzes nach Geschlecht und Gruppe bzw. nach Gruppe [mg/g Fett]

| Isomere | Prüfsubstanz | | | | | | | | | |
|--|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----|
| | 0 % | | 0,5 % | | 1 % | | 0 % | | 0,5 % | 1 % |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | | | |
| <i>t</i> 12, <i>t</i> 14 | 0,010 | 0,012 | 0,019 | 0,012 | 0,020 | 0,004 | 0,011 ± 0,004 | 0,016 ± 0,007 | 0,012 ± 0,009 | |
| <i>t</i> 11, <i>t</i> 13 | 0,043 | 0,035 | 0,018 | 0,014 | 0,021 | 0,025 | 0,039 ± 0,016 ^a | 0,016 ± 0,003 ^b | 0,023 ± 0,005 ^b | |
| <i>t</i> 10, <i>t</i> 12 | 0,476 | 0,440 | 0,361 | 0,347 | 0,266 | 0,234 | 0,458 ± 0,044 ^a | 0,355 ± 0,030 ^b | 0,250 ± 0,023 ^c | |
| <i>t</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,307 | 0,338 | 0,162 | 0,165 | 0,157 | 0,206 | 0,322 ± 0,036 ^a | 0,164 ± 0,016 ^b | 0,182 ± 0,031 ^b | |
| <i>t</i> 8, <i>t</i> 10 | - | - | 0,070 | 0,078 | 0,117 | 0,129 | - ^a | 0,074 ± 0,013 ^b | 0,123 ± 0,014 ^c | |
| <i>t</i> 7, <i>t</i> 9 | 0,158 | 0,198 | 0,032 | 0,035 | 0,049 | 0,079 | 0,178 ± 0,037 ^a | 0,034 ± 0,009 ^b | 0,064 ± 0,017 ^b | |
| <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,038 | 0,040 | - | - | - | - | 0,039 ± 0,005 ^a | - ^b | - ^b | |
| 12,14 (<i>c,t/t,c</i>) | 0,122 | 0,084 | 0,068 | 0,027 | 0,050 | 0,015 | 0,103 ± 0,030 ^a | 0,048 ± 0,023 ^b | 0,032 ± 0,022 ^b | |
| 11,13 (<i>c,t/t,c</i>) | 0,014 | 0,006 | 0,011 | 0,013 | 0,013 | 0,011 | 0,010 ± 0,005 | 0,012 ± 0,002 | 0,012 ± 0,004 | |
| <i>t</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,945 | 0,785 | 0,738 | 0,715 | 0,621 | 0,760 | 0,865 ± 0,130 ^a | 0,728 ± 0,056 ^b | 0,690 ± 0,094 ^b | |
| <i>c</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,650 | 0,797 | 0,562 | 0,537 | 0,534 | 0,618 | 0,723 ± 0,101 ^a | 0,549 ± 0,040 ^b | 0,576 ± 0,061 ^b | |
| <i>t</i> 8, <i>c</i> 10 | 0,032 | 0,013 | - | - | - | - | 0,022 ± 0,011 ^a | - ^b | - ^b | |
| <i>t</i> 7, <i>c</i> 9/ <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,008 | 0,023 | 0,009 | 0,008 | 0,020 | 0,021 | 0,016 ± 0,009 ^a | 0,009 ± 0,003 ^{a,b} | 0,021 ± 0,004 ^b | |
| <i>c</i> 11, <i>c</i> 13 | 0,035 | 0,029 | 0,017 | 0,014 | 0,020 | 0,020 | 0,032 ± 0,005 ^a | 0,015 ± 0,003 ^b | 0,020 ± 0,005 ^b | |
| <i>c</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,056 | 0,050 | 0,072 | 0,081 | 0,076 | 0,057 | 0,053 ± 0,011 ^a | 0,077 ± 0,017 ^b | 0,067 ± 0,011 ^{a,b} | |
| <i>c</i> 9, <i>c</i> 11 | 0,024 | 0,038 | 0,029 | 0,032 | 0,031 | 0,017 | 0,031 ± 0,010 | 0,031 ± 0,005 | 0,024 ± 0,007 | |
| <i>c</i> 8, <i>c</i> 10 | 0,036 | 0,037 | 0,032 | 0,016 | 0,018 | 0,010 | 0,037 ± 0,007 ^a | 0,024 ± 0,009 ^b | 0,014 ± 0,005 ^c | |
| | Isomeren-Anteile | | | | | | | | | |
| <i>t,t</i> | 1,03 | 1,06 | 0,66 | 0,65 | 0,63 | 0,68 | 1,05 ± 0,10^a | 0,66 ± 0,06^b | 0,65 ± 0,04^b | |
| <i>c,t/t,c</i> | 1,77 | 1,71 | 1,39 | 1,30 | 1,24 | 1,42 | 1,74 ± 0,17^a | 1,35 ± 0,10^b | 1,33 ± 0,14^b | |
| <i>c,c</i> | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,14 | 0,14 | 0,10 | 0,15 ± 0,03 | 0,15 ± 0,02 | 0,12 ± 0,02 | |

a, b, c – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

Tabelle A-34: Fettsäurenverteilung des Milchfettes

| Fettsäure | mg/g Fett | | |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | Kontrolle (I) | Infusion (II) | Kontrolle (III) |
| 4:0 | 18,79 ± 1,46 ^a | 16,89 ± 2,70 ^{a,b} | 14,75 ± 3,27 ^b |
| 6:0 | 13,61 ± 1,10 ^a | 11,03 ± 2,30 ^b | 8,22 ± 1,40 ^c |
| 8:0 | 7,95 ± 0,70 ^a | 5,84 ± 1,55 ^b | 4,09 ± 0,68 ^c |
| 10:0 | 20,79 ± 2,08 ^a | 15,36 ± 4,00 ^b | 10,96 ± 2,22 ^c |
| 12:0 | 25,03 ± 2,35 ^a | 20,73 ± 3,26 ^b | 15,86 ± 3,16 ^c |
| 14:0 | 105,04 ± 5,70 | 105,58 ± 9,65 | 96,69 ± 15,70 |
| 14:1 n9 | 9,05 ± 0,85 ^a | 4,77 ± 1,92 ^b | 9,60 ± 2,52 ^a |
| 15:0 | 13,36 ± 1,98 ^a | 11,37 ± 2,15 ^b | 10,22 ± 1,20 ^b |
| 16:0 | 351,10 ± 19,06 ^a | 290,27 ± 41,66 ^b | 348,05 ± 56,28 ^a |
| 16:1 n7 | 14,33 ± 1,52 ^a | 8,05 ± 2,90 ^b | 14,61 ± 6,65 ^a |
| 18:0 | 66,14 ± 7,36 ^a | 117,71 ± 29,13 ^b | 85,21 ± 27,77 ^a |
| 18:1 c9 | 173,45 ± 16,50 | 177,24 ± 17,20 | 191,87 ± 38,45 |
| 18:1 t11 | 23,31 ± 3,23 ^a | 30,62 ± 5,94 ^b | 27,08 ± 6,48 ^{a,b} |
| 18:2 n6 | 11,40 ± 1,06 ^a | 14,07 ± 4,48 ^{a,b} | 15,93 ± 3,40 ^b |
| 18:2 (CLA) | 5,81 ± 0,93 ^a | 42,37 ± 18,38 ^b | 21,32 ± 12,88 ^c |
| 18:3 n3 | 2,56 ± 0,48 ^a | 3,26 ± 0,59 ^b | 3,32 ± 0,59 ^b |
| Sonstige | 4,67 ± 1,10 ^{a,b} | 3,75 ± 0,93 ^a | 4,90 ± 1,04 ^b |
| | Fettsäurenanteile | | |
| SCFA ¹ | 40,36 ± 3,20 ^a | 33,76 ± 5,99 ^b | 27,06 ± 4,44 ^c |
| MCFA ² | 538,70 ± 2,86 ^a | 456,14 ± 57,76 ^b | 506,00 ± 61,03 ^a |
| LCFA ³ | 253,54 ± 23,68 ^a | 312,28 ± 41,85 ^b | 296,32 ± 41,27 ^b |
| SFA | 623,63 ± 20,71 | 596,74 ± 31,86 | 595,47 ± 54,21 |
| MUFA | 196,83 ± 17,29 | 190,06 ± 16,85 | 216,08 ± 42,36 |
| PUFA | 16,82 ± 1,04 ^a | 19,12 ± 4,86 ^a | 22,72 ± 3,36 ^b |
| | Fettsäurenverhältnisse | | |
| 14:0/14:1 | 11,73 ± 1,53 ^a | 24,99 ± 8,51 ^b | 11,42 ± 5,85 ^a |
| 16:0/16:1 | 24,77 ± 2,99 ^a | 38,52 ± 8,01 ^b | 28,67 ± 12,46 ^a |
| 18:0/18:1 | 0,38 ± 0,02 ^a | 0,66 ± 0,15 ^b | 0,48 ± 0,22 ^a |

a, b, c - signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

¹SCFA = Summe von C4:0 bis C8:0

²MCFA = Summe von C10:0 bis C16:1

³LCFA = Summe von C18:0 bis C18:3

Tabelle A-35: CLA-Isomerenverteilung des Milchfettes und scheinbare Transfereffizienz der einzelnen CLA-Isomeren in das Milchfett

| Isomere | Kontrolle (I) | Infusion (II) | Kontrolle (III) | Transfereffizienz |
|--|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------|
| | | | | % |
| | | mg/g Fett | | |
| <i>t</i> 13, <i>t</i> 15 | 0,01 ± 0,002 ^a | 0,05 ± 0,02 ^b | 0,02 ± 0,01 ^a | 15,3 ± 3,1 |
| <i>t</i> 12, <i>t</i> 14 | 0,06 ± 0,009 ^a | 0,77 ± 0,37 ^b | 0,29 ± 0,25 ^a | 18,8 ± 4,5 |
| <i>t</i> 11, <i>t</i> 13 | 0,11 ± 0,018 ^a | 0,98 ± 0,45 ^b | 0,39 ± 0,29 ^a | 15,4 ± 3,6 |
| <i>t</i> 10, <i>t</i> 12 | 0,03 ± 0,005 ^a | 1,05 ± 0,44 ^b | 0,35 ± 0,32 ^c | 9,1 ± 2,7 |
| <i>t</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,12 ± 0,021 ^a | 1,20 ± 0,51 ^b | 0,52 ± 0,35 ^c | 9,3 ± 2,6 |
| <i>t</i> 8, <i>t</i> 10 | 0,02 ± 0,003 ^a | 1,02 ± 0,48 ^b | 0,35 ± 0,33 ^c | 10,1 ± 4,8 |
| <i>t</i> 7, <i>t</i> 9 | 0,07 ± 0,011 ^a | 1,14 ± 0,54 ^b | 0,59 ± 0,53 ^c | 21,9 ± 6,0 |
| <i>t</i> 6, <i>t</i> 8 | 0,02 ± 0,007 ^a | 0,11 ± 0,05 ^b | 0,05 ± 0,03 ^a | - |
| 12,14 (<i>c,t/t,c</i>) | 0,02 ± 0,003 ^a | 0,92 ± 0,44 ^b | 0,32 ± 0,30 ^c | 64,0 ± 4,8 |
| <i>t</i> 11, <i>c</i> 13 | 0,15 ± 0,029 ^a | 0,47 ± 0,18 ^b | 0,38 ± 0,23 ^b | 10,4 ± 2,8 |
| <i>c</i> 11, <i>t</i> 13 | 0,02 ± 0,004 ^a | 7,77 ± 4,22 ^b | 2,72 ± 2,52 ^c | 24,9 ± 6,3 |
| <i>t</i> 10, <i>c</i> 12 | 0,03 ± 0,004 ^a | 5,34 ± 2,63 ^b | 1,99 ± 1,91 ^c | 14,2 ± 4,2 |
| <i>c</i> 9, <i>t</i> 11 | 4,66 ± 0,759 ^a | 9,75 ± 2,46 ^b | 8,44 ± 2,52 ^b | 2,0 ± 1,4 |
| <i>t</i> 8, <i>c</i> 10 | 0,14 ± 0,027 ^a | 7,55 ± 3,84 ^b | 2,96 ± 2,61 ^c | 24,6 ± 6,9 |
| <i>t</i> 7, <i>c</i> 9/ <i>t</i> 6, <i>c</i> 8 | 0,32 ± 0,051 ^a | 0,69 ± 0,23 ^b | 0,50 ± 0,17 ^c | 4,2 ± 1,4 |
| <i>c</i> 11, <i>c</i> 13 | 0 ^a | 0,91 ± 0,46 ^b | 0,34 ± 0,33 ^c | 24,1 ± 7,2 |
| <i>c</i> 10, <i>c</i> 12 | 0 ^a | 0,89 ± 0,44 ^b | 0,34 ± 0,32 ^c | 16,7 ± 4,7 |
| <i>c</i> 9, <i>c</i> 11 | 0,015 ± 0,003 ^a | 0,86 ± 0,43 ^b | 0,32 ± 0,30 ^c | 20,6 ± 6,0 |
| <i>c</i> 8, <i>c</i> 10 | 0,003 ± 0,001 ^a | 0,90 ± 0,46 ^b | 0,36 ± 0,32 ^c | 25,5 ± 7,4 |
| | | Isomerenanteile | | |
| <i>t,t</i> | 0,45 ± 0,07 ^a | 6,33 ± 2,83 ^b | 2,57 ± 1,93 ^c | 15,4 ± 4,8 |
| <i>c,t/t,c</i> | 5,35 ± 0,86 ^a | 32,50 ± 13,82 ^b | 17,32 ± 9,78 ^c | 20,6 ± 21,2 |
| <i>c,c</i> | 0,02 ± 0,01 ^a | 3,56 ± 1,78 ^b | 1,43 ± 1,26 ^c | 21,7 ± 3,9 |
| ∑ CLA | 5,81 ± 0,93^a | 42,37 ± 18,38^b | 21,32 ± 12,88^c | 18,7 ± 2,1 |

a, b, c – signifikante Unterschiede zwischen Mittelwerten mit ungleichen Indizes ($P < 0,05$)

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Jena, 7. Oktober 2003

Jana Kraft

Danksagung

Die Promotion ist ein Abenteuer, dessen Gelingen von wissenschaftlicher, finanzieller und emotionaler Unterstützung abhängt.....

Allen voran gilt der Dank dem Doktorvater dieser Arbeit, Prof. Dr. Gerhard Jahreis, durch den ich die Faszination der Forschungstätigkeit erst richtig entdeckt habe. Seine fachliche und moralische Unterstützung, die ständige Bereitschaft zu Diskussionen und die Möglichkeit zur freien Entfaltung haben diese Arbeit wesentlich beeinflusst. Speziell hervorzuheben ist, dass ich durch meine Teilnahme am CLA-Projekt der EU auch die Chance erhielt, international Erfahrung zu sammeln.

Von meinen Kollegen möchte ich zwei herausgreifen, denen ich in besonderer Weise zu Dank verpflichtet bin: Peter Möckel, dessen großes, geduldiges Engagement und Anregungsvorschläge einen wesentlichen Beitrag zur Entstehung dieser Arbeit geleistet haben und Rainer Schubert, der sich stets Zeit nahm, mir einen Weg durch den Dschungel der Statistik zu zeigen, meine Computerprobleme unermüdlich löste und mir viele Anregungen zur Arbeit gab. Dass mir die am Institut verbrachte Zeit unvergesslich bleibt, ist nicht zuletzt der Verdienst all meiner Kollegen. Ich danke allen, die mich ermutigten sowie an meinen Fortschritten bzw. Rückschlägen (z. B. HPLC, die ihre eigenen Wege ging) Anteil nahmen.

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. Gerhard Flachowsky, der mir den Aufenthalt in der FAL Braunschweig, Institut für Tierernährung, ermöglichte. Bei den Mitarbeitern Detlef Kampf, Kerstin Loose, Familie Hillendahl, Hans Eckart und Arnold möchte ich mich nicht nur für ihre Hilfsbereitschaft bedanken, sondern auch für die unvergesslichen Erlebnisse am Institut. Nicht zu vergessen Dr. Peter Lebzien, der meine große Liebe zu Kühen weckte und mich mit seinem Ideenreichtum zum "Anrüsten einer Kuh" stets faszinierte.

Für die finanzielle Unterstützung möchte ich der Willhelm Schaumann-Stiftung Hamburg ganz herzlich danken. Ohne deren Bereitstellung des Stipendiums wäre meine Promotion nicht denkbar gewesen.

Auch der freundlichen Korrekturleserin meiner Arbeit, Bianka Ditscheid, soll an dieser Stelle gedankt sein.

Schlussendlich möchte ich mich bei meinem Freund Holger Tischendorf bedanken, der sich als großer Fels in der Brandung erwiesen hat.

Der größte Dank gilt jedoch meinen Eltern, die mich unermüdlich und liebevoll unterstützten und mir meinen akademischen Werdegang erst ermöglichten. Von meinen Eltern habe ich gelernt, dass man mit Ehrgeiz, Fleiß und Vertrauen in sich selbst viel erreichen kann.
