

Aus dem Physiol.-Chem.-Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Über biologische Wirkungen von Maiskeimöl nach dem Erhitzen unter küchentechnischen Bedingungen*)

Von W. KIECKEBUSCH, G. CZOK, W. GRIEM und K. LANG

Mit 15 Tabellen

(Eingegangen am 29. November 1967)

Einleitung

Die Untersuchungen der neueren Zeit, wonach polyensäurereiche Öle anstelle anderer Nahrungsfette einen überhöhten Cholesterinspiegel senken, haben ein außerordentliches Interesse der Ernährungsphysiologie und Medizin an diesen Ölen ausgelöst. In vielen experimentellen und klinischen Arbeiten wurden die besonderen ernährungsphysiologischen Wirkungen von Polyensäuren, insbesondere der Linolsäure eingehend untersucht. Aus der Fülle des vorhandenen wissenschaftlichen Materials wird heute die Empfehlung abgeleitet, im Rahmen der Ernährung und insbesondere bei bestimmten Diät- und Schonkostformen einen Teil der täglichen Gesamtfettmenge in Form von polyensäurereichen Ölen zu verzehren. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, solche Öle auch als Koch-, Brat- und Backfett zu verwenden. Diese küchentechnischen Verfahren sind jedoch zwangsläufig mit dem Erhitzen der Öle verbunden.

Bisher ist nur wenig darüber bekannt, ob und in welchem Umfang bei der küchentechnischen Verarbeitung polyensäurereicher Öle deren ungesättigte Fettsäuren zerstört werden und ob etwa unter diesen Bedingungen toxische Umwandlungsprodukte entstehen. Die bisher auf diesem Gebiet vorliegenden Arbeiten befassen sich meist mit chemisch-analytischen Untersuchungen und nur in wenigen Fällen auch mit Tierexperimenten über die biologischen Wirkungen erhitzter Fette. In früheren Untersuchungen hatten MELNICK u. Mitarb. nachgewiesen, daß es bei der Herstellung von Kartoffelchips unter Verwendung eines polyensäurereichen Öles nur zu einer Abnahme der Jodzahl um 3 % kam. CHANG und WATTS analysierten die Fettsäurezusammensetzung verschiedener gebratener Fleisch- und Geflügelsorten, wobei sich eine Verminderung des Linolsäureanteils nicht nachweisen ließ. Auch KEANE u. Mitarb. konnten beim Erhitzen von Maiskeimöl auf Temperaturen, wie sie beim Braten auftreten, keine Veränderungen der ungesättigten Fettsäuren feststellen. Die Fettsäurezusammensetzung in verschiedenen Gebäcken vor und nach dem Backprozeß untersuchten PHILLIPS und VAIL, wobei sich bei der Verwendung von Maiskeimöl ebenfalls keine Veränderungen zeigten. Besonders eingehende Untersuchungen, die sich auf 22 verschiedene Gerichte erstreckten, wurden von HARMUTH und BÖHLE durchgeführt. Die Testgerichte waren nach den in der Küche üblichen Methoden mit Maiskeimöl zubereitet. Unter küchentechnischen Bedingungen wird also der hohe Linolsäuregehalt des verwendeten Öles

*) Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung dieser Arbeit.

nicht vermindert. Das mehrmalige Erhitzen in einer Fritteuse führte nur zu geringen Veränderungen in den Fettsäurespektren der Testgerichte. In keiner der untersuchten Proben ließen sich Isomerisations- oder Polymerisationsprodukte nachweisen.

Daß längere Zeit in Gegenwart von Sauerstoff erhitzte Öle toxische Eigenschaften annehmen, ist bekannt. Hierüber liegt eine beträchtliche Literatur vor. Die unter drastischen Bedingungen behandelten Fette zeigen hochgradige Veränderungen ihrer Kennzahlen. Für ihre Toxizität dürften in erster Linie die entstandenen Oxypolymeren verantwortlich zu machen sein, wie auch aus Arbeiten unseres Instituts hervorgeht (KIECKEBUSCH et al. 1962). Untersuchungen mit so hochgradig veränderten Fetten haben zwar ein großes wissenschaftliches Interesse, aber keine praktische Bedeutung für die Ernährung.

Da langfristige Untersuchungen über die biologischen Eigenschaften von unter küchenmäßigen Bedingungen im Frittierapparat erhitzten Ölen fehlten, haben wir solche unter Einsatz größerer Kollektive von Ratten durchgeführt. Besonderen Wert legten wir auf die Frage, ob sich eine kanzerogene bzw. cokerogene Wirkung derart behandelter Fette nachweisen läßt. Wir haben daher auch Versuchsreihen durchgeführt, in welchen die Tiere eine unterschwellige Dosis eines Carcinogens (0,005% Acetaminofluoren) zusätzlich verfüttert bekamen.

I. Material und Methoden

Für die Versuche wurden entwöhnte Sprague-Dawley-Ratten der Züchterei Gassner, München, eingesetzt. Das Anfangsgewicht der Tiere schwankte zwischen 40 und 50 g. Während der gesamten Versuchsdauer befanden sich die Tiere in Drahtboden-Einzelkäfigen bei einer Raumtemperatur von $23 \pm 2^\circ\text{C}$ und einer relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 55 und 65% (ständige Kontrolle durch Thermohygraph). Die Futterapparatur bestand aus Futtergefäß mit Laufrohr. Letzteres wurde der zunehmenden Körpergröße der Ratten entsprechend gewechselt.

In allen Versuchsreihen erhielten die Tiere während der gesamten Versuchsdauer auf Grund der Erfahrungen von ENGEL und COPELAND eine halbsynthetische Kostform (Zusammensetzung des Futters Tab. 1), in der nur die Behandlungsform des Fettes wechselte. Der Fettanteil bestand jeweils aus 20% Mazola-Keimöl^{*}), und zwar in der

Gruppe a aus handelsüblicher Ware (nicht küchentechnisch behandelt)

Gruppe b an 5 aufeinanderfolgenden Tagen in Gegenwart von Backgut (genaue Rezepte Tab. 4) jeweils 30 min auf 175° bis 200°C erhitztem Keimöl,

Gruppe c aus an 5 aufeinanderfolgenden Tagen ohne Backgut jeweils 30 min lang auf 200° bis 220°C erhitztem Keimöl.

Die Versuche b und c wurden in einer Fritteuse der Firma Rowenta Type E 5193 Modell 5622 (1600 Watt) durchgeführt.

Ihr Futter erhielten die Tiere nach der "paired-feeding"-Technik (d. h. jeweils gleiche knappe Einwaage für alle Gruppen, Steigerung des Futterangebotes, wenn mindestens die Hälfte der Tiere einer Gruppe mit der geringsten Nahrungsaufnahme das Futter ausgefressen hatte.) Trinkwasser stand immer ad libitum zur Verfügung. Diese vorstehend beschriebene Versuchsanordnung ermöglichte eine sehr exakte Bestimmung der Nahrungsaufnahme, da die Tiere das Futter nicht verwerfen konnten.

^{*}) Hersteller: Deutsche Maizena-Werke GmbH, 2 Hamburg 1. Wir danken den Deutschen Maizena-Werken für die Unterstützung des Institutes.

In weiteren Versuchsreihen wurde dem Futter jeweils Acetaminofluoren (= AAF) zugesetzt. Diese Substanz weist nach den Untersuchungen von SUGAI u. Mitarb. in einer Konzentration von 0,005% in der Versuchskost noch keine kanzerogene Wirkung auf, macht aber bei Zugabe bestimmter Substanzen (z. B. nicht Harnstoffaddukte-bildende Fraktionen hochoerhitzter Fette) deren kanzerogene Wirkung sichtbar. Da nach den Erfahrungen von SYMEONIDIS Sprague-Dawley-Ratten bei AAF-Zugabe leicht zu Tumoren neigen, wurde dieser Rattenstamm für die Versuche ausgewählt.

Aus dieser Anordnung ergaben sich 2 Versuchsreihen mit je 3 Tiergruppen:

Versuchsreihe 1: Gruppe a-c: Futter ohne AAF-Zugabe

Versuchsreihe 2: Gruppe a-c: Wie Versuchsreihe 1 a-c, jedoch mit Zugabe von 0,005% AAF in das Futter jeder Gruppe (vgl. Tab. 1).

Tab. 1. Zusammensetzung des Futters

Versuchsreihe 1:

Futterbestandteile	Gruppe a (Kontrolle)	Gruppe b (Mazola mit Backgut erhitzt)	Gruppe c Mazola ohne
Maiskeimöl	20 %	20 %	20 %
Casein	20 %	20 %	20 %
Magermilchpulver	10 %	10 %	10 %
Torulahefe, gemahlen	3 %	3 %	3 %
Mondamin	41,8%	41,8%	41,8%
Cellulose	2 %	2 %	2 %
Salzmischung*)	0,2%	0,2%	0,2%
Salzmischung**)	3 %	3 %	3 %

*) Hawk-Oser Mischung A.

**) Shaw.

Zusätzlich eine Vitaminmischung folgender Zusammensetzung pro kg Futter:

Vitamin A	12000 IE	Vitamin B ₁	3 mg
Vitamin D ₃	6000 IE	Vitamin B ₂	3 mg
Vitamin E	12 mg	Vitamin B ₆	3 mg
Vitamin K ₃	5 mg	Vitamin B ₁₂	25 γ
Folsäure	1 mg	Biotin	0,2mg
Cholinchlorid	1,5 g	Nicotinsäureamid	12 mg
p-Aminobenzoesäure	13 mg	pantothensaures Ca	3 mg
myo-Inosit	600 mg		

Versuchsreihe 2:

Alle Futterbestandteile wie Versuchsreihe 1, Gruppe a-c, zusätzlich je Gruppe 0,005% Acetaminofluoren.

In der Versuchsreihe 1 betrug die Tierzahl pro Gruppe 40 Männchen und 40 Weibchen, in der Versuchsreihe 2 pro Gruppe 20 Männchen und 20 Weibchen.

Die Versuchsdauer umfaßte den gesamten Lebensablauf der Tiere vom Absetzen bis zum natürlichen Tod.

Beobachtet wurden folgende Kriterien:

1. Futteraufnahme

pro Tier während der ersten 10 Versuchswochen – also während der Hauptwachstumsperiode – wöchentlich durch tägliche Einwaage des Futters und wöchentliche Rückwaage der gesammelten Reste,

2. Wachstum (Gewichtszunahme)
der Tiere durch wöchentliche Wägung bis zur 10. Versuchswoche und danach in vierwöchigen Abständen bis zum Versuchsende.
3. Protein-Efficiency,
errechnet aus Gewichtszunahme, dividiert durch Proteinaufnahme (Kontrolle des Proteingehaltes der Nahrung durch Kjeldahl-Analysen in sechswöchigen Abständen),
4. Gesamtcholesterin im Serum
nach einer Versuchsdauer von 87 Wochen nach LIEBERMANN-BURCHARDT in der von PEARSON u. Mitarb. angegebenen Modifikation (Blutentnahme aus der Schwanzspitze, Analyse nach der Mikromethode in 0,02 ml Serum),
5. Leberfunktion
nach einer Versuchsdauer von 104 Wochen mit dem Bromsulphthalein-Test in der von Czok angegebenen Modifikation,
6. Lebensalter:
Vom Beginn des 2. Versuchsjahres an wurde im Abstand von jeweils 2 Wochen mit einem elektrischen Sekundenthermometer rektal die Körpertemperatur gemessen (in früheren ähnlichen Versuchsreihen war festgestellt worden, daß die Körpertemperatur vor dem Exitus der Tiere erniedrigt ist). Weitere Kriterien für den Tötungstermin waren außer der Körpertemperatur zusätzlich Körpergewicht, Fellzustand und Morbidität.

Tab. 2. Fettsäureanalyse des benutzten Maiskeimöles

Glyceride (in %)	98,6
Zusammensetzung der Fettsäuren (Angaben in % der Gesamtsäuren):	
Ungesättigte Fettsäuren, gesamt	86
Linolsäure	54-58
Ölsäure	27-29
Linolensäure	1-2
Gesättigte Fettsäuren, gesamt	etwa 14
Palmitinsäure	11-14
Stearinsäure	1-2
Unverseifbare Anteile (in %) gesamt	etwa 1,4
Sitosterin	etwa 0,6%
Gesamttocopherole	65-80 mg%
Vitamin E-wirksame Tocopherole	25-30 mg%

Tab. 3. Kennzahlen des benutzten Maiskeimöles

Spezifisches Gewicht	0,919
Schmelzpunkt	-10° bis -15 °C
Rauchpunkt	etwa 240 °C
Brechungsindex (20 °C)	etwa 1,474
Viskosität (30 °C)	45-47 cP
Jodzahl	etwa 122-126
Peroxidzahl (nach Abfüllung)	0
Freie Fettsäuren (berechnet als Ölsäure)	maximal 0,03%
entsprechend Säurezahl (mg KOH/g Fett)	0,06%
oder Säuregrad (ml n-Alkalilauge/100 g Fett)	0,11%
Verseifungszahl	etwa 190 (188-192)
Esterzahl	ist in säurefreien Fetten mit der Verseifungszahl identisch
Kalorien	917/100 g

Tab. 4. Rezepte für das Backgut (erhitztes Öl für die Versuchsreihen 1 b und 2 b)

Aufgabe: Backen von 5 verschiedenen Speisen in einer Fritteuse unter normalen küchentechnischen Bedingungen, Benutzung des Öles an 5 aufeinanderfolgenden Tagen.

Temperaturen: Nach Vorschrift der Herstellerfirma der Fritteuse (vgl. Spalte „Bemerkungen“)

Ausbackzeit: Vom Erreichen der Endtemperatur an täglich jeweils 30 min (vgl. Spalte „Bemerkungen“)

Bezeichnung der Speisen und verwendete Zutaten	Küchentechnische Zubereitung	Bemerkungen
<i>Pommes frites</i> 1000 g geschälte Kartoffeln 3065 cem Mazola-Keimöl	Die geschälten Kartoffeln waschen und mit Hilfe eines Pommes-frites-Schneiders in Stäbchen schneiden. Die Kartoffelstäbchen sorgfältig abtrocknen. Mazola-Keimöl in einer Fritteuse erhitzen und die Kartoffeln – jeweils 250 g – schwimmend darin backen, bis sie halbgar sind und eine gelbliche Farbe annehmen. Die Pommes frites aus dem Fett nehmen und abtropfen lassen. Das abgekühlte Mazola-Keimöl wieder aufheizen, sobald die Temperatur von 200 Grad erreicht ist, die Kartoffeln wieder hineingeben und fertig backen.	1 kg geschälte Kartoffeln in 4 Portionen ausbacken. Temperatur: 200 °C vorbacken: 1–1½ min fertig backen: 4 min zum Aufheizen: 6–8 min
<i>Blumenkohl in Ausbackteig</i> 1000 g Blumenkohl (2 mittegroße Köpfe) Salzwasser <i>Ausbackteig</i> 4 Eier 20 Eßl. Milch 400 g Mehl Salz, Muskat 3065 cem Keimöl	Die Blumenkohlköpfe in kochendem Salzwasser 10–15 min garen und abtropfen lassen. Eier, Milch und Mehl zusammen mit den Gewürzen zu einem glatten Teig verrühren. Die Blumenkohlköpfe in Röschen zerlegen, diese zu 4 Portionen aufteilen, portionsweise im Teig wenden, goldbraun backen.	1 kg Blumenkohl in 4 Portionen abbacken. 1 Portion: 6–8 Röschen Temperatur: 175 °C Backzeit je Portion: 6–7 min zum Aufheizen: 2–6 min

Tab. 4. Rezepte für das Backgut (erhitztes Öl für die Versuchsreihen 1b und 2b) (Fortsetzung)

Bezeichnung der Speisen und verwendete Zutaten	Küchentechnische Zubereitung	Bemerkungen
<i>Quarktrappen</i>		
100 g Margarine	Margarine schaumig rühren. Nach und nach Zucker, Vanillezucker, abgeriebene Zitronenschale, Eier und den durch ein Sieb gestrichenen Quark dazugeben. Alles schaumig rühren. Mehl und Backpulver mischen und abwechselnd mit der Milch zur Masse geben. Von dem Teig mit einem Teelöffel Klößchen abstechen und schwimmend ausbacken.	Teig in 5 Portionen ausbacken.
100 g Zucker		1 Portion: 15 Klößchen
1 Vanillezucker		Temperatur: 175 °C
Schale einer Zitrone	Mit Puderzucker bestäubt servieren.	Backzeit je Portion: 5 min
2 Eier		zum Aufheizen: ca. 5 min
250 g Quark		
400 g Mehl		
2 gestr. Teel. Backpulver		
8 Eßl. Milch		
Puderzucker		
3065 cem Keimöl		
<i>Panierte Kalbschnitzel</i>		
800 g Kalbschnitzel	Die gewaschenen Kalbschnitzel mit einem feuchten Tuch abtupfen und mit Salz und Pfeffer bestreuen. Dann in Mehl, verquirlter Eiermilch und Paniermehl wenden. Die Panade gut festklopfen. Jeweils 2 Schnitzel schwimmend ausbacken.	8mal 100 g Kalbschnitzel in 4 Portionen ausgebacken.
8 Schnitzel à 100 g		1 Portion: 2 Stück
Salz, Pfeffer		Temperatur: 175 °C
<i>Panade</i>		Backzeit ca. 7 min
Mehl		zum Aufheizen: ca. 2 min.
3 Eigelb		
Dosenmilch		
Paniermehl		
3065 cem Keimöl		
<i>Panierte Schweinenacken</i>		
800 g Schweinenacken	Die Schweinenackenscheiben waschen und mit einem feuchten Tuch abtupfen. Mit Salz und Pfeffer würzen. Dann in Mehl, verquirlter Eiermilch und Paniermehl wenden. Die Panade gut festklopfen. Jeweils 2 Scheiben in heißem Mazola-Keimöl schwimmend ausbacken.	8mal 100 g Schweinenacken in 4 Portionen abbacken
8 Scheiben à 100 g		1 Portion: 2 Stück
Salz, Pfeffer		Temperatur: 175 °C
<i>Panade</i>		Backzeit: ca. 7 min
Mehl		zum Aufheizen: ca. 2 min.
3 Eigelb		
Dosenmilch		
Paniermehl		
3065 cem Mazola-Keimöl		

7. Organgewichte

Von der Versuchsreihe 1 wurden nach 104 Versuchswochen je 10 Männchen der Gruppen a-c getötet, entblutet sowie Herz, Leber, Milz, Nieren und Testes gewogen.

8. Histologische Untersuchung

Die Fixierung der genannten Organe erfolgte in 5%iger Formalinlösung.

Die von diesen Organen angefertigten Gefrier- und Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin-Lösung oder Scharlachrot-Lösung angefärbt.

Darüber hinaus wurden von den unter den Gruppen a-c genannten Fettanteilen des Futters während der gesamten Versuchsdauer in jeweils vierwöchigen Abständen

Tab. 5. Futteraufnahme, absolute Tiergewichte in Gramm und Protein-Efficiency (Mittelwerte und Standardabweichungen, n /Gruppe = 40 Männchen)

		Gruppe 1a	Gruppe 1b	Gruppe 1c
a) Futteraufnahme in Gramm				
0.-3. Woche	Mittel	126	126	120
	SD	(10,44)	(8,85)	(9,32)
3.-5. Woche	Mittel	185	185	183
	SD	(17,73)	(15,31)	(13,63)
5.-7. Woche	Mittel	220	227	213
	SD	(14,61)	(11,78)	(19,15)
7.-9. Woche	Mittel	196	178	182
	SD	(13,32)	(31,82)	(13,89)
9.-11. Woche	Mittel	177	170	176
	SD	(15,90)	(32,84)	(13,57)
b) absolute Tiergewichte in Gramm				
bei Versuchsbeginn	Mittel	48	50	48
	SD	(3,67)	(3,26)	(3,09)
nach 2 Wochen	Mittel	108	107	106
	SD	(8,96)	(8,05)	(5,68)
nach 4 Wochen	Mittel	181	186	182
	SD	(17,16)	(13,74)	(13,72)
nach 6 Wochen	Mittel	255	255	256
	SD	(18,95)	(13,32)	(20,34)
nach 8 Wochen	Mittel	292	291	288
	SD	(18,61)	(13,49)	(21,38)
nach 10 Wochen	Mittel	314	309	304
	SD	(18,86)	(13,73)	(22,11)
c) Protein-Efficiency				
0.-3. Woche	Mittel	2,377	2,251	2,405
	SD	(0,269)	(0,196)	(0,213)
3.-5. Woche	Mittel	1,930	2,140	2,040
	SD	(0,260)	(0,226)	(0,241)
5.-7. Woche	Mittel	1,685	6,507	1,717
	SD	(0,166)	(0,179)	(0,233)
7.-9. Woche	Mittel	0,946	0,984	0,875
	SD	(0,163)	(0,150)	(0,137)
9.-11. Woche	Mittel	0,603	0,500	0,477
	SD	(0,224)	(0,208)	(0,120)

folgende Kennzahlen des Öles kontrolliert:

zu a): Fettsäurezusammensetzung und physikalisch-chemische Daten

zu b) und c): Jodzahl nach der Methode von WIJS (DGF),

Peroxidzahl nach der Methode von WHEELER (DGF),

Freie Fettsäuren nach der DGF-Methode,

Viskosität im Höppler-Viskosimeter.

II. Ergebnisse

Die Ergebnisse der in den Versuchsreihen 1 und 2 untersuchten Kriterien sind in den Tab. 5-15 zusammengestellt.

Tab. 6. Futteraufnahme, absolute Tiergewichte in Gramm und Protein-Efficiency (Mittelwerte und Standardabweichungen, $n/\text{Gruppe} = 40$ Weibchen)

		Gruppe 1a	Gruppe 1b	Gruppe 1c
a) Futteraufnahme in Gramm				
0.-3. Woche	Mittel	124	123	119
	SD	(11,91)	(9,15)	(6,90)
3.-5. Woche	Mittel	162	166	166
	SD	(15,97)	(20,95)	(11,98)
5.-7. Woche	Mittel	182	199	179
	SD	(10,94)	(30,33)	(20,47)
7.-9. Woche	Mittel	180	183	172
	SD	(17,50)	(36,28)	(14,02)
9.-11. Woche	Mittel	173	173	174
	SD	(19,37)	(33,39)	(13,91)
b) Absolute Tiergewichte in Gramm bei Versuchsbeginn				
	Mittel	49	49	47
	SD	(3,12)	(2,56)	(3,39)
nach 2 Wochen	Mittel	102	100	102
	SD	(8,41)	(7,49)	(5,36)
nach 4 Wochen	Mittel	151	152	153
	SD	(12,23)	(26,54)	(9,61)
nach 6 Wochen	Mittel	193	192	194
	SD	(18,29)	(35,08)	(19,30)
nach 8 Wochen	Mittel	222	215	220
	SD	(21,07)	(39,70)	(20,15)
nach 10 Wochen	Mittel	243	233	238
	SD	(24,16)	(42,72)	(21,96)
c) Protein-Efficiency				
0.-3. Woche	Mittel	2,082	2,080	2,264
	SD	(0,250)	(0,222)	(0,181)
3.-5. Woche	Mittel	1,514	1,616	1,540
	SD	(0,177)	(0,205)	(0,147)
5.-7. Woche	Mittel	1,155	0,990	1,144
	SD	(0,211)	(0,199)	(0,282)
7.-9. Woche	Mittel	0,792	0,639	0,750
	SD	(0,180)	(0,160)	(0,186)
9.-11. Woche	Mittel	0,589	0,492	0,518
	SD	(0,197)	(0,216)	(0,149)

1. Futteraufnahme, 2. Wachstum, 3. Protein-Efficiency

In den Tab. 5–8 sind die Futteraufnahme in Gramm, das absolute Tiergewicht in Gramm, sowie die Protein-Efficiency als Durchschnittswerte beider Versuchsreihen für die ersten zehn Versuchswochen, in Perioden von zwei Wochen zusammengefaßt. Dabei wurden die Kontrollgruppen 1a bzw. 2a je-

Tab. 7. Futteraufnahme, absolute Tiergewichte in Gramm und Protein-Efficiency (Mittelwerte und Standardabweichungen, n /Gruppe = 20 Männchen)

		Gruppe 2a	Gruppe 2b	Gruppe 2c
a) Futteraufnahme in Gramm				
0.–3. Woche	Mittel	120	128	120
	SD	(12,98)	(10,04)	(12,82)
3.–5. Woche	Mittel	153	172	185
	SD	(57,87)	(13,52)	(16,06)
5.–7. Woche	Mittel	186	216	209
	SD	(56,91)	(9,61)	(14,90)
7.–9. Woche	Mittel	174	195	185
	SD	(60,77)	(17,29)	(13,34)
9.–11. Woche	Mittel	158	181	171
	SD	(55,93)	(12,48)	(11,01)
b) Absolute Tiergewichte in Gramm				
bei Versuchsbeginn	Mittel	46	48	47
	SD	(2,66)	(3,49)	(3,39)
nach 2 Wochen	Mittel	97	106	111
	SD	(26,46)	(10,50)	(6,78)
nach 4 Wochen	Mittel	158	186	189
	SD	(58,93)	(21,02)	(11,86)
nach 6 Wochen	Mittel	222	253	265
	SD	(80,64)	(23,18)	(15,85)
nach 8 Wochen	Mittel	260	290	303
	SD	(91,88)	(20,75)	(15,75)
nach 10 Wochen	Mittel	280	309	321
	SD	(97,84)	(20,39)	(16,19)
c) Protein-Efficiency				
0.–3. Woche	Mittel	2,311	2,255	2,649
	SD	(0,397)	(0,381)	(0,389)
3.–5. Woche	Mittel	2,030	2,338	2,123
	SD	(0,397)	(0,424)	(0,287)
5.–7. Woche	Mittel	1,677	1,544	1,810
	SD	(0,388)	(0,207)	(0,203)
7.–9. Woche	Mittel	1,027	0,947	1,041
	SD	(0,371)	(0,261)	(0,306)
9.–11. Woche	Mittel	0,604	0,508	0,525
	SD	(0,355)	(0,173)	(0,155)

¹⁾ Alle statistischen Auswertungen wurden im Deutschen Rechenzentrum der DFG in Darmstadt durchgeführt.

weils mit den Versuchsgruppen 1 b und 1 c bzw. 2 b und 2 c durch eine Varianzanalyse verglichen, wie sie KOLLER¹⁾ für Zeit-Wirkungsverläufe beschrieb. In den drei genannten Kriterien lassen sich zwischen den Versuchsreihen 1 (Tab. 5 und 6) und 2 (Tab. 7 und 8), sowie zwischen den Gruppen, die unbehandeltes oder in Fritteusen erhitztes Öl erhielten, keine Unterschiede nachweisen. Auch in der 44. Versuchswoche, d. h. bei längerer Versuchsdauer und unbeschränktem Futterangebot, werden bei allen 6 Gruppen etwa gleiche Gewichte erreicht, wie die statistische Auswertung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte zu diesem Zeitpunkt ergibt (Tab. 9).

Tab. 8. Futteraufnahme, absolute Tiergewichte in Gramm und Protein-Efficiency (Mittelwerte und Standardabweichungen, $n/\text{Gruppe} = 20$ Weibchen)

		Gruppe 2a	Gruppe 2b	Gruppe 2c
a) Futteraufnahme in Gramm				
0.-3. Woche	Mittel	119	123	113
	SD	(20,16)	(10,61)	(9,81)
3.-5. Woche	Mittel	149	192	166
	SD	(38,02)	(9,05)	(21,91)
5.-7. Woche	Mittel	164	173	185
	SD	(44,19)	(19,13)	(22,63)
7.-9. Woche	Mittel	165	167	178
	SD	(42,73)	(18,90)	(18,60)
9.-11. Woche	Mittel	161	184	170
	SD	(41,59)	(16,63)	(17,86)
b) Absolutes Tiergewicht in Gramm				
bei Versuchsbeginn	Mittel	49	46	47
	SD	(2,75)	(2,96)	(3,09)
nach 2 Wochen	Mittel	97	95	102
	SD	(15,51)	(7,85)	(5,70)
nach 4 Wochen	Mittel	142	148	147
	SD	(34,96)	(20,61)	(12,00)
nach 6 Wochen	Mittel	185	188	185
	SD	(50,29)	(28,40)	(19,41)
nach 8 Wochen	Mittel	211	219	215
	SD	(53,55)	(29,42)	(22,62)
nach 10 Wochen	Mittel	228	231	237
	SD	(57,34)	(36,13)	(22,53)
c) Protein-Efficiency				
0.-3. Woche	Mittel	1,938	1,977	2,439
	SD	(0,641)	(0,403)	(0,387)
3.-5. Woche	Mittel	1,407	1,373	1,384
	SD	(0,642)	(0,402)	(0,368)
5.-7. Woche	Mittel	1,173	1,166	1,039
	SD	(0,978)	(0,357)	(0,345)
7.-9. Woche	Mittel	0,888	0,913	0,853
	SD	(0,998)	(0,259)	(0,361)
9.-11. Woche	Mittel	0,392	0,481	0,647
	SD	(0,683)	(0,247)	(0,185)

4. Gesamtcholesterin im Serum

Die in der Tab. 10 zusammengestellten Zahlen zeigen, daß auch eine länger dauernde Verfütterung von erhitztem Keimöl keine signifikanten Veränderungen der Serumcholesterinspiegel im Vergleich zu den Kontrollen bewirkt.

5. Leberfunktion

Bei Rattenmännchen und Rattenweibchen bestehen keine gesicherten Unterschiede hinsichtlich der Bromsulphthaleinretention zwischen den Kontrollen und den Tiergruppen, die erhitztes Keimöl erhielten (Tab. 11). Wegen des hohen Alters der untersuchten Tiere – 104 Versuchswochen – liegen die Retentionswerte etwas höher als sie bei jüngeren Tieren gefunden werden.

Tab. 9. Körpergewichte in Gramm in der 44. Versuchswoche
(Mittelwerte und Standardabweichungen)

	Versuchsreihe 1:		Versuchsreihe 2:	
	Gewicht in g	Standard- abweichung	Gewicht in g	Standard- abweichung
<i>Männchen</i>				
Gruppe a	347	38,82	350	24,58
Gruppe b	353	13,71	365	28,02
Gruppe c	357	21,14	369	20,45
<i>Weibchen</i>				
Gruppe a	299	28,93	299	12,7
Gruppe b	294	24,64	307	28,48
Gruppe c	287	77,22	314	67,12

Tab. 10. Serumcholesterinspiegel nach 87 Versuchswochen
n/Gruppe 19–20 Männchen und 17–20 Weibchen

	Cholesteringehalt im Serum in mg%		p	
	\bar{x}	$s_{\bar{x}}$		
Versuchsreihe 1: (Männchen)				
Gruppe a n = 20	87,1	± 3,6	—	—
Gruppe b n = 19	94,2	± 2,8	< 0,20	> 0,10
Gruppe c n = 20	77,8	± 2,8	< 0,05	> 0,02
Versuchsreihe 1: (Weibchen)				
Gruppe a n = 18	92,4	± 3,9	—	—
Gruppe b n = 17	88,6	± 3,9	< 0,50	> 0,40
Gruppe c n = 20	83,5	± 3,5	< 0,10	> 0,05

6. Lebensalter

Um den Verlauf der Absterberate zu verfolgen, wurden die Einzelwerte der Versuchsreihen 1 (Tab. 12) sowie 2 (Tab. 13) in Zeitabschnitten zu je 50 Tagen zusammengefaßt. Die Tab. 14 gibt die Mittelwerte der erreichten Lebensalter pro Gruppe und ihre Standardabweichungen nach Männchen und Weibchen getrennt für beide Versuchsreihen an. Die doppelte Varianzanalyse ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, was bei den großen Standardabweichungen zu erwarten war. Es zeigte sich nur eine Tendenz dahingehend, daß die chronische Verfütterung von 20% 5mal mit Kochgut erhitztem Öl bei den Männchen mit und ohne Acetaminofluorenzugabe zu einer etwas verkürzten Lebensdauer führte. Es muß noch erwähnt werden, daß die Werte sehr streuen und daß deshalb bei größeren Gruppen vielleicht eine sicherere Aussage gemacht werden könnte.

Tab. 11. Bromsulphthaleinretention nach 104 Versuchswochen
n/Gruppe = 10 Männchen und 10 Weibchen

		Bromsulphthalein- retention in % 20 min nach Applikation		p	
Versuchsreihe 1: (Männchen)					
Gruppe a					
n = 10	3,63	± 0,51	—	—	
Gruppe b					
n = 10	2,90	± 0,64	< 0,50	> 0,40	
Gruppe c					
n = 10	3,18	± 0,69	< 0,70	> 0,60	
Versuchsreihe 1: (Weibchen)					
Gruppe a					
n = 10	1,62	± 0,23	—	—	
Gruppe b					
n = 10	2,02	± 0,29	< 0,30	> 0,20	
Gruppe c					
n = 10	1,06	± 0,29	< 0,20	> 0,10	

7. Organgewichte

In Tab. 15 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aus Lebendgewicht, Körpergewicht ohne Magen-Darm-Trakt der entbluteten Tiere und der Organgewichte zusammengestellt. Es handelt sich um die 10 Männchen der Gruppen 1a, 1b und 1c, die etwa nach der 104. Versuchswoche getötet wurden. Für die Körpergewichte und die Körpergewichte ohne Magen-Darm-Trakt führten wir einen t-Test durch. Es ergaben sich, wie aus den Daten zu erwarten war, keine signifikanten Unterschiede. Eine Durchführung der Kovarianzanalyse für Herz-, Leber-, Milz-, Nieren- und Testesgewichte unter Konstanzhaltung der Körpergewichte ergab keine Unterschiede.

Tab. 13. Absterberate (Mittelwerte der erreichten Lebensalter und Standardabweichungen) (n/Gruppe = 20)

Versuchsreihe 2:

Zeit in Tagen	Männchen				Weibchen			
	Gruppe a Anzahl Gest.	Gruppe a %	Gruppe b Anzahl Gest.	Gruppe b %	Gruppe c Anzahl Gest.	Gruppe c %	Gruppe a Anzahl Gest.	Gruppe a %
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	2	10	0	0	0	0	0	0
150	0	0	0	0	0	0	1	5
200	0	0	0	0	0	0	1	5
250	0	0	1	5	0	0	2	10
300	0	0	1	5	2	10	2	10
350	1	5	1	5	1	5	2	10
400	0	0	0	0	0	0	1	5
450	5	25	1	5	0	0	1	5
500	1	5	9	45	2	10	5	25
550	2	10	1	5	0	0	1	5
600	4	20	3	15	3	15	0	0
650	2	10	1	5	4	20	2	10
700	1	5	0	0	1	5	2	10
750	2	10	1	5	3	15	1	5
800	0	0	1	5	2	10	0	0
850	0	0	0	0	0	0	2	10
900	0	0	0	0	1	5	0	0
950	0	0	0	0	0	0	0	0

8. Histologische Untersuchung

Bei der histologischen Untersuchung sind in sämtlichen Organen weder degenerative noch entzündliche Veränderungen nachgewiesen worden, die auf die Fettdiäten zurückgeführt werden könnten.

An der Herzmuskulatur ließ sich die Querstreifung gut nachweisen. Die Zellkerne der Herzmuskelzellen hatten eine ovale Gestalt und ein feines Chromatingerüst. Herznarben oder Veränderungen an den Gefäßen konnten nicht festgestellt werden.

Die Lebern zeigten bei sämtlichen Versuchstiergruppen eine geringgradige periphere Verfettung der Leberläppchen. In Gruppe 1 b waren die Fetteinlagerungen etwas geringer als in den übrigen Gruppen, jedoch konnten bei keinem Versuchstier in der Leber zentrolobuläre Nekrosen beobachtet werden. Außerdem konnten bei sämtlichen Tieren im Protoplasma der Kupffer'schen Sternzellen neben den Fetttropfen, die sich bei der Scharlachrotfärbung intensiv rot anfärbten, braun-schwarze Pigmentablagerungen nachgewiesen werden. Diese

Tab. 14. Erreichtes Lebensalter pro Gruppe
(Mittelwerte und Standardabweichungen)

	Versuchsreihe 1: (n/Gruppe = 40)			Versuchsreihe 2: (n/Gruppe = 20)		
	Gruppe a	Gruppe b	Gruppe c	Gruppe a	Gruppe b	Gruppe c
<i>Männchen</i>						
Mittelwert in Tagen	695	605	647	541	489	593
Standardabweichung	(161,97)	(167,49)	(205,64)	(105,84)	(130,80)	(167,43)
<i>Weibchen</i>						
Mittelwert in Tagen	613	613	590	509	508	489
Standardabweichung	(171,89)	(201,55)	(212,33)	(186,42)	(140,68)	(178,05)

Tab. 15. Lebendgewicht, Körpergewicht ohne Magen-Darm-Trakt und Organgewichte in Gramm (Mittelwerte und Standardabweichungen, n/Gruppe = 10 Männchen)

Versuchsreihe 1:	Lebendgewicht	Körpergewicht ohne Magen-Darm-Trakt	Organgewichte				
			Herz	Leber	Milz	Nieren	Testes
Gruppe a:							
Mittel	315	293,7	1,5	8,4	0,8	2,5	3,6
Standardabweichung	20,00	19,51	0,07	0,90	0,19	0,29	0,71
Gruppe b:							
Mittel	312	288,7	1,5	8,7	0,7	2,6	4,0
Standardabweichung	14,90	16,70	0,12	1,25	0,15	0,21	1,20
Gruppe c:							
Mittel	304	282,7	1,4	8,5	0,7	2,4	3,7
Standardabweichung	37,35	37,28	0,20	0,89	0,25	0,28	0,48

zeigten im polarisierten Licht eine einfache Lichtbrechung, wiesen aber im UV- und Blaulicht keine Fluoreszenzerscheinungen auf. Ferner waren z. T. die Leberkapillaren mit Fettsubstanzen angefüllt.

Die Lebern der Tiere, die neben der Fettdiät einen Acetaminofluorenzusatz erhielten, wiesen karzinomatöse Wucherungen auf. Die Größe und die Ausmaße der veränderten Leberlappen war jedoch in allen 3 Versuchsgruppen etwa gleich schwer.

In den Milzen wurde bei sämtlichen Gruppen ein normaler Pigmentgehalt nachgewiesen. Bei einigen Tieren lagen jedoch am Rande der Milzfollikel intrazellulär kleinste Fettröpfchen.

In den Nieren enthielten die Zellen der Hauptstücke z. T. kleinste Fettröpfchen. Der Bürstensaum dieser Zellen war gut erhalten und die Zellkerne kreisrund. An den übrigen Abschnitten der Harnkanälchen und an den Nierenkörperchen waren keine pathologisch-histologischen Veränderungen zu beobachten.

In den Samenkanälchen der Testes befanden sich sowohl bei den Tieren, die nur die Fettdiät erhalten hatten, als auch bei den Tieren, die noch zusätzlich Acetaminofluoren erhielten, unzählige ausgereifte Spermien.

9. Chemisch-analytische Daten des Keimöles

Während der gesamten Versuchsdauer hat sich die in den Tab. 2 und 3 angegebene Zusammensetzung des Keimöles kaum verändert. Die Jodzahl nimmt nach fünfmaligem Erhitzen des Öles in Gegenwart von Backgut (Rezepte Tab. 4) für die Versuchsreihen 1b und 2b im Vergleich zum Ausgangswert garnicht oder nur sehr geringfügig ab. Die Peroxidzahl steigt vom Ausgangswert 0 nur gering auf den Mittelwert 0,5 an. Der Gehalt an freien Fettsäuren verändert sich von einem maximalen Ausgangswert von 0,03% auf einen Mittelwert von 0,12%. Die Viskosität von etwa 45 cP (30 °C) bleibt gegenüber dem Ausgangswert meist unverändert und steigt nur in wenigen Kontrollen auf einen Mittelwert von 45,6 cP (30 °C) an. Die ermittelten analytischen Daten nach fünfmaligem Erhitzen des Keimöles ohne Gegenwart von Backgut (Versuchsreihen 1c und 2c) entsprechen den vorstehend erläuterten Befunden.

III. Diskussion

Infolge der zunehmenden Verwendung von polyensäurereichen Ölen zum Braten, Kochen und Backen ist wiederholt die Frage diskutiert worden, ob ihre küchentechnische Verarbeitung zu einer Minderung des Gehaltes an biologisch wirksamen Inhaltsstoffen führen könnte. Dabei wird von der richtigen Feststellung ausgegangen, daß bei der Behandlung von Fetten in Anwesenheit von Sauerstoff unter hohen Temperaturen, insbesondere auch in Gegenwart von Katalysatoren, Peroxide und Polymerisate, ferner weiter chemisch noch nicht definierte Verbindungen entstehen. Jedoch führt erst die Anwendung von Temperaturen über 220 °C zur Bildung von Umwandlungs- bzw. bei noch höheren Temperaturen auch von Zersetzungsprodukten. Dagegen konnte in einigen Untersuchungen unter genau kontrollierten Bedingungen festgestellt werden, daß unter küchentechnischen Voraussetzungen keine chemischen Veränderungen der Fette eintreten (BROWN, HARMUTH und BÖHLE). Bei den mit einem Erhitzen des Fettes verbundenen küchentechnischen Verfahren wie Kochen,

Dünsten, Schmoren, Braten, Backen, Ausbacken im Fettbad, werden im allgemeinen Temperaturen von etwa 200 °C nicht überschritten. Da die meisten Gerichte im Endprodukt noch beträchtliche Mengen Wasser enthalten, werden die kritischen Erhitzungstemperaturen im allgemeinen nicht erreicht.

Da bereits in früheren Untersuchungen (HARMUTH und BÖHLE u. a.) der Einfluß küchentechnischer Verarbeitung auf die Fettsäurezusammensetzung des Maiskeimöles eingehend untersucht worden und dadurch eine exakte chemisch-analytische Grundlage vorhanden war, benutzten wir dieses Öl in unseren Versuchen. Aus oben zitierter Arbeit war weiterhin bekannt, daß beim Ausbacken verschiedener Gerichte in einer Fritteuse unter Verwendung dieses Keimöles nur geringe Verschiebungen in den Fettsäurespektren der Testgerichte auftraten. Für die gesamte Versuchsdauer stand das Öl in einer stets gleichbleibenden Zusammensetzung zur Verfügung. Wir verwendeten in unseren Experimenten das mehrfach in einer Fritteuse erhitzte Fett, da in der Praxis das Fett nicht nur einmal verwendet wird. So konnten wir die biologischen Wirkungen an einem Normalfall der Beanspruchung eines Nahrungsfettes überprüfen.

Bei den uns hier bekannt gewordenen Fütterungsversuchen über die biologischen Wirkungen mäßig erhitzter Fette (KAUNITZ, KUMMEROW u. Mitarb. u. a.) war entweder die Versuchsdauer zu kurz oder die eingesetzte Tierzahl zu gering. Unsere Untersuchungen beziehen sich auf eine Rattengeneration vom Absetzen bis zum natürlichen Tod der Versuchstiere, erstrecken sich also auf etwa 2½ Jahre. Durch die gewählte Versuchsanordnung war es möglich, die Organe der meisten Tiere frei von postmortalen Veränderungen zu erhalten und gleichzeitig das Lebensalter der Tiere möglichst wenig zu verfälschen.

Unsere Experimente haben gezeigt, daß sich in allen beobachteten Kriterien keine Unterschiede zwischen unbehandeltem und behandeltem Öl ergeben. Die Verfütterung von 0,005% Acetaminofluoren zusätzlich zum behandelten Öl steigerte die Tumorraten nicht.

Für die allgemeine Verwendung eines polyensäurereichen Keimöles sind diese Feststellungen unter ernährungsphysiologischen Aspekten von grundsätzlicher Bedeutung. Zahlreiche biochemische und klinische Forschungen legen die Vermutung nahe, daß außer dem Gehalt an Polyensäuren, insbesondere an Linolsäure, noch weitere Faktoren die Wirkung von Pflanzenölen beeinflussen. Die unter unseren Versuchsbedingungen ermittelten Befunde lassen sich demnach nicht ohne weiteres auf andere Nahrungsfette übertragen.

Die Untersuchungen über den Cholesteringehalt im Serum eröffnen einen weiteren interessanten Aspekt. Bekanntlich hat eine Hypercholesterinämie einen ungünstigen Einfluß auf die Entwicklung von degenerativen Gefäßerkrankungen. Die Untersuchungen auf diesem Gebiet basieren zu einem wesentlichen Teil auf der Feststellung, daß eine fettreiche Nahrung den Cholesteringehalt des Blutes erhöht. Gerade in hochzivilisierten Ländern wird eine fettreiche Kost bevorzugt. Durchschnittsberechnungen zeigen, daß gegenwärtig etwa 40% und mehr der täglichen Gesamtkalorien aus Fetten stammen. Das gehäufte Auftreten verschiedener Stoffwechselkrankheiten in Ländern, in denen der Nahrungsfettkonsum sehr hoch ist, bei gleichzeitig nachgewiesenem erhöhten Serumcholesterinspiegel legt den Verdacht auf einen kausalen Zusammenhang zwischen diesen Faktoren nahe. Nur der übermäßige Genuß von Fetten mit gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren führt zu einer

Erhöhung des Cholesterinspiegels im Blut. Die in unseren Untersuchungen im Futter eingesetzten 20% Fett entsprechen einem Fettanteil der menschlichen Ernährung von etwa 36 Kalorienprozent der täglichen Nahrung, also annähernd den Verhältnissen in Ländern mit hohem Lebensstandard. Bei den untersuchten Ratten bleibt auch nach langfristiger Verabreichung dieser fettreichen Kost der Serumcholesterinspiegel im physiologischen Bereich.

Zusammenfassung

An zwei parallel laufenden Versuchsreihen wurden die biologischen Wirkungen von Maiskeimöl nach dem Erhitzen unter küchentechnischen Bedingungen untersucht. Die Versuchsdauer umfaßte den gesamten Lebensablauf der Tiere vom Absetzen bis zum natürlichen Tod. Für die Versuche wurden entwöhnte Sprague-Dawley-Ratten eingesetzt, und zwar je 40 Männchen und Weibchen in der ersten sowie je 20 Männchen und Weibchen in der zweiten Versuchsreihe. Alle Tiere erhielten eine halbsynthetische Kostform, in der nur die Behandlungsart des Fettes wechselte. Der Fettanteil bestand jeweils aus 20% Mazola-Keimöl, und zwar a) aus handelsüblicher Ware; b) aus an 5 aufeinanderfolgenden Tagen in Gegenwart von Backgut jeweils 30 min lang auf 175 bis 200 °C erhitztem Öl; c) aus an 5 aufeinanderfolgenden Tagen ohne Backgut jeweils 30 min lang auf 200 bis 220 °C erhitztem Öl. In der Versuchsreihe 2 enthielt das Futter zusätzlich 0,005% Acetaminofluoren. Die beobachteten Kriterien waren: Futteraufnahme, Wachstum, Protein-Efficiency, Gesamtcholesterin im Serum in der 87. Versuchswoche, Leberfunktionsprobe nach 104 Versuchswochen, Lebensalter, Organgewichte, histologische Untersuchung von Herz, Leber, Milz, Nieren und Testes, chemisch-analytische Kontrolle verschiedener Kennzahlen des benutzten Öles. In allen untersuchten Kriterien konnte kein Unterschied in der biologischen Wirkung zwischen dem unbehandelten Öl einerseits sowie den erhitzten Ölen andererseits festgestellt werden. Die gleichzeitige Verfütterung von 0,005% Acetaminofluoren steigerte die Tumorraten nicht. Eine, auch nur schwache kanzerogene Wirkung des unter den genannten Bedingungen erhitzten Maiskeimöles ist daher auszuschließen.

Die chemische Analyse ergab, daß durch die thermische Belastung praktisch keine Veränderungen des Maisöls (Fettsäurespektrum, Kennzahlen) aufgetreten waren.

Literaturverzeichnis

- ARFFMANN, E., J. Nat. Cancer Inst. **25**, 893 (1960). — BROWN, J. B., Nutr. Rev. **17**, 321 (1959). — CHANG, I. C. L. und B. M. WATTS, J. Amer. Oil Chem. Soc. **29**, 334 (1952). — CZOK, G., Klin. Wschr. **40**, 1211 (1962). — ENGEL, R. W. und D. H. COPELAND, Cancer Res. **12**, (1952). — HARMUTH, E. und E. BÖHLE, Med. u. Ern. **5**, 145 (1964). — KAUNITZ, H. u. Mitarb., 7. Intern. Ernährungskongreß, Symposium II, Hamburg 1966. — KEANE, K. W. u. Mitarb., J. Nutr. **68**, 57 (1959). — KIECKEBUSCH, W., K. JAHR, G. CZOK, W. GRIEM, K.-H. BÄSSLER, C. H. HAMMAR und K. LANG, Fette, Seifen, Anstrichmittel **64**, 1154 (1962). — KOLLER, S., HOPPE-SEYLER-THERIEFELDER, 10. Aufl., Bd. 2, Allgem. Untersuchungsmethoden S. 931. — KUMMEROW, F. A. u. Mitarb., J. Amer. Oil Chem. Soc. **33**, 433 (1956); **34**, 407, 594 (1957); J. Nutr. **68**, 101 (1959). — MELNICK, D. u. Mitarb., J. Amer. Oil Chem. Soc. **34**, 351 (1957); **35**, 271 (1958). — PEARSON, S. u. Mitarb., Analyt. Chem. **25**, 813 (1953). — PHILLIPS, J. A. und G. E. VAIL, J. Amer. Diet. Ass. **50**, 116 (1967). — SUGAI, M. u. Mitarb., Cancer Res. **22**, 510 (1962). — SYMBONIDIS, A., J. Nat. Cancer Inst. **29**, 145 (1964).

Anschriften der Autoren:

Frau Dr. W. KIECKEBUSCH, 6500 Mainz, Freiherr-vom-Stein-Str. 11
 Priv.-Doz. Dr. G. CZOK, Pharmakologisches Universitäts-Institut, 2000 Hamburg 20, Martinistr. 52,
 W. GRIEM, Staatl. Gesundheitsamt Berlin
 und Prof. Dr. Dr. K. LANG, 7812 Bad Krozingen, Schwarzwaldstr. 71