

Biologische Verfügbarkeit von Zink in Getreidevollkornprodukten mit unterschiedlichem Phytatgehalt

A. E. Harmuth-Hoene und F. Meuser

Institut für Biochemie, Bundesforschungsanstalt für Ernährung,
Karlsruhe, Institut für Lebensmitteltechnologie – Getreidetechnologie,
Technische Universität Berlin

Zusammenfassung: Aufgrund des hohen Phytatgehaltes ist die Bioverfügbarkeit von Zink in Getreidevollkornprodukten im Vergleich zu tierischen Nahrungsmitteln deutlich herabgesetzt. In dreiwöchigen Fütterungsversuchen an wachsenden Ratten wurde geprüft, wie sich eine Reduzierung des Phytatgehaltes in Vollkornprodukten aus Roggen und Weizen auf Wachstum, Zinkgehalt in Femur und Blutserum sowie auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Blutserum auswirkt. Die Reduzierung des Phytats erfolgte mit Hilfe der getreideeigenen Phytaseaktivität. Durch die getroffenen Maßnahmen verringerte sich der molare Phytinsäure/Zink-Quotient in den Vollkornprodukten von 27–37 auf 3–18. Alle 4 untersuchten Parameter zeigten eine signifikante Verbesserung der Zinkverfügbarkeit mit abnehmendem Phytinsäure/Zink-Quotienten. Die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf den Menschen sowie die Eignung des Phytinsäure-Zink-Quotienten als Indikator für die Zinkverfügbarkeit in Nahrungsmitteln werden diskutiert.

Summary: Due to its high phytate content, the bioavailability of zinc in whole meal cereal products is distinctly lower as compared to foods of animal origin. The effect of reducing the phytate content of cereal products made from rye and wheat on growth, zinc content of femur and blood serum, as well as on the activity of serum alkaline phosphatase was investigated during a 3-week feeding trial in growing rats. The reduction of phytate was achieved by controlling the phytase activity originally present in cereals. By these treatments, the molar phytic acid/zinc ratio in the cereal products was reduced from 27–37 to 3–18. The four parameters under investigation showed a significant improvement in zinc bioavailability with decreasing phytic acid/zinc ratios. The relevance of these results for man and the value of the molar phytic acid/zinc ratio as an indicator of the bioavailability of zinc in foods are discussed.

Schlüsselwörter: Roggen- und Weizenvollkornprodukte, Zinkverfügbarkeit, Phytatreduzierung, alkalische Phosphatase, Femurzink, Serumzink

Einleitung

Unter den pflanzlichen Nahrungsmitteln sind Getreidevollkornprodukte besonders reich an essentiellen Mineralstoffen und Spurenelementen, deren Bioverfügbarkeit jedoch im Vergleich zu der tierischer Nahrungsmittel wesentlich geringer ist. Obwohl vielfach der hohe Gehalt an

Ballaststoffen in Getreidevollkornprodukten hierfür verantwortlich gemacht wird (1, 2), haben neuere Untersuchungen gezeigt, daß die Bioverfügbarkeit von Mineralstoffen in erster Linie durch die in Lebensmitteln vorkommende Phytinsäure beeinträchtigt wird (3, 4, 5). Die Phytinsäure ist das Hexakis Dihydrogenphosphat des Myoinositals und wird während der Reifung in Masseanteilen von 0,5–2,0 % vorwiegend in der Aleuronschicht des Getreidesamens als Ca-, Mg- und K-Salz eingelagert (6). Der im Samen enthaltene Phosphor liegt zu 40–80 % als Phytatphosphor vor. In schwach saurem oder neutralem Milieu binden die negativ geladenen Phosphatgruppen des Phytats eine Reihe von Mineralstoffen in Form unlöslicher, nicht resorbierbarer Komplexe, deren Stabilität in der Reihenfolge Cu > Zn > Ni > Co > Mn > Fe > Ca abnimmt (7). Zweiwertige Kationen werden im neutralen Bereich auch in Form eines ternären Komplexes zwischen Phytinsäure und Protein gebunden (8).

Eine deutliche Beeinträchtigung der Zinkverfügbarkeit in Nahrungsmitteln mit einem hohen Phytatgehalt, vor allem in Getreidevollkorn- und Sojaprodukten, wurde an verschiedenen Versuchstieren (9, 10) und am Menschen (11, 12) nachgewiesen oder vermutet. Die gleiche Wirkung wurde durch Zugabe von Phytinsäure zur Diät beobachtet (13, 14). Kennzeichnend für das Ausmaß, in dem die Zinkverfügbarkeit reduziert wird, ist der molare Phytinsäure/Zink-Quotient. Bei einem Quotienten < 12 wurde keine Beeinträchtigung des Wachstums oder der Akkumulation von Zink im Knochen (Tibia oder Femur) beobachtet (15), während bei einem Quotienten > 20 der Femur-Zinkgehalt signifikant reduziert war (16). In Weizen- und Roggenvollkornprodukten liegt der Phytinsäure/Zink-Quotient zwischen 21 und 82 (17). Dies bedeutet, daß der heute vielfach empfohlene vermehrte Verzehr von Vollkornprodukten bei gleichzeitig verringelter Zufuhr von tierischen Nahrungsmitteln, die kein Phytat enthalten, zu einer verringerten Zinkverfügbarkeit führen kann.

Das Risiko einer marginalen oder unzureichenden Zinkversorgung bei Personen, die sich ausschließlich oder vorwiegend vegetarisch ernähren, aber auch bei Bevölkerungsgruppen mit erhöhtem Zinkbedarf, in Krankheitsfällen, bei Kindern und Jugendlichen, während Schwangerschaft und Laktation darf nicht unterschätzt werden. In dieser Situation erscheint es sinnvoll, durch eine Reduktion des Phytatgehaltes von Vollkornprodukten die Verfügbarkeit von Zink zu verbessern.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bioverfügbarkeit von Zink in Roggen- und Weizenvollkornmehlprodukten, die zuvor einer Phytathydrolyse unterzogen wurden, und der unbehandelter Versuchsproben im Versuch mit wachsenden Ratten ermittelt. Als Parameter für die Zinkverfügbarkeit wurden Wachstum, Femur-Zinkgehalt, Serumzink und die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum verwendet. Die Hydrolyse der Phytinsäure in den Vollkornprodukten erfolgte mit Hilfe der in den Mahlprodukten enthaltenen Phytase. Diesbezüglich ist darauf hinzuweisen, daß Getreidevollkornprodukte reich an Phytase sind (18). Das Enzym hydrolysiert bei der Brotherstellung in der Teig- und Backphase die vorhandene Phytinsäure jedoch nur partiell, so daß diese ihre Komplexbildungseigenschaften nicht vollständig verliert. Deshalb ist das Ausmaß der Phytinsäurehydrolyse für die Bioverfügbarkeit von Mineralstoffen von großem Interesse.

Die Hydrolyse schreitet bei der Brotherstellung dann besonders weit fort, wenn die Anforderungen an den pH-Wert und die Temperatur für das Wirkungsoptimum des Enzyms möglichst genau getroffen und lange aufrechterhalten werden. Dafür sind beispielsweise besonders gute Voraussetzungen bei der Herstellung von Vollkornbrot mit Sauerteigen gegeben, insbesondere dann, wenn diese in mehreren Stufen über viele Stunden geführt werden. Selbst dabei werden aber immer noch erhebliche Anteile der Phytinsäure in den Rohstoffen nicht hydrolysiert und gelangen in das Brot, wo sie ihren Einfluß auf die Bioverfügbarkeit von Mineralstoffen entfalten können.

Wir haben deshalb versucht, die Phytinsäurehydrolyse unter Ausnutzen des hohen Phytasegehaltes in Vollkornmahlprodukten durch besondere Reaktionsbedingungen weiterzutreiben, als das unter den herkömmlichen möglich ist. Über dieses Verfahren ist bereits an anderer Stelle ausführlich berichtet worden (19). Aus diesem Grund soll hier auf die experimentelle Vorgehensweise zur Phytinsäurehydrolyse nur insoweit eingegangen werden, als es für das Verständnis der Ergebnisse dieser Arbeit notwendig ist. Die Arbeit war insbesondere darauf gerichtet, zu prüfen, ob die erzielbare weiterreichende Phytinsäurehydrolyse zu einer Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Zink führen kann.

Material und Methoden

Hydrolyse der Phytinsäure in Vollkornprodukten

Es wurden insgesamt 13 phytathaltige Futtermischungen verfüttert. Die Futtermischungen unterschieden sich hinsichtlich ihres Anteils an Mahlprodukten sowie deren Zusammensetzung und Behandlung.

Zur Herstellung der Futtermischungen wurden ein Weizen und ein Roggen auf einem Bühler-Mahlautomaten zu Vollkornmahlprodukten vermahlt. Aus einem Teil des Mahlguts wurde die Kleie einschließlich des Keimlings abgesiebt. Es wurden jeweils 80 % Mehl und 20 % Kleie erhalten.

Die Kleie, die Vollkornmahlprodukte sowie eine Mischung aus 70 % des einen und 30 % des anderen Vollkornmahlprodukts wurden ohne weitere Behandlung in den Futtermischungen verwendet (Produkt-Nr. 1-6).

Zur Hydrolyse der Phytinsäure wurden die Kleien (Produkt-Nr. 7 und 8) sowie die Mischung aus 70 % Roggen- und 30 % Weizenvollkornmahlprodukt (Produkt-Nr. 9) mit Wasser aufgeschwemmt und mit Milchsäure auf einen pH-Wert von 5,2 eingestellt. Die Suspensionen, die etwa einen Feststoffgehalt von 30 % besaßen, wurden dann auf 55 °C erwärmt und 1 h bei dieser Temperatur gehalten. Danach wurden sie abgekühlt und durch Gefriertrocknen und nachfolgendes Vermahlen in Pulverform übergeführt.

Aus den Vollkornmahlprodukt-Mischungen wurden zur Phytinsäurehydrolyse auf unterschiedliche Weise Brote gebacken. Die Brotherstellung erfolgte zum einen unter Verwenden einer dreistufigen Sauerteigführung (Produkt-Nr. 11 und 13), wobei jeweils 40 % des eingesetzten Roggenvollkornmahlprodukts versäuerd wurden. Diese Vorgehensweise entspricht dem Stand der Technik. Zum anderen wurde zur weiterreichenden Phytinsäurehydrolyse Brot nach einer speziell entwickelten Teigführungstechnik gebacken (Abb. 1) (19).

Für diese ist vorgesehen, daß zunächst der größte Teil des Phytats durch Abtrennen der Kleie vom Mehl in dieser angereichert wird. Die Kleie wird dann in Wasser suspendiert. In der Suspension wird durch Einstellen der für die Phytaseaktivität optimalen Bedingungen in einem ersten Schritt die Phytinsäure abgebaut. Mit

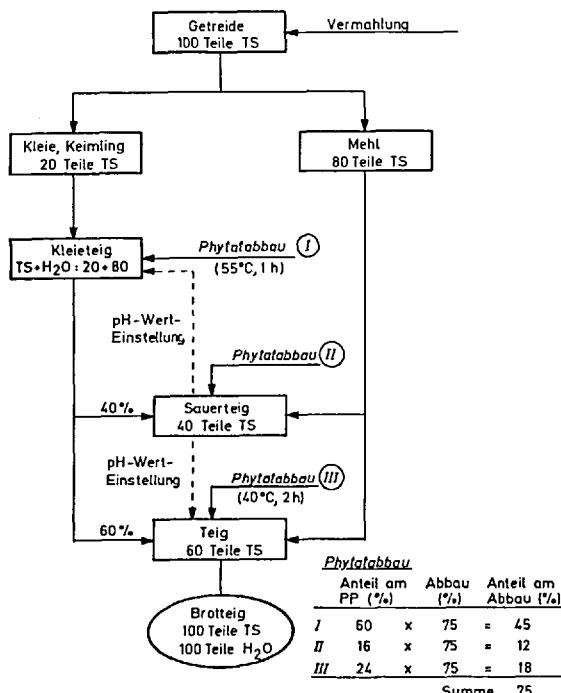


Abb. 1. Teigführung zur Erhöhung des Phytinsäureabbaues in Vollkornbrot.

einem Teil dieser Teigmasse wird dann mit einem Teil des Mehls ein Sauerteig gebildet, um in einem zweiten Schritt die Phytinsäure im Mehl abzubauen. Schließlich wird in einem dritten Schritt die verbleibende Mehlmasse mit den bereits behandelten Massen zur weiteren Phytinsäurehydrolyse vermischt. Auf diese Weise gelingt es, etwa 75 % der vorhandenen Phytinsäure zu hydrolysieren.

Dieses Ergebnis wurde bei der Herstellung der hier als Futtermischung bestandteil dienenden Brote (Produkt-Nr. 10 und 12) tatsächlich erreicht. Die Phytinsäurehydrolyse betrug dagegen bei den mit herkömmlicher Sauerteigführung hergestellten Brotarten (Produkt-Nr. 11 und 13) nur 60 bzw. 41 %.

Alle Brote wurden getrocknet und danach zu einem Pulver vermahlen. In dieser Form wurden sie in den Futtermischungen verwendet.

Futtermischungen

Der Zinkgehalt der Basisdiät wurde durch Verwendung von Eialbumin (1,45 ppm Zink), Saccharose und einer zinkarmen Mineralstoffmischung (C 1040, Fa. Altromin) auf ein Minimum reduziert. Die Herstellung der Versuchsdäten erfolgte durch Substitution der Saccharose mit Getreidevollkornprodukten in der Weise, daß der Zinkgehalt der Futtermischungen ca. 7,0 und 7,5 ppm betragen sollte. Gleichzeitig wurde der Albuminanteil entsprechend dem aus dem Getreide stammenden Protein reduziert, um einen Proteingehalt von 15 % in allen Futtermischungen zu erzielen. Die Kontroldiät wurde durch Zugabe von $ZnSO_4$ auf einen Zn-Gehalt von 7,5 ppm eingestellt.

Fütterungsversuche

Männliche Sprague-Dawley-Ratten im Alter von 21 Tagen wurden in 14 gewichtsgleiche Gruppen von je 8 Tieren eingeteilt und in individuellen Makrolonkäfigen

mit Laufgittern aus Edelstahl unter Standardbedingungen (22 °C, 55 % rel. Feuchtigkeit, 12 Stunden Hell-Dunkel-Zyklus) gehalten. Die Tiere erhielten die Kontrolldiät bzw. die 13 Versuchsdäten kontinuierlich über drei Wochen. Durch eine restriktive Fütterung, bei der die täglich eingewogene Futtermenge der mittleren täglichen Futteraufnahme in der Gruppe mit dem geringsten Verzehr entsprach, wurde eine einheitliche Zinkaufnahme in allen Gruppen erzielt.

Die Tiere hatten freien Zugang zu entmineralisiertem Wasser. Die Gewichtsveränderung der Tiere wurde wöchentlich ermittelt. Nach Abschluß des Versuches wurden die Tiere in der Äthernarkose entblutet. Das Blut wurde in heparinisierten Zentrifugengläsern aufgefangen. Anschließend wurden beide Femora entnommen und von anhaftendem Gewebe gereinigt.

Analytik

Die Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase (EC 3.1.3.1) erfolgte in verdünntem Serum mit p-Nitrophenylphosphat als Substrat durch Messung der Extinktion des gebildeten p-Nitrophenols bei 405 nm (Testkombination von Boehringer Mannheim GmbH). Die Zinkkonzentration im Serum und beiden Femora wurde nach Trockenveraschung mit Hilfe der AAS (Perkin Elmer 2380) bestimmt. Die Zink- und Kalziumanalysen in den Getreideprodukten und Futtermischungen wurden ebenfalls nach Trockenveraschung mit der AAS durchgeführt. Der Ballaststoffgehalt im Futter wurde nach der enzymatisch gravimetrischen Methode von Asp und Mitarb. (20) bestimmt. Diese Methode erfaßt neben den unlöslichen auch die wasserlöslichen Ballaststoffe. Die Phytinsäure in den Getreideprodukten wurde nach der Methode von Holt (21) bestimmt. Diese Methode sieht die Extraktion des Probenmaterials mit Salpetersäure vor. Die im Extrakt enthaltene Phytinsäure wird indirekt durch die Komplexbildung mit Eisenionen kolorimetrisch bestimmt.

Statistische Analyse

Die Versuchsergebnisse wurden unter Anwendung der einfachen Varianzanalyse, Duncan-Multiple-Range-Test und der einfachen Regressionsanalyse ausgewertet (22).

Ergebnisse

Der Gehalt an Phytinsäure und Zink sowie die daraus berechneten molaren Quotienten für die 13 Roggen- und Weizenvollkornprodukte sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Durch die Hydrolyse wurde der Phytinsäuregehalt in den Proben 7–13 auf 12 % (Probe 9) – 55 % (Probe 13) des Ausgangswertes reduziert. Es fällt auf, daß der Zinkgehalt der Proben nach der Phytinsäurehydrolyse ausnahmslos höher war als im Ausgangsmaterial. Eine Erklärung dafür konnte nicht gefunden werden. Durch die Phytinsäurehydrolyse verringerte sich der molare Phytinsäure/Zink-Quotient von 27–37 (Proben 1–6) auf 3–18 (Proben 7–13).

Die Zusammensetzung der Kontrollfuttermischung und der 13 Versuchsfuttermischungen ist aus Tabelle 2 zu entnehmen. Die Analyse der Futtermischungen (Tabelle 3) ergab einen vergleichbaren Gehalt an Zink, Kalzium, Ballaststoffen und Rohprotein. Der Gehalt an Phytinsäure variierte zwischen 0,2 mg/g (Gruppen 8 und 9) und 2,6 mg/g (Gruppe 3). Durch den Zinkanteil aus Eialbumin ergaben sich nur geringfügige Veränderungen des Phytinsäure/Zink-Quotienten in den Futtermischungen gegenüber dem Ausgangsmaterial.

Tab. 1. Gehalt an Phytinsäure und Zink sowie molarer Quotient aus Phytinsäure und Zink in Roggenvollkornprodukten.

Kennzeichnung Nr.	Produkt	Phytinsäure ¹⁾		Zink µg/g TS	Molarer Quotient Phytinsäure/Zink
		mg/g TS	relativer Anteil (%)		
6	70 % Weizen + 30 % Roggen Schröt	10,7	100,0	33,6	32,1
12	Brot A ²⁾	2,6	24,5	43,9	6,0
13	Brot B ³⁾	6,2	58,5	34,5	18,2
5	70 % Roggen + 30 % Weizen Schröt	10,2	100,0	37,4	27,5
9	Schröt A	1,3	12,2	(37,4) ⁴⁾	3,3
10	Brot A	2,5	24,4	40,3	6,3
11	Brot B	4,1	40,0	40,8	10,1
1	Weizenkleie	41,2	100,0	119,3	34,8
7	Weizenkleie A	16,4	39,9	120,1	13,8
2	Roggenkleie	25,6	100,0	89,9	28,8
8	Roggenkleie A	3,5	13,7	102,7	3,4
3	Weizenschrot	11,6	100,0	31,6	37,0
4	Roggenschrot	9,8	100,0	36,9	26,8

¹⁾ Phytinsäuregehalt im unbehandelten Ausgangsmaterial = 100 %²⁾ A = Phytinsäure durch spezielle Behandlung abgebaut³⁾ B = Phytinsäure durch dreistufige Sauerstoffführung abgebaut⁴⁾ Wert aus Nr. 5 übernommen

Tab. 2. Zusammensetzung der Futtermischungen in Prozent Masseanteil.

Kennzeichnung Nr.	Spezieller Futtermischungsanteil	Getreide- produkt	Ei- albumin	Saccha- rose	Mais- keimöl	Vit- amine ¹⁾	Mineral- stoffe ²⁾	Zellu- lose
0	Kontrolle	-	18,5	66,5	3,0	2,0	6,0	4
6	70 % Weizen + 30 % Roggen Schröt	23,7	15,1	50,2	3,0	2,0	6,0	-
12	Brot A	17,3	15,8	55,9	3,0	2,0	6,0	-
13	Brot B	19,8	15,4	53,8	3,0	2,0	6,0	-
5	70 % Roggen + 30 % Weizen Schröt	21,3	15,7	52,0	3,0	2,0	6,0	-
9	Schröt A	14,1	16,7	58,2	3,0	2,0	6,0	-
10	Brot A	18,8	15,8	54,4	3,0	2,0	6,0	-
11	Brot B	18,8	15,8	54,5	3,0	2,0	6,0	-
1	Weizenkleie	6,7	17,2	65,1	3,0	2,0	6,0	-
7	Weizenkleie A	6,2	17,3	65,5	3,0	2,0	6,0	-
2	Roggenkleie	8,8	17,0	63,2	3,0	2,0	6,0	-
8	Roggenkleie A	7,2	17,2	64,6	3,0	2,0	6,0	-
3	Weizenschröt	25,2	14,8	49,0	3,0	2,0	6,0	-
4	Roggenschrot	21,6	15,8	51,6	3,0	2,0	6,0	-

¹⁾ Vitaminmischung, Fa. Altromin, für Kontrolldiät C 1000²⁾ Mineralstoff- und Spurenelementmischung, Fa. Altromin, für zinkarme Diät C 1040

A = Phytinsäure durch spezielle Behandlung abgebaut

B = Phytinsäure durch dreistufige Sauerstoffführung abgebaut

Tab. 3. Gehalt an Zink, Phytinsäure, Kalzium, Ballaststoffen und Protein in den Futtermischungen.

Kennzeichnung Nr. (Futtermischung)	Zink (µg/g)	Phytinsäure ¹⁾ (mg/g)	Kalzium (mg/g)	Ballaststoffe (%)	Rohprotein (%)
Kontrolle	7,5	—	7,4	4,4	14,8
6	6,6	2,2	7,5	3,9	14,7
12	7,1	0,4	7,5	3,5	15,1
13	6,9	1,1	7,4	3,5	14,3
5	7,1	1,9	7,5	3,9	15,3
9	7,1	0,2	7,4	3,9	15,2
10	6,7	0,5	7,5	3,6	14,6
11	7,0	0,7	7,5	3,9	14,9
1	7,2	2,4	7,4	3,7	14,9
7	7,5	1,0	7,3	3,8	15,0
2	7,5	2,0	7,4	4,4	14,7
8	7,5	0,2	7,4	4,4	14,9
3	7,4	2,6	7,4	3,8	14,5
4	6,9	1,9	7,5	4,1	15,1
X ± SD	7,1 ± 0,3	—	7,43 ± 0,06	3,9 ± 0,3	14,9 ± 0,3

¹⁾ Errechnet aus den zugehörigen Angaben in Tabelle 1 und 2 unter Berücksichtigung des Wassergehalts des speziellen Futtermixschungsanteils

Tab. 4. Einfluß von Getreidevollkornprodukten mit unterschiedlichem molarem Phytinsäure/Zink-Quotienten auf Wachstum, Zinkgehalt in Knochen und Serum sowie die alkalische Phosphatasaktivität im Serum von jungen Ratten.

Kennzeichnung Nr. (Tiergruppe bzw. Futtermischung)	Molarer Quotient Phytin- säure : Zink	Zinkzufuhr mg/3 Wochen	Gewichts- zunahme g/3 Wochen	Femurzink µg/g (TS)	Serumzink µg/ml	Alkalische Phos- phatase im Serum U/l
Kontrolle	0	1,44 ± 0,02 ^{a,1,2)}	67,8 ± 5,7 ^a	107,4 ± 16,5 ^a	1,36 ± 0,11 ^a	310 ± 30 ^a
6	32,1	1,42 ± 0,03 ^a	55,9 ± 5,4 ^{c,d}	85,0 ± 4,1 ^{c,d}	0,52 ± 0,05 ^{c,d,e}	186 ± 25 ^{e,f}
12	6,0	1,44 ± 0,02 ^a	58,1 ± 3,4 ^c	104,9 ± 8,2 ^a	1,18 ± 0,23 ^{a,b}	290 ± 18 ^{a,b}
13	18,2	1,43 ± 0,03 ^a	57,9 ± 4,7 ^c	91,8 ± 10,6 ^{b,c}	0,72 ± 0,16 ^c	197 ± 29 ^{e,f}
5	27,5	1,40 ± 0,07 ^a	51,2 ± 3,2 ^{d,e}	90,0 ± 12,5 ^{b,c}	0,61 ± 0,13 ^{c,d}	217 ± 37 ^{d,e}
9	3,3	1,45 ± 0,02 ^a	58,9 ± 3,5 ^c	104,6 ± 7,9 ^a	1,26 ± 0,27 ^{a,b}	268 ± 43 ^{b,c}
10	6,3	1,44 ± 0,04 ^a	65,2 ± 5,3 ^{a,b}	105,7 ± 7,0 ^a	1,24 ± 0,09 ^{a,b}	264 ± 45 ^{b,c}
11	10,1	1,45 ± 0,02 ^a	61,0 ± 5,0 ^c	105,3 ± 10,5 ^a	1,10 ± 0,11 ^b	268 ± 35 ^{b,c}
1	34,8	1,36 ± 0,15 ^a	49,0 ± 8,8 ^e	77,2 ± 7,2 ^{d,e}	0,34 ± 0,07 ^e	170 ± 36 ^f
7	13,8	1,43 ± 0,01 ^a	57,1 ± 7,1 ^{c,d}	99,2 ± 19,4 ^{a,b}	0,59 ± 0,08 ^{c,d}	191 ± 37 ^{e,f}
2	28,8	1,46 ± 0,01 ^a	55,9 ± 7,4 ^{c,d}	88,2 ± 6,3 ^{b,c,d}	0,48 ± 0,10 ^e	198 ± 36 ^{c,f}
8	3,4	1,42 ± 0,07 ^a	61,9 ± 6,5 ^{b,c}	109,6 ± 18,0 ^a	1,12 ± 0,22 ^b	242 ± 52 ^{c,d}
3	37,0	1,41 ± 0,13 ^a	45,0 ± 5,6 ^e	88,8 ± 12,3 ^{b,c,d}	0,54 ± 0,07 ^{c,d}	172 ± 19 ^f
4	26,8	1,40 ± 0,22 ^a	51,1 ± 8,0 ^{d,e}	72,7 ± 1,7 ^e	0,50 ± 0,11 ^{d,e}	187 ± 32 ^{e,f}

¹⁾ Mittelwert ± SD; n = 8²⁾ Mittelwerte in der gleichen Spalte mit unterschiedlichen Indizes weichen signifikant voneinander ab (P < 0,05), Varianzanalyse, Duncan's multiple range test

Bedingt durch die restriktive Fütterung wurde eine vergleichbare Zinkzufuhr in allen 14 Tiergruppen zwischen 1,36 und 1,46 mg/3 Wochen erzielt (Tabelle 4). Mit Ausnahme der Tiergruppen 8 und 10 war die Gewichtszunahme während der dreiwöchigen Versuchszeit in den mit Getreideprodukten gefütterten Tieren signifikant verringert gegenüber der Kontrollgruppe. Die Phytinsäurehydrolyse in den Vollkornprodukten (Gruppen 7–13) bewirkte eine deutlich verbesserte Gewichtsentwicklung (57–65 g/3 Wochen) im Vergleich zu den Gruppen 1–6 (45–56 g/3 Wochen), die diesbezüglich unbehandelte Getreideprodukte erhielten.

Mit Ausnahme der Gruppe 13 lag der Femurzinkgehalt der Tiere, die mit phytatreduzierten Vollkornprodukten gefüttert wurden (99–110 g/g) im gleichen Bereich wie bei den Kontrolltieren (107 g/g). Die Verfütterung der unbehandelten Getreideprodukte resultierte in signifikant niedrigeren Zinkkonzentrationen im Femur (73–90 g/g).

Die Serumzinkkonzentration in den Versuchsgruppen läßt ebenfalls den Einfluß der Phytinsäure bzw. des molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten in den Futtermischungen erkennen. Betrug dieser Wert 10 und weniger, lag die Serumzinkkonzentration im gleichen Bereich oder geringfügig unter derjenigen der Kontrolltiere (1,36 g/ml). Höhere Phytinsäure-Zink-Quotienten resultierten in erheblich reduzierten Serumzinkkonzentrationen (0,72–0,34 g/ml).

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum zeigte eine ähnliche Abhängigkeit vom Phytinsäure/Zink-Quotienten im Futter. Bei Werten von 0–10 betrug die Aktivität 242–310 Einheiten/Liter, während bei höheren Quotienten die Aktivität im Bereich von 170–217 U/l lag.

Zur Abschätzung der Zinkverfügbarkeit wurden die für die 4 untersuchten Parameter gefundenen Werte in Prozent der Kontrollwerte für jede Versuchsgruppe berechnet und entsprechend den Werten für die Phytin-

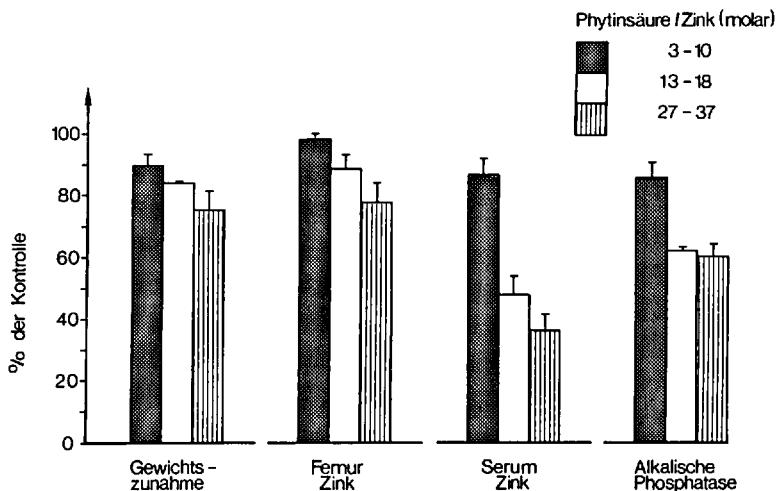


Abb. 2. Biologische Verfügbarkeit von Zink in Getreidevollkornprodukten mit unterschiedlichen molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten im Vergleich zu einer phytatfreien Kontrolldiät, Gruppenmittelwerte \pm SD.

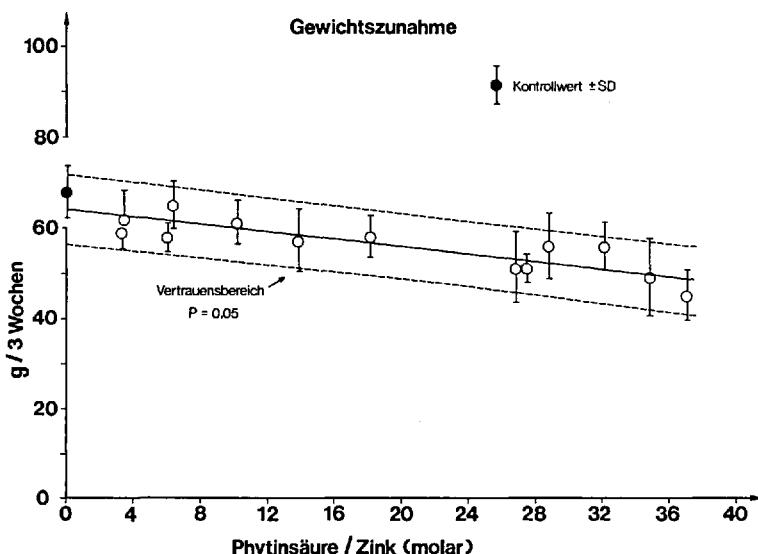


Abb. 3. Lineare Regression zwischen Gewichtszunahme und dem molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten im Futter, Gruppenmittelwerte \pm SD.

säure/Zink-Quotienten in 3 Gruppen (3–10, 13–18, 27–37) zusammengefaßt (Abb. 2). Unter Zugrundelegung von Wachstum oder Femurzink ergaben sich vergleichbare Mittelwerte für die Zinkverfügbarkeit in den 3 Gruppen (90 %, 85 % und 76 % bzw. 99 %, 89 % und 78 %). Die Berechnung der Zinkverfügbarkeit über Serumzink und alkalische Phosphatase ergab

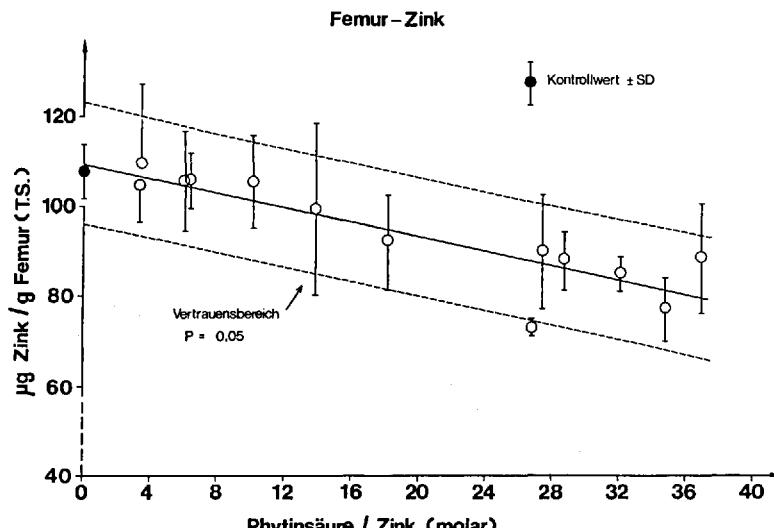


Abb. 4. Lineare Regression zwischen Femurzink und dem molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten im Futter, Gruppenmittelwerte \pm SD.

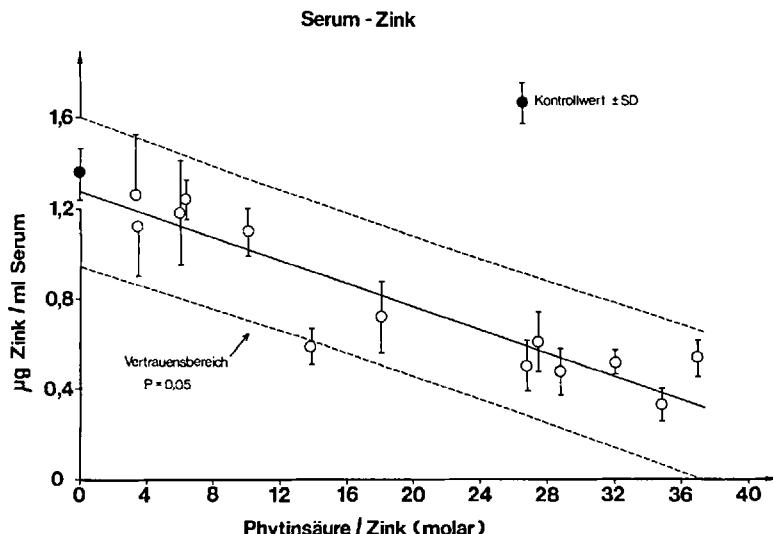


Abb. 5. Lineare Regression zwischen Serumzink und dem molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten im Futter, Gruppenmittelwerte \pm SD.

niedrigere Werte, besonders in den Gruppen mit höheren Phytinsäure/Zink-Quotienten. Auffallend war die sehr geringe Zinkverfügbarkeit, die sich aus den Serumzinkkonzentrationen bei höheren Phytinsäure/Zink-Quotienten ergab (48 % bzw. 37 %).

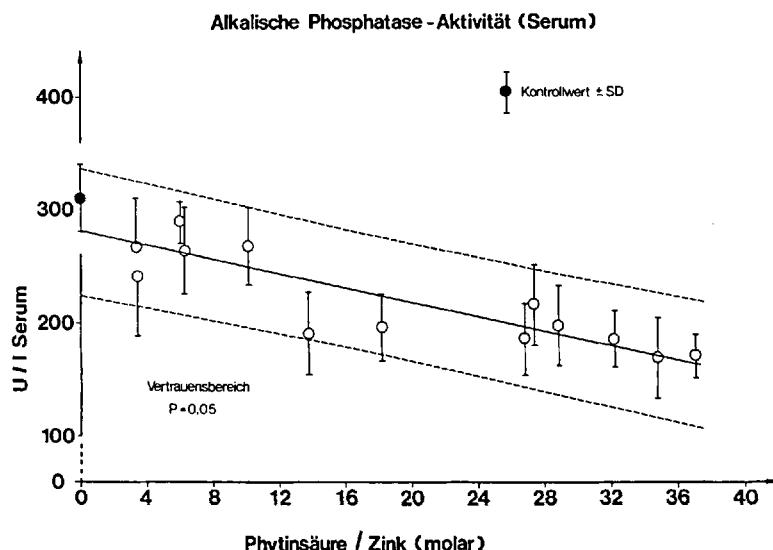


Abb. 6. Lineare Regression zwischen Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum und dem molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten im Futter, Gruppenmittelwerte \pm SD.

Tab. 5. Kennzahlen für die Berechnung der linearen Regression für den Zusammenhang zwischen der Bioverfügbarkeit von Zink und dem molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten.

Parameter für die Zink-Bioverfügbarkeit	a ¹⁾	b ²⁾	P ³⁾	r ⁴⁾	P ⁵⁾
Gewichtszunahme	64,23	- 0,416	0,001	- 0,764	0,001
Femurzink	109,24	- 0,802	0,001	- 0,787	0,001
Serumzink	1,28	- 0,026	0,001	- 0,866	0,001
Alkalische Phosphatase	281,34	- 3,139	0,001	- 0,775	0,001

¹⁾ Achsenabschnitt (Ordinate)

²⁾ Regressionskoeffizient

³⁾ Irrtumswahrscheinlichkeit, Prüfung des Regressionskoeffizienten auf Signifikanz gegen Null

⁴⁾ Korrelationskoeffizient

⁵⁾ Irrtumswahrscheinlichkeit, Prüfung des Korrelationskoeffizienten auf Signifikanz gegen Null

Mit Hilfe der Regressionsanalyse wurde geprüft, ob eine lineare Abhängigkeit zwischen den Gruppenmittelwerten der 4 untersuchten Parameter für die Zinkverfügbarkeit und den entsprechenden Werten der Phytinsäure/Zink-Quotienten bestand (Abb. 3-6). Aus den Kennzahlen (Tabelle 5) ist ersichtlich, daß eine lineare Regression vorlag. Alle 4 Regressionskoeffizienten wichen signifikant von Null ab ($P < 0,001$). Die Korrelationskoeffizienten lagen zwischen -0,76 und -0,87 und wichen ebenfalls signifikant von Null ab ($P < 0,001$).

Diskussion

In den vorliegenden Untersuchungen hat die weitgehende Hydrolyse der Phytinsäure in Getreideprodukten die Bioverfügbarkeit von Zink in Abhängigkeit von dem Phytinsäure/Zink-Quotienten signifikant verbessert. Dies zeigte sich nach dreiwöchiger Fütterung am Wachstum, am Zinkgehalt in Serum und Femur sowie an der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum, wenn auch in unterschiedlichem Maße. Das Wachstum wird allgemein als wichtigstes Kriterium für die Zinkverfügbarkeit bei wachsenden Ratten gewertet (16, 23, 24, 25). Zinkmangeldiäten bewirken bereits nach wenigen Tagen eine deutliche Verminderung der Futteraufnahme. Ein Mangel an verfügbarem Zink hat die gleiche Wirkung (26). Bei einer Ad-libitum-Fütterung wird die Wachstumshemmung aufgrund des niedrigen Gehaltes an verfügbarem Zink im Futter durch eine verminderde Zufuhr an anderen Nährstoffen und Energie potenziert. Die restriktive Fütterung ermöglicht es, den Einfluß des molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten auf das Wachstum von jungen Ratten bei konstanter Futter- und Zinkzufuhr zu erfassen. In Übereinstimmung mit anderen Autoren (27, 28, 29) fanden wir bei vergleichbarer Zinkzufuhr eine Wachstumshemmung infolge eines Mangels an verfügbarem Zink.

Die Zinkakkumulation in den Knochen spiegelte die Unterschiede in verfügbarem Zink wider. Unsere Werte für die Femurzinkkonzentration

nen lagen im gleichen Bereich wie die unter ähnlichen Versuchsbedingungen beobachteten Werte von Morris und Ellis (16). Die Serumzinkkonzentration zeigte eine viel deutlichere Beeinträchtigung bei ansteigendem Phytinsäure/Zink-Quotienten als das Wachstum oder die Femurzinkkonzentration. Ähnliche Beobachtungen wurden bei Zinkmangelratten gemacht (23, 30). Etwa $\frac{1}{2}$ des Serumzinks ist fest an α_2 -Makroglobuline gebunden, der Rest liegt in einer losen Bindung an Albumin vor (31). Im Zinkmangel fällt die locker gebundene Fraktion schon nach wenigen Tagen deutlich ab, während das an Globulin gebundene Zink kaum verändert wird. Bei einer marginalen Zinkversorgung der Tiere (7 ppm im Futter) kam es zu einer deutlichen Reduktion des Serumzinks auf 25–45 % der Kontrollwerte bei Phytinsäure/Zink-Quotienten im Futter > 13.

Der Zinkgehalt in Serum oder Plasma ist zwar ein empfindlicher Indikator für die Zinkversorgung, unterliegt aber auch anderen unspezifischen Einflüssen wie Krankheit, Verletzungen, Stress, Hormonen, Alkohol u. a., die eine Verteilung von Zink aus dem Serum in andere Gewebe bewirken. Diese Faktoren treten bei jungen Ratten wenig in Erscheinung, müssen jedoch beim erwachsenen Menschen berücksichtigt werden.

Die alkalische Phosphatase (AP) ist ein Zink-Metalloenzym, das im Serum und vielen Geweben vorkommt. Zinkmangel führt zu einem raschen Aktivitätsverlust der AP im Serum, der durch Zinkzufuhr wieder rückgängig gemacht werden kann (23). Die AP-Aktivität im Serum der Ratten lag höher als die von anderen Autoren beobachteten Werte (23) in Tieren mit vergleichbarem Zinkgehalt im Futter. Diese Tiere waren jedoch zuvor einer extremen Zinkmangeldiät (1,3 ppm) über 14 Tage ausgesetzt und waren wahrscheinlich in einem schlechteren Zinkversorgungszustand als die Tiere in der vorliegenden Studie.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren, die sich auf Ratten (10, 16, 24, 25, 32, 33) und Menschen (34) beziehen, beobachteten wir eine signifikante Abhängigkeit der Zinkverfügbarkeit vom molaren Phytinsäure/Zink-Quotienten in der Diät. Davies und Olpin (24) prüften die Wirkung von Futtermischungen mit Phytinsäure/Zink-Quotienten zwischen 0 und 40 auf Wachstum, Plasmazinkgehalt und Zinkgehalt im Haar von jungen Ratten. Ähnlich wie bei den vorliegenden Ergebnissen wurde eine lineare Abhängigkeit dieser Parameter vom Phytinsäure/Zink-Quotienten festgestellt. Die Plasmazink- und Haarzinkwerte der Tiere waren schon bei Phytinsäure/Zink-Quotienten zwischen 10 und 15 reduziert, während eine Beeinträchtigung des Wachstums erst bei Quotienten über 15 beobachtet wurde.

Die Herabsetzung der Zinkverfügbarkeit durch Phytinsäure wird durch einen erhöhten Kalziumgehalt in der Diät potenziert (24, 26, 16, 35). Dies beruht einmal darauf, daß Kalzium im Magen-Darm-Trakt die Bildung von unlöslichen Kalzium-Zink-Phytatkomplexen fördert. Zum anderen wird die Hydrolyse von Phytinsäure, die durch mikrobielle Phytase in den unteren Abschnitten des Dünndarms und vorwiegend im Caecum bewirkt wird, durch Kalzium beeinträchtigt (36). Aus Berechnungen von Davies und Mitarbeitern (37) geht hervor, daß bei einem molaren Phytinsäure \times Kalzium/Zink-Quotienten im Futter oberhalb von 3,5 die Gewichtszunahme von jungen Ratten gegenüber von Tieren, die phytatfreies Futter erhielten, signifikant herabgesetzt war. In den von uns ver-

wendeten Futtermischungen lag dieser Quotient zwischen 4,9 und 6,4 vor Phytatreduktion bzw. zwischen 0,5 und 2,9 danach. Wir beobachteten bereits bei Quotienten < 3,5 Wachstumsbeeinträchtigungen, was möglicherweise durch die restriktive Fütterung bedingt war. Die gleichen Autoren (37) errechneten, daß beim Menschen der kritische Phytinsäure × Kalzium-Zink/Quotient mit 0,5 deutlich niedriger als bei der Ratte liegt, wobei berücksichtigt werden muß, daß üblicherweise der Kalziumgehalt der menschlichen Nahrung niedriger ist als im Rattenfutter.

Im Gegensatz zu der Wirkung von Kalzium fördert tierisches Protein im Futter die Zinkverfügbarkeit in phytathaltigen Diäten. Bei einem konstanten Phytinsäure/Zink-Quotienten verursachte die Erhöhung des Proteingehaltes im Futter von 10 auf 20 und auf 30 % eine Zunahme der Gesamtkörperretention von Zink in jungen Ratten von 26 auf 32 bzw. 39 % (3). Auch im Humanversuch wurde ein positiver Einfluß von tierischem Eiweiß auf die Zinkresorption aus phytathaltigen Brotdiäten beobachtet (38). Es wird angenommen, daß Protein oder Peptide Komplexe mit Zink bilden und dadurch die Ausfällung unlöslicher Zink-Kalzium-Phytatkomplexe verhindern. Andererseits ist nicht auszuschließen, daß Peptide oder Aminosäuren die Zinkresorption am Bürstensaum der Mukosa fördern (38). Aus diesen Gründen ist für die Beurteilung der Zinkverfügbarkeit in phytathaltigen Diäten neben dem Phytinsäure/Zink-Quotienten auch der Gehalt an Kalzium und tierischem Protein maßgebend. Unter Berücksichtigung dieser Einschränkungen ist der Phytinsäure/Zink-Quotient ein geeigneter Indikator für die Bioverfügbarkeit von Zink in Getreideprodukten und anderen phytathaltigen pflanzlichen Nahrungsmitteln.

Die Wirkung von Phytat auf die Zinkverfügbarkeit ist im wesentlichen ein chemisches Phänomen und hängt in erster Linie vom pH-Wert im Magen-Darm-Trakt ab. Hieraus folgert, daß Ergebnisse aus Rattenversuchen auf den Menschen übertragbar sind. Durch den Phytatgehalt in vielen pflanzlichen Lebensmitteln liegt der molare Phytinsäure/Zink-Quotient einer vorwiegend pflanzlichen Kost bei ca. 20 und höher (17) und somit in einem Bereich, in dem die Zinkverfügbarkeit deutlich beeinträchtigt ist. Untersuchungen während der letzten 25 Jahre haben ergeben, daß Zinkmangel nicht nur in Entwicklungsländern wie Iran (39) und Ägypten (40), sondern auch in den USA bei Kindern (41) und Senioren (42) nachweisbar ist. Nach chirurgischen Eingriffen, bei Infektionen und einer Reihe von Krankheiten können massive Zinkverluste auftreten, die bei einer unzureichenden Zinkversorgung des Organismus zu akuten Zinkmanglerscheinungen führen können.

Aus diesen Gründen erscheint eine Verbesserung der biologischen Verfügbarkeit von Zink in Getreideprodukten, sei dies durch Hydrolyse der Phytinsäure oder Reduktion des Phytatgehaltes oder Anreicherung mit Zink, als sinnvolle, gesundheitsfördernde Maßnahme. Dies sollte vor allem für Lebensmittel auf Getreidebasis bedacht werden, bei deren Herstellung üblicherweise keine günstigen Bedingungen für eine Phytinsäurehydrolyse gegeben sind. In diesem Zusammenhang ist besonders auf den Verzehr von phytatreicher Weizenkleie hinzuweisen sowie auch auf den Verzehr entsprechend mit Ballaststoffen angereicherter Produkte.

Die heute vor allem zur Vermeidung der Obstipation zu empfehlende Erhöhung der Ballaststoffzufuhr sollte nach unserer Ansicht nicht mit den

nachteiligen Wirkungen einer gleichzeitig erhöhten Phytatzufuhr verbunden sein. Wie auch die Ergebnisse dieser Arbeit belegen, ist deshalb der Verzehr gesäuerter Vollkornbackwaren zur Erhöhung der Ballaststoffzufuhr den phytatreichereren anderen Vollkornerzeugnissen oder Kleien vorzuziehen. Diesbezüglich genügen die bekannten Säuerungstechniken bereits weitgehend, um beispielsweise den Phytinsäure/Zink-Quotienten in einen Bereich zu bringen, in welchem die Bioverfügbarkeit des Zinks nicht mehr entscheidend beeinträchtigt wird. Das ist insofern interessant, als damit vor allem auch unter Berücksichtigung der in unserem Lande üblichen Ernährungsweise auf relativ aufwendige Techniken zur Teigführung, wie sie beispielsweise hier beschrieben ist, verzichtet werden kann.

Literatur

1. Reinhold JG, Faradji B, Abadi P, Ismail-Beigi F (1976) Decreased absorption of calcium, magnesium, zinc and phosphorus by humans due to increased fiber and phosphorus consumption as wheat bread. *J Nutr* 106:493–503
2. McCance RA, Widdowson EM (1942) Mineral metabolism on dephytinized bread. *J Physiol* 101:304–313
3. Davies NT (1982) Effects of phytic acid on mineral availability. In: Vahouny GV, Kritschewsky D (eds) *Dietary Fiber in Health and Disease*. Plenum Press, New York London, pp 105–116
4. Fairweather-Tait SJ (1982) The effect of different levels of wheat bran on iron absorption in rats from bread containing similar amounts of phytate. *Br J Nutr* 47:243–249
5. Anderson H, Nävert B, Bingham SA, Englyst HN, Cummings JH (1983) The effects of breads containing similar amounts of phytate but different amounts of wheat bran on calcium, zinc and iron balance in man. *Br J Nutr* 50:503–510
6. Reddy NR, Sathe SK, Salunkhe DK (1982) Phytates in legumes and cereals. *Adv Fd Res* 28:1–92
7. Vohra P, Gray GA, Kratzer FH (1965) Phytic acid and metal complexes. *Proc Soc Exp Biol Med* 120:447–449
8. De Rham O, Jost T (1979) Phytate-protein interaction in soybean extracts and low phytate soybean products. *J Fd Sci* 44:596–600
9. O'Dell BL (1969) Effect of dietary components upon zinc availability. *Am J Clin Nutr* 22:1315–1322
10. Forbes RM, Parker H, Kondo H, Erdman Jr JW (1983) Availability to rats of zinc in green and mature soybeans. *Nutr Res* 3:699–704
11. Prasad AS, Miale A Jr, Farid Z, Sandstead HH, Schubert AR, Darby WJ (1963) Biochemical studies on dwarfism, hypogonadism, and anemia. *Arch Intern Med* 111:407–428
12. Reinhold JG (1971) High phytate content of rural Indian bread: possible cause of human zinc deficiency. *Amer J Clin Nutr* 24: 1204–1206
13. O'Dell BL, Savage JE (1960) Effect of phytic acid on zinc availability. *Pro Soc Exp Biol Med* 103:304–306
14. Oberleas D, Muhrer ME, O'Dell BL (1962) Effects of phytic acid on zinc availability and parakeratosis in swine. *J Anim Sci* 21:57–61
15. Oberleas D (1974) Factors influencing availability of minerals. In: White PL, Selvey N (eds) *Proceedings of Western Hemisphere Nutrition Congress – IV*. Publishing Sciences Group Inc Acton, MA, pp 156–161
16. Morris ER, Ellis R (1980) Effect of dietary phytate/zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semipurified diets. *J Nutr* 110:1037–1045
17. Oberleas D, Harland BF (1981) Phytate content of foods: Effect on dietary zinc bioavailability. *JAMDA* 79:433–436

18. Schormüller J, Würdig G (1957) Über das Vorkommen von Phytin, insbesondere in Getreide und Getreideprodukten. Dtsch Lebensmittel-Rdsch 53:1-10
19. Meuser F, Meißner U (1987) Verfahrenstechnische Maßnahmen zur Verbesserung des Phytatabbaus bei der Vollkornbrotherstellung. Ernährung/Nutrition 11:102-109
20. Asp NG, Johansson CG, Hallmer H, Siljeström M (1983) Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. J Agric Food Chem 31:476-482
21. Holt R (1955) Studies on dried peas. I. The determination of phytate phosphorus. J Sci Agric 6:136-142
22. SAS Institute Inc. SAS^R (1985) User's Guide: Statistics Version, 5 Edition, Cary, NC
23. Roth HP, Kirchgessner M (1979) Experimentelle Untersuchungen zur Diagnose von marginalem Zinkmangel. Res Exp Med (Berl) 174:283-300
24. Davies NT, Olpin SE (1978) Studies on the phytate: zinc molar contents in diets as a determinant of Zn availability to young rats. Br J Nutr 41:591-603
25. Morris ER, Ellis R (1980) Bioavailability to rats of iron and zinc in wheat bran: Response to low phytate bran and effect of the phytate/zinc molar ratio. J Nutr 110:2000-2010
26. Likuski HJ, Forbes RM (1965) Mineral utilization in the rat. IV Effects of calcium and phytic acid on the utilization of dietary zinc. J Nutr 85:230-234
27. Kirchgessner M, Roth HP (1975) Beziehungen zwischen klinischen Mängelsymptomen und Enzymaktivitäten bei Zinkmangel. Zentralbl Veterinärmed Reihe A 22:14-26
28. Oberleas D, Prasad AS (1969) Growth as affected by zinc and protein nutrition. Amer J Clin Nutr 22:1304-1314
29. Pallauf J (1978) Effect of zinc deficiency on digestibility and utilization of nutrients. In: Kirchgessner M (ed) Trace Element Metabolism in Man and Animals-3. Arbeitskreis für Tierernährungsforschung, Weihenstephan, 218-221
30. Wilkins PJ, Gray PC, Dreosti IE (1972) Plasma zinc as an indicator of zinc-status in rats. Br J Nutr 27:113-120
31. Parisi AF, Vallee BL (1970) Isolation of a zinc α_2 -macroglobulin from human serum. Biochemistry 9:2421-2426
32. Rader JI, Tao SH, Gaston CM, Wolnik KA, Fricke FL, Fox MRS (1985) Effects of phytic acid on bioavailability of trace elements in soy or casein-gelatin diets fed to weanling rats. In: Mills CF, Bremner I, Chesters JK (eds) Trace Elements in Man and Animals 5. Commonwealth Agric Bureaux, UK, 458-460
33. Franz KB, Kennedy BM, Fellers DA (1980) Relative bioavailability of zinc from selected cereals and legumes using rat growth. J Nutr 110:2272-2283
34. Nävert B, Sandström B (1985) Reduction of the phytate content of bran by leavening in bread and its effect on zinc absorption in man. Br J Nutr 53:47-53
35. Forbes RM, Erdmann JW Jr, Parker HM, Kondo H, Ketelsen SM (1983) Bioavailability of zinc in coagulated soy protein (tofu) to rats and effect of dietary calcium at a constant phytate: zinc ratio. J Nutr 113:205-210
36. Wise A (1985) Dietary calcium influences the location and extent of phytate hydrolysis in the rat intestine. In: Mills CF, Bremner I, Chesters JK (eds) Trace Elements in Man and Animals 5. Commonwealth Agric Bureaux, UK, 468-470
37. Davies NT, Carswell AJP, Mills CF (1985) The effect of variation in dietary calcium intake on the phytate-zinc interaction in rats. In: Mills CF, Bremner I, Chester JK (eds) Trace Elements in Man and Animals 5. Commonwealth Agric Bureaux, UK, 456-457
38. Sandström B, Arvidsson B, Cederblad A, Björn-Rasmussen E (1980) Zinc absorption from composite meals I. The significance of wheat extraction rate, zinc, calcium, and protein content in meals based on bread. Am J Clin Nutr 33:739-745

39. Reinhold JG (1971) High phytate content of rural Iranian bread: A possible cause of human zinc deficiency. *Am J Clin Nutr* 24:1204–1206
40. Prasad AS, Miale A, Farid Z, Schulert A, Sandstead HH (1963) Zinc metabolism in normals and patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hypogonadism and dwarfism. *J Lab Clin Med* 61:537–549
41. Hambidge KM, Walravens PA, Brown RM, Webster J, White S, Anthony M, Roth ML (1976) Zinc nutrition of preschool children in the Head Start program. *Am J Clin Nutr* 29:734–739
42. Hutton CW, Hayes-Davis RB (1983) Assessment of the zinc nutritional status of selected elderly subjects. *J Am Diet Ass* 82:148–153

Für die Verfasser:

A. E. Harmuth-Hoene, Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Engesserstraße 20, 7500 Karlsruhe