

Aus der Abteilung Klinische Epidemiologie  
(kommissarischer Leiter: Prof. Anthony B. Miller, MB, FRCP)  
des Deutschen Krebsforschungszentrums in Heidelberg  
(Stiftungsvorstand: Prof. Dr. Harald zur Hausen)

**Entwicklung, Validierung und Ergebnisse eines Kurzfragebogens  
zur Erfassung der alimentären Zufuhr  
heterozyklischer aromatischer Amine  
sowie der Zubereitungsmethoden von Fleisch und Fisch**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Würde eines Dr. oec. troph.  
im Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und Umweltmanagement  
der Justus-Liebig-Universität Gießen  
(Institut für Ernährungswissenschaften)

vorgelegt von

**Sabine Rohrmann**  
aus Frankfurt/Main

Juni 2001

Vorsitzender: Prof. Dr. S. Schubert  
1. Gutachter: Prof. Dr. M. Neuhäuser-Berthold  
2. Gutachter: PD Dr. N. Becker, Heidelberg  
Prüfer: Prof. Dr. M. Krawinkel  
Prüfer: Prof. Dr. I.-U. Leonhäuser

There are things known  
and there are things unknown;  
in between there are doors.

William Blake

Man muss seinen Traum finden, dann wird der  
Weg leicht. Aber es gibt keinen immerwährenden  
Traum, jeden löst ein neuer ab, und keinen darf man  
festhalten wollen.

Hermann Hesse

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	IV
Abbildungsverzeichnis .....	VII
Tabellenverzeichnis.....	VIII
Verzeichnis der Abkürzungen.....	IX
<b>I Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1 Ziele der Arbeit .....	1
2 Heterozyklische aromatische Amine (HAA).....	3
2.1 HAA-Gruppen.....	3
2.2 Bildung .....	4
2.3 HAA-Gehalte in Lebensmitteln.....	6
2.4 Stoffwechsel .....	7
2.5 HAA und Krebsrisiko .....	9
3 Erfassung der alimentären Aufnahme an HAA .....	13
3.1 Probleme der Quantifizierung .....	13
3.2 Bereits vorhandene Fragebögen zur Berechnung der HAA-Aufnahme .....	13
4 Kurzfragebögen zur Erfassung der Nahrungsaufnahme .....	15
4.1 Was sind Kurzfragebögen?.....	15
4.2 Entwicklung.....	16
4.3 Ziele und Einsatzmöglichkeiten .....	18
4.4 Vor- und Nachteile.....	19
5 European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) .....	21
5.1 Entwicklung und Ziele von EPIC.....	21
5.2 Rekrutierungsphase von EPIC .....	22
5.3 Follow-up der Studienteilnehmer .....	24
<b>II Material und Methoden.....</b>	<b>25</b>
1 Entwicklung eines Kurzfragebogen zur Erfassung der HAA-Aufnahme.....	25
1.1 Aufbau des Fragebogens .....	25
1.2 Lebensmittelliste .....	25
1.3 Zubereitungsarten.....	26
1.4 Erfassung des Bräunungsgrades .....	26
2 Berechnung der HAA-Aufnahme aus dem Fragebogen .....	28
2.1 Datenbasis zur Berechnung der HAA-Aufnahme .....	28
2.2 Berechnung der HAA-Aufnahme .....	29
2.2.1 Berechnung der Lebensmittel-Verzehrmenge .....	29
2.2.2 Berechnung der HAA-Aufnahme aus Fleisch.....	29
2.2.3 Berechnung der HAA-Aufnahme aus Sauce .....	30
3 Pilotstudie zur Erfassung der alimentären HAA-Aufnahme .....	31
3.1 Einsatz des entwickelten ersten HAA-Fragebogens .....	31
3.2 Entwicklung einer gekürzten Fragebogenversion aus dem ersten HAA-Fragebogen .....	31
3.3 Methoden zur Kürzung des Fragebogens .....	32
3.3.1 Schrittweise multiple Regressionsanalyse.....	32
3.3.2 Max_r.....	33
3.3.3 Bevölkerungsbezogener Ansatz .....	35

3.3.4	Auswirkung der Kürzung des längeren HAA-Fragebogens.....	36
3.4	Validierung des gekürzten Fragebogens.....	36
3.4.1	Alimentäre HAA-Aufnahme.....	37
3.4.2	Angaben zu Bratrückstand, Zubereitungsmethoden und Bräunungsgrad.....	39
3.5	Ergebnisse des kurzen HAA-Fragebogens.....	40
<b>III</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>41</b>
1	<i>Ermittlung der Lebensmittel für einen gekürzten HAA-Fragebogen.....</i>	<i>41</i>
1.1	Max_r.....	41
1.2	Schrittweise multiple Regression.....	41
1.3	Vergleichende Darstellung der angewandten Methoden.....	42
1.4	Auswirkung der Kürzung des längeren HAA-Fragebogens.....	44
2	<i>Validierung der gekürzten Fragebogenversion.....</i>	<i>46</i>
2.1	Alimentäre HAA-Aufnahme.....	46
2.2	Angaben zur Verwendung des Bratrückstandes.....	52
2.3	Anwendung von Zubereitungsarten für Fleisch und Fisch.....	53
2.4	Bräunungsgrad der Lebensmittel.....	59
3	<i>Ergebnisse des gekürzten HAA-Fragebogens.....</i>	<i>63</i>
3.1	Alimentäre HAA-Aufnahme.....	63
3.1.1	Beitrag von Fleisch und Sauce zur HAA-Aufnahme.....	65
3.1.2	Vergleich der alimentären HAA-Aufnahme mit dem Fleischverzehr.....	66
3.2	Anwendung von Zubereitungsarten für Fleisch und Fisch.....	67
3.3	Bräunungsgrad der Lebensmittel.....	69
<b>IV</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>72</b>
1	<i>Datengrundlage zur Berechnung der HAA-Aufnahme.....</i>	<i>72</i>
2	<i>Verfahren zur Kürzung des Fragebogens.....</i>	<i>75</i>
2.1	Vergleich der varianzbezogenen Verfahren.....	75
2.2	Vergleich mit der bevölkerungsbezogenen Methode.....	75
2.3	Auswahl der Lebensmittel.....	76
2.4	Auswirkung der Kürzung des längeren HAA-Fragebogens.....	77
3	<i>Validierung des HAA-Fragebogens.....</i>	<i>79</i>
3.1	Validierung des HAA-Fragebogens mit einem anderen Erhebungsinstrument.....	79
3.1.1	Alimentäre HAA-Aufnahme.....	80
3.1.2	Zubereitungsarten.....	82
3.1.3	Bräunungsgrad.....	84
3.1.4	Verwendung des Bratrückstandes.....	84
3.2	Möglichkeiten der biologischen Validierung des HAA-Fragebogens.....	85
3.2.1	Messung von nicht metabolisierten HAA im Urin.....	85
3.2.2	Messung von Biomarkern im Blut.....	86
3.2.3	Messung von DNA-Addukten.....	88
4	<i>Vergleich der Ergebnisse des gekürzten HAA-Fragebogens mit den Ergebnissen anderer Studien.....</i>	<i>90</i>
4.1	Alimentäre HAA-Aufnahme.....	90
4.2	Zubereitungsarten.....	95
4.3	Bräunungsgrad.....	96
5	<i>Welche Relevanz haben die HAA-Aufnahme und die Zubereitung von Fleisch und Fisch für die Krebsentstehung?.....</i>	<i>98</i>

<b>V</b>	<b>Ausblick .....</b>	<b>101</b>
<b>VI</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>103</b>
<b>VII</b>	<b>Summary .....</b>	<b>106</b>
<b>VIII</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>109</b>
<b>IX</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>117</b>
	1 <i>Erste, längere Version des HAA-Fragebogens .....</i>	117
	2 <i>Zweite, gekürzte Version des HAA-Fragebogens .....</i>	118
	3 <i>Daten, die der Berechnung der HAA-Aufnahme zugrunde liegen.....</i>	119
	4 <i>Ergebnis Ausdruck von Max_r .....</i>	122
	5 <i>Ergebnis Ausdruck der schrittweisen multiplen Regression.....</i>	124
	6 <i>Bericht über den Work Workshop "Food Preparation Methods and Cancer Risks" am 18. und 19 . November 1999 im Deutschen Krebs-forschungszentrum Heidelberg.....</i>	134
	<b>Danksagung .....</b>	<b>139</b>

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> Strukturformeln der heterozyklischen Amine IQ, MeIQ, MeIQx, 4,8-DiMeIQx und PhIP .....	4
<b>Abb. 2:</b> Aktivierung von HAA im menschlichen Organismus (nach Wild 1995).....	8
<b>Abb. 3:</b> Karte der EPIC-Teilnehmerländer.....	21
<b>Abb. 4:</b> Pilotstudie zur Validierung des HAA-Fragebogens .....	36
<b>Abb. 5:</b> Prinzip des Quintilsvergleiches zwischen dem gesamten Erhebungsinstrument und einer Kurzliste .....	38
<b>Abb. 6:</b> Vergleich der Ergebnisse von Max_r, der schrittweisen multiplen Regression und der bevölkerungsbezogenen Methode .....	44
<b>Abb. 7:</b> Histogramm der Gesamt-HAA-Aufnahme berechnet aus der langen Fragebogenversion.....	46
<b>Abb. 8:</b> Histogramm der Gesamt-HAA-Aufnahme berechnet aus der gekürzten Fragebogenversion.....	47
<b>Abb. 9:</b> Logarithmus des Mittelwert der Differenzen zwischen der HAA-Aufnahme aus dem langen und dem gekürzten Fragebogen aufgetragen gegen den Logarithmus des Mittelwertes aus langem und kurzem HAA-Fragebogen .....	52
<b>Abb. 10:</b> Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Rindersteak, -filet und -lende" .....	54
<b>Abb. 11:</b> Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Rinderbraten, -gulasch und -rouladen" .....	55
<b>Abb. 12:</b> Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet und -steak" .....	55
<b>Abb. 13:</b> Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Scheinebraten und -gulasch" .....	56
<b>Abb. 14:</b> Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Kasseler und Schweinerippchen" .....	57
<b>Abb. 15:</b> Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" .....	57
<b>Abb. 16:</b> Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Fisch" .....	58
<b>Abb. 17:</b> Bevorzugter Bräunungsgrad für verschiedene Fleischarten bzw. Fisch im langen bzw. kurzen HAA-Fragebogen.....	60
<b>Abb. 18:</b> Median der HAA-Aufnahme berechnet aus dem kurzen HAA-Fragebogen differenziert nach einzelnen HAA und Lebensmittel für Männer und Frauen .....	63
<b>Abb. 19:</b> Median der HAA-Aufnahme berechnet aus dem kurzen HAA-Fragebogen differenziert nach einzelnen HAA und Lebensmittel für 10-Jahres-Altersgruppen .....	64
<b>Abb. 20:</b> Anteil an der HAA-Aufnahme aus Bratrückstand bzw. daraus hergestellter Sauce für verschiedene HAA und Lebensmittel .....	66
<b>Abb. 21:</b> Angaben zum bevorzugten Bräunungsgrad im kurzen HAA-Fragebogen differenziert nach Geschlecht.....	70
<b>Abb. 22:</b> Angaben zum bevorzugten Bräunungsgrad im kurzen HAA-Fragebogen differenziert nach 10-Jahres-Altersgruppen.....	71

## Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1:</b> Studien zum Zusammenhang zwischen Krebsrisiko und Fleischzubereitung.....	10
<b>Tab. 2:</b> Studien zum Zusammenhang zwischen Krebsrisiko, Fleischzubereitung und Acetylierstatus ...	11
<b>Tab. 3:</b> Studien zum Zusammenhang zwischen Krebsrisiko, Fleischzubereitung und HAA-Aufnahme...	12
<b>Tab. 4:</b> Instrumente der EPIC-Studie, die bei allen Teilnehmern angewendet wurden .....	23
<b>Tab. 5:</b> Dauer der Rekrutierung und Anzahl der Studienteilnehmer pro Land .....	23
<b>Tab. 6:</b> Teilnehmer von EPIC-Heidelberg sowie der Pilotstudie zur Validierung des gekürzten HAA-Kurzfragebogens nach 10-Jahres-Altersgruppen .....	32
<b>Tab. 7:</b> Lebensmittel, die am meisten zur interpersonellen Varianz in der HAA-Aufnahme beitragen, berechnet mit Max_r auf der Basis von 353 HAA-Kurzfragebögen .....	41
<b>Tab. 8:</b> Ergebnisse der schrittweisen multiplen Regression auf Basis von 353 HAA-Kurzfragebögen .....	42
<b>Tab. 9:</b> Ergebnisse der multiplen schrittweisen Regression und Max_r im Vergleich mit der bevölkerungsbezogenen Methode .....	43
<b>Tab. 10:</b> Veränderungen der HAA-Aufnahme durch Kürzen der Liste von Lebensmitteln und Zubereitungsarten .....	45
<b>Tab. 11:</b> Median und Maximum der HAA-Aufnahme (ng/Tag) für verschiedene HAA und Lebensmittel, berechnet aus der langen bzw. kurzen Fragebogenversion .....	48
<b>Tab. 12:</b> Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman zwischen der HAA-Aufnahme berechnet aus dem langen Fragebogen und der gekürzten Version differenziert nach einzelnen HAA und Lebensmitteln .....	49
<b>Tab. 13:</b> Ergebnisse der Quintilsvergleiche für einige HAA und Lebensmittel zwischen der langen und der gekürzten Fragebogenversion .....	49
<b>Tab. 14:</b> Median der HAA-Aufnahme aus dem langen HAA-Fragebogen berechnet auf Basis der Quintileinteilung des gekürzten Fragebogens.....	50
<b>Tab. 15:</b> Mittelwert der Differenzen sowie 95%-Bereich der Übereinstimmung der berechneten HAA-Aufnahme zwischen den beiden HAA-Fragebögen.....	50
<b>Tab. 16:</b> Verwendung des Bratrückstandes, der bei der Zubereitung von Fleisch und Fisch entsteht.....	52
<b>Tab. 17:</b> Häufigkeit der Verwendung der Zubereitungsarten im längeren HAA-Fragebogen (n=344) .....	53
<b>Tab. 18:</b> Übereinstimmung bezüglich der Verwendung von Zubereitungsarten zwischen den beiden Fragebogenversionen.....	59
<b>Tab. 19:</b> Angaben zum bevorzugten Bräunungsgrad im längeren HAA-Fragebogen (n=344).....	59
<b>Tab. 20:</b> Übereinstimmung bezüglich des Bräunungsgrades von Lebensmitteln zwischen den beiden Fragebogenversionen.....	62
<b>Tab. 21:</b> Median der Gesamt-HAA-Aufnahme berechnet aus der gekürzten Fragebogenversion nach Geschlecht und 10-Jahres-Alterskategorien .....	64
<b>Tab. 22:</b> Median der HAA-Aufnahme (ng/d) aus verschiedenen HAAs sowie aus verschiedenen Lebensmitteln aufgeteilt in die Aufnahme aus Bratrückstand/Sauce bzw. Fleisch.....	65
<b>Tab. 23:</b> Median und Spannweite der täglichen Fleischaufnahme und deren Korrelation mit der HAA-Aufnahme.....	67
<b>Tab. 24:</b> Häufigkeit der Verwendung der Zubereitungsarten im kurzen HAA-Fragebogen getrennt nach Geschlecht .....	67
<b>Tab. 25:</b> Angaben zur Häufigkeit der Zubereitungsarten im kurzen HAA-Fragebogen getrennt nach 10-Jahres-Altersgruppen.....	69
<b>Tab. 26:</b> Literaturquellen, die zur Berechnung der HAA-Aufnahme verwendet wurden .....	119
<b>Tab. 27:</b> HAA-Gehalte in Fleisch und Fisch (in ng/g zubereitetem Lebensmittel), die bei unterschiedlichen Temperaturen zubereitet wurden. ....	120
<b>Tab. 28:</b> HAA-Gehalte im Bratrückstand von Fleisch und Fisch (in ng/g Bratrückstand), die bei unterschiedlichen Temperaturen zubereitet wurden .....	121



## Verzeichnis der Abkürzungen

AMS	<i>Accelerator Mass Spectrometry</i>
DGE	<i>Deutsche Gesellschaft für Ernährung</i>
DiMeIQ <sub>x</sub>	2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxalin
DKFZ	<i>Deutsches Krebsforschungszentrum</i>
EPIC	<i>European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition</i>
FFQ	Ernährungs-Häufigkeitsfragebogen ( <i>Food Frequency Questionnaire</i> )
HAA	<i>Heterozyklische aromatische Amine</i>
Hb	<i>Hämoglobin</i>
HNPPC	hereditäre nicht-polypöse Kolonkarzinome ( <i>Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer</i> )
IARC	Internationales Krebsforschungszentrum ( <i>International Agency for Research on Cancer</i> )
IQ	2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinolin
MeIQ <sub>x</sub>	2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxalin
MeIQ	2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinolin
NHANES II	Second National Health and Nutrition Examination
OR	Odds Ratio
PAK	<i>Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe</i>
PhIP	2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridin
SD	Standardabweichung ( <i>Standard Deviation</i> )
USA	Vereinigte Staaten von Amerika ( <i>United States of America</i> )

## I EINLEITUNG

### 1 Ziele der Arbeit

In den 1970er Jahren wurden in Japan die heterozyklischen aromatischen Amine (HAA) in gebratenem Fleisch und Fisch entdeckt. In Tierexperimenten sowie im Amestest erwiesen sich die Vertreter dieser Stoffklasse als mutagen und kanzerogen. Nachdem dieser Zusammenhang entdeckt worden war, wurde in epidemiologischen Studien der Frage nachgegangen, in wieweit sich diese Stoffe auf das Krebsrisiko beim Menschen auswirken.

Diesen Zusammenhang zu erfassen ist mit einigen methodischen Schwierigkeiten verbunden, da der HAA-Gehalt in gebratenen und gegrillten Lebensmitteln sowohl vom Lebensmittel selbst als auch von der Art der Zubereitung sowie von Bräunungs- und Garegrad der Lebensmittel abhängig ist. Da bis vor wenigen Jahren nur wenige Daten zum HAA-Gehalt in Lebensmitteln vorlagen, die unter haushaltsüblichen Bedingungen zubereitet worden waren, ergaben die ersten Abschätzungen der HAA-Aufnahme recht hohe Werte. Eine US-amerikanische Arbeitsgruppe berechnete eine tägliche Aufnahme von 1800 ng für eine 70 kg schwere Person (Layton et al 1995). Auch eine neuseeländische Untersuchung kam zu einer mit 1000 ng/Tag hohen Aufnahme (Thomson 1999). Zur Erfassung der HAA-Aufnahme waren Analysedaten aus verschiedensten Datenquellen zusammengeführt worden. In den folgenden Jahren entwickelten eine US-amerikanische sowie eine schwedische Studiengruppe jeweils eine eigene Datenbasis mit Angaben zum HAA-Gehalt in Fleisch und Fisch, die unter standardisierten haushaltsüblichen Bedingungen zubereitet wurden (Sinha et al. 1998a, 1998c, 1995a, Skog et al. 1997, 1995). Neben der Datenbasis entwickelten beide Arbeitsgruppen auch Fragebögen, die speziell der Erfassung der HAA dienen sollten (Byrne et al. 1998, Augustsson et al. 1997).

Für Deutschland existiert bisher kein Fragebogen, der die Aufnahme an HAA erfassen kann. Einen schon bestehenden Fragebogen aus einem anderen Land zu übernehmen ist nicht möglich, da sich die Verzehrsgewohnheiten beispielsweise zwischen Schweden und Deutschland voneinander unterscheiden. Deshalb ist ein Ziel der vorliegenden Arbeit die Entwicklung eines solchen Instrumentes, das den deutschen Verzehrverhältnissen angepasst ist. Dies bedeutet zum einen, dass die relevanten Fleisch- und Fischarten abgefragt werden und zum anderen die für die HAA-Aufnahme wichtigen Zubereitungsarten.

Die Entwicklung dieses Fragebogens läuft in zwei Schritten ab. Zunächst wird ein ausführlicher Fragebogen erstellt, der alle Lebensmittel, die einen hohen Anteil am Gesamtfleischverzehr ausmachen, sowie jene, die möglicherweise in zubereiteter Form einen hohen Beitrag zur HAA-Aufnahme leisten, abfragt. Diese Lebensmittel sollen in Kombination mit zur HAA-Aufnahme relevanten Zubereitungsformen erfasst werden. Auf Basis der Ergebnisse dieses längeren, ausführlicheren Fragebogens wird in einem zweiten Schritt ein gekürzter Fragebogen erstellt, der in der Lage ist die HAA-Aufnahme wiederzugeben.

Die Folgen einer Kürzung eines Fragebogens zur Erfassung der HAA-Aufnahme wurden auch von den schon erwähnten schwedischen und US-amerikanischen Arbeitsgruppen un-

tersucht (Voskuil et al. 1999, Byrne et al. 1998). Beide verwendeten die Ergebnisse eines ausführlichen HAA-Fragebogens, kürzten diesen mit schrittweiser Regression und verglichen die HAA-Aufnahme aus der langen Version mit der HAA-Aufnahme aus der gekürzten Version. Dies wird auch in der hier vorgestellten Pilotstudie gemacht. Die Heidelberger Studie geht weiter, indem sie den gekürzten Fragebogen wieder an die Teilnehmer verschickt und so eine Feldvalidierung durchgeführt wird.

**Kapitel I** dieser Arbeit gibt eine Einleitung in Bildung und Stoffwechsel der HAA. Darüber hinaus wird ein Überblick über die bis zum jetzigen Zeitpunkt vorliegenden epidemiologischen Studien zum Zusammenhang zwischen der HAA-Aufnahme und einem möglichen Krebsrisiko gegeben. Des Weiteren wird ein Einblick in die Entwicklung und Anwendung von Kurzfragebögen zur Erfassung der Nahrungsaufnahme sowie die European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC), in die diese Pilotstudie eingebettet ist, gegeben.

In **Kapitel II** wird die Datenbasis zur Entwicklung des HAA-Fragebogens und die Berechnung der HAA-Aufnahme beschrieben. Darüber hinaus werden die Methoden zur Kürzung des ersten längeren Fragebogens sowie die statistischen Verfahren zur Validierung der gekürzten Fragebogenversion erläutert.

Im folgenden **Kapitel III** werden die Ergebnisse der Pilotstudie dargestellt. Zunächst wird die Ermittlung der Lebensmittel und Zubereitungsarten für die gekürzte Version des HAA-Fragebogens dargestellt. Als zweites werden die Ergebnisse der Validierung der gekürzten Fragebogenversion vorgestellt und im dritten Abschnitt werden schließlich die Ergebnisse zur HAA-Aufnahme aus dem kurzen HAA-Fragebogen für Männer und Frauen sowie verschiedene Altersgruppen gezeigt.

In **Kapitel IV** werden die vorher gezeigten Ergebnisse diskutiert in Bezug auf Datengrundlage, Methodik der Validierung, die Ergebnisse anderer Untersuchungen auf diesem Gebiet und die Relevanz der HAA-Aufnahme für das Krebsrisiko beim Menschen.

**Kapitel V** gibt abschließend einen Ausblick auf die Verwendung des entwickelten Fragebogens. Auch Möglichkeiten für weitere Forschungsaktivitäten sowie bereits begonnene Projekte auf diesem Feld werden vorgestellt.

## 2 Heterozyklische aromatische Amine (HAA)

Mitte der 1970er Jahre wurden in Japan im Rauch von gegrillten Sardinen, der auf Glasfaser aufgefangen wurde, Substanzen entdeckt, die sich im Amestest als mutagen herausstellten (Sugimura 1997). In den folgenden Jahren wurden weitere dieser mutagenen Substanzen in gegrilltem und gebratenem Fleisch und Fisch nachgewiesen. Aufgrund ihrer chemischen Struktur wurden diese Substanzen heterozyklische aromatische Amine (HAA) genannt. Es handelt sich hierbei um Verbindungen mit einer Aminogruppe an einem heterozyklisch-aromatischen Ring (DGE 1992). Inzwischen sind mehr als 20 dieser Substanzen isoliert worden und in ihrer Struktur bekannt (Sugimura 1997).

### 2.1 HAA-Gruppen

Aufgrund ihres Reaktionsverhaltens gegenüber Nitrit und Temperatur können zwei große HAA-Gruppen unterschieden werden (Sugimura 1997, Skog et al. 1993):

#### A. HAA vom IQ-Typ (*Aminoimidazoarene*)

Verbindungen diesen Typs werden bei Temperaturen unter 300°C gebildet und deshalb auch als thermische Mutagene bezeichnet. Bei ihnen ist eine Aminogruppe an einen Imidazolring gebunden. Eine Behandlung mit Nitrit zeigt im sauren Milieu keinen Einfluss auf die Mutagenität dieser Substanzen. In diese Gruppe fallen die Chinoline wie IQ und MeIQ sowie die Chinoxaline wie MeIQ<sub>x</sub> und DiMeIQ<sub>x</sub>.

#### B. HAA vom Nicht-IQ-Typ (*Carboline*)

Verbindungen diesen Typs werden bei Temperaturen über 300°C gebildet und zählen damit zu den pyrolytischen Mutagenen. Bei ihnen ist eine Aminogruppe an einen Pyridinring gebunden. Im Gegensatz zu den HAA vom IQ-Typ werden sie bei Behandlung mit Nitrit im sauren Milieu desaminiert und haben keine mutagene Wirkung mehr. In diese Gruppe zählen die Pyridine (PhIP, 4-OH-PhIP, TMIP, DMIP), Pyridoindole (Try-P-1, Try-P-2, AaC, MeAaC), Pyridoimidazole (Glu-P-1, Glu-P-2) und die Furopyridine (MeIFP).

Von den genannten HAA werden die fünf folgenden am häufigsten in Lebensmitteln nachgewiesen:

2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinolin = IQ

2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinolin = MeIQ

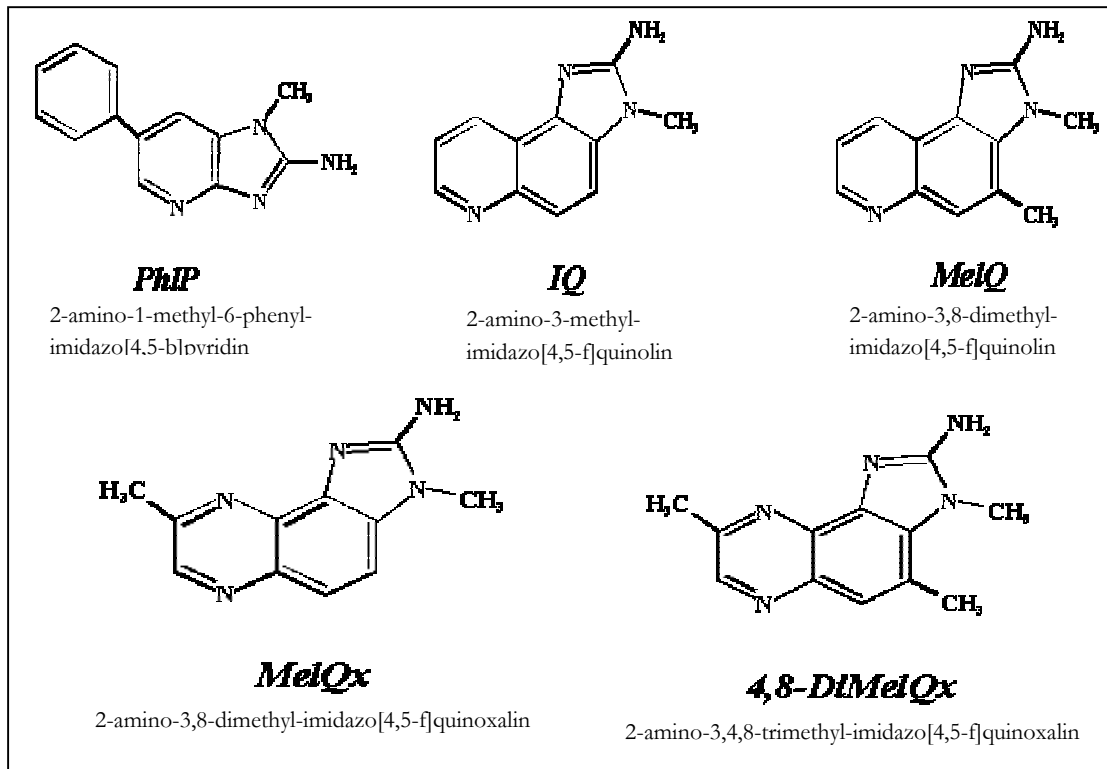
2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxalin = MeIQ<sub>x</sub>

2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxalin = (4,8-)DiMeIQ<sub>x</sub>

2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridin = PhIP

Im nachfolgenden Text werden für die HAA nur noch die vorgestellten Abkürzungen verwendet.

Die Strukturformel dieser Substanzen sind in Abb. 1 zu sehen.



**Abb. 1:** Strukturformeln der heterozyklischen Amine IQ, MeIQ, MeIQx, 4,8-DiMeIQx und PhIP

Diese Stoffe werden am häufigsten in Lebensmitteln analysiert und können, da sie quantitativ am bedeutsamsten sind, als Leitsubstanzen bezeichnet werden. Andere HAA wurden ebenfalls in verschiedenen Lebensmitteln gefunden (Skog et al. 1998), aber nicht so systematisch untersucht, so dass nicht zu einer größeren Anzahl von Lebensmitteln Analysedaten zu verschiedenen Bräunungs- oder Garegraden vorliegen. Aus diesem Grund beschränkt sich die Berechnung der alimentären HAA-Aufnahme in der vorliegenden Studie auf die fünf genannten Stoffe.

## 2.2 Bildung

Heterozyklische aromatische Amine bilden sich unter bestimmten Voraussetzungen bei der Zubereitung von Fleisch und Fisch. Die Bildung ist zum einen abhängig von der Temperatur, bei der die Lebensmittel zubereitet werden, und zum anderen vom Vorhandensein bestimmter Vorläuferstoffe. Zu letzteren zählen Kreatin, Aminosäuren und Zucker. Es wird vermutet, dass eine Maillard-Reaktion eine wichtige Rolle bei der Bildung spielt (Skog 1993, Robbana-Barnat 1996). Jägerstadt et al. (1983) schlugen folgenden Bildungsweg vor: Der Amino-Imidazo-Teil der HAA wird aus Kreatin durch Umwandlung in Kreatinin gebildet. Den Rest des Moleküls bilden möglicherweise Produkte des Strecker-Abbaus wie Pyridine oder Pyrazine, die in einer Maillard-Reaktion zwischen einem Zucker und einer Aminosäure gebildet werden. Verbunden werden die beiden Teile wahrscheinlich mittels Aldolkondensation. Diese Vermutung wurde inzwischen mehrfach bestätigt und gilt als die wahrscheinlichste Theorie zur HAA-Bildung (Thiébaud et al. 1995, Johansson & Jägerstad 1994, Knize et al. 1994a, Övervik et al. 1987).

Durch das notwendige Vorhandensein von Kreatin bei der HAA-Bildung wird das Vorkommen von HAA in gegarten Fleisch- und Fischprodukten, nicht aber in anderen eiweißreichen Lebensmitteln wie Sojaprodukten und Eiern, erklärt (Skog 1993). Kreatin kommt nur in Muskelfleisch als Kreatin-Phosphat vor und wird während des Erhitzens in Kreatinin-Phosphat umgewandelt. Aus diesem Grund wurde auch in Innereien wie Leber nur eine geringe mutagene Aktivität nach dem Kochen nachgewiesen (Bjeldanes et al. 1982). Allerdings konnten auch in Bier, Wein und Zigarettenrauch HAA nachgewiesen werden. Wie diese dort entstehen, ist aber noch nicht geklärt (DGE 1996, Wild 1995).

Das quantitative Ausmaß der HAA-Bildung ist abhängig von Temperatur und Dauer der Zubereitung. Arbeiten von Övervik et al. (1984), Gross und Grüter (1992), Knize et al. (1994b), Skog et al. (1995) oder Murkovic und Pfannhauser (2000) zeigen dies deutlich. Die Bildung setzt ein, wenn die Zubereitungstemperatur 130°C überschreitet (Skog et al. 1998). Eine höhere Temperatur bzw. eine längere Zubereitungszeit führen in der Regel zu höheren HAA-Gehalten, ab einer Temperatur von etwa 250°C erreicht der HAA-Gehalt ein Plateau (Layton et al. 1995, Thiébaud et al. 1995).

Untersuchungen über den Einfluss der Zeit auf die HAA-Bildung machte z. B. Gross (1990). In seiner Studie wurde Rindersteak von jeder Seite drei Minuten lang gebraten. In der anschließenden Analyse wurden 23 ng PhIP sowie 5,1 ng MeIQx und 1,3 ng DiMeIQx pro Gramm Fleisch gemessen. Bei einer doppelt so langen Bratzeit waren die entsprechenden Werte 48 ng/g Fleisch (PhIP), 8,3 ng/g (MeIQx) und 2 ng/g (DiMeIQx).

Aufgrund der Temperaturabhängigkeit führen Zubereitungsarten wie Dünsten oder Kochen zu keiner bzw. nur einer geringen HAA-Bildung. Auch in frittierten Lebensmitteln werden nur geringe HAA-Mengen, wenn überhaupt nachweisbar, gefunden (Zhang et al. 1988, Nilsson et al. 1986, Taylor et al. 1982). Bei Zubereitungsarten wie Grillen, Kurzbraten und Braten entstehen höhere Temperaturen, denen die Lebensmitteloberfläche während der Zubereitung ausgesetzt ist, so dass dann abhängig von dem Lebensmittel und der Temperatur, HAA gebildet werden.

Neben Temperatur und Zeit hat auch die Art der Hitzeeinwirkung einen Einfluss auf die HAA-Entstehung. Bei Backen und Braten im Backofen sowie bei der Erhitzung durch Mikrowellen entstehen Temperaturen von 200°C und mehr. Die Lebensmittel haben jedoch keinen oder keinen langen Kontakt mit einer heißen Oberfläche. Im Gegensatz dazu sind die Lebensmittel beim Grillen, Braten in der Pfanne und beim Kurzbraten sowohl hohen Temperaturen als auch einer heißen Oberfläche ausgesetzt. Viele Untersuchungen konnten zeigen, dass dies zu einer vermehrten HAA-Bildung führt (Augustsson et al. 1999b, Skog et al. 1998, WCRF 1997, Robbana-Barnat et al. 1996). Das Ausmaß der HAA-Bildung ist zusätzlich von der Dauer der Exposition abhängig. Lebensmittel sind beim Kurzbraten zwar sehr hohen Temperaturen ausgesetzt, jedoch nur für einen kurzen Zeitraum. Werden Lebensmittel dagegen längere Zeit in der Pfanne gebraten, ist die Hitzeeinwirkung stärker und die gebildete HAA-Menge größer.

In einer kürzlich veröffentlichten Untersuchung aus den USA (Salmon et al. 2000) konnte sehr deutlich gezeigt werden, wie sich unterschiedliche Arten der Zubereitung auf den

HAA-Gehalt in Fleisch auswirken. Für Frikadellen, die während des Bratens nur einmal gewendet wurden, war die Gesamtmenge an HAA höher als in Frikadellen, die während des Bratens jede Minute gewendet wurden. Je nach Höhe der Temperatur, bei der die Frikadellen zubereitet wurden, konnte die HAA-Bildung um 75% bis 95% gesenkt werden, wenn die Frikadellen jede Minute gewendet wurden.

Mitarbeiter derselben Arbeitsgruppe haben in einer früheren Studie diese Beobachtung unter einem anderen Aspekt betrachtet (Knize et al. 1996). Bei der Untersuchung des HAA-Gehaltes in Hamburgern, die in Fast-Food-Restaurants zubereitet wurden, zeigte sich, dass diese nur einen geringen HAA-Gehalt aufwiesen. Dies ist auf die kurze Bratzeit und die moderaten Temperaturen während des Bratens zurückzuführen (Knize et al. 1995). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen wurden in Fleisch, das in Restaurants zubereitet wurde, ebenso hohe HAA-Mengen gefunden wie in Fleisch, das in Haushalten bzw. im Labor unter Haushaltsbedingungen zubereitet wurde (Knize et al. 1998, 1996). Die Gehalte in Hamburgern aus Restaurants sind in der Regel zehnmal höher als in Hamburgern aus Fast-Food-Restaurants, was auf die standardisierten Zubereitungsmethoden in den Fast-Food-Ketten zurückgeführt werden kann.

Einen Einfluss auf den HAA-Gehalt im Fleisch scheint auch die Behandlung vor dem Kochen zu haben. In Hackfleischpasteten, die vor dem Braten für 1-3 Minuten in der Mikrowelle vorbehandelt wurden, fand sich nach dem Braten ein um bis zu 90% verringerter HAA-Gehalt als in jenen Hackfleischpasteten, die nicht vorbehandelt wurden (Felton et al. 1994). Dies wird damit erklärt, dass durch die Vorbehandlung in der Mikrowelle ein Teil des Fleischsaftes und damit auch Vorläuferstoffe der HAA aus dem Fleisch austreten.

Inwieweit sich der Fettgehalt des Fleisches auf die HAA-Bildung auswirkt, ist bislang noch nicht eindeutig geklärt (Knize et al. 1985, Spingarn et al. 1981), ebensowenig wie der Einfluss von verschiedenen Fetten, die während der Zubereitung verwendet werden (Johansson et al. 1995, 1993, Barrington et al. 1990, Nilsson et al. 1986, Knize et al. 1985).

HAA finden sich vermehrt in der Kruste bzw. am Rand des Fleisches und weniger im Inneren. Durch den Flüssigkeitsverlust, d. h. das Auslaufen von Braten- und Fleischsaft, treten auch HAA aus dem Fleisch aus. Im Bratrückstand wurden aus diesem Grund nicht unerhebliche HAA-Mengen nachgewiesen, die teilweise höher sind als die im Fleisch selbst gemessenen Konzentrationen (Skog et al. 1998, Gross & Grüter 1992).

### **2.3 HAA-Gehalte in Lebensmitteln**

Sowohl Thiébaud et al. (1993) als auch Layton et al. (1995) geben für die wichtigsten HAAs die folgende Reihenfolge der Aufnahmemengen an:



In den höchsten Konzentrationen ist in Lebensmitteln das HAA *PhIP* zu finden; die Konzentrationen bewegen sich in den meisten Studien zwischen 1 ng/g Fleisch (Gross et al. 1989) und 70 ng/g (Gross & Grüter 1992). Sehr hohe PhIP-Werte wurden von Sinha et al.

(1995a) mit bis zu 480 ng/g gegrilltem Huhn gemessen. *MeIQx* wird in Mengen bis zu 23 ng/g (Skog et al. 1995) nachgewiesen, die meisten Studien ergaben Konzentrationen bis zu etwa 6 ng/g (Skog et al. 1998a). *DiMeIQx* wurde in Mengen bis 9 ng/g gefunden, die Konzentrationen liegen jedoch meist bei 1 ng/g oder weniger. Die Substanz *IQ* wurde in einigen Untersuchungen gar nicht nachgewiesen (Skog et al. 1998a). Von Johansson und Jägerstad (1984) wurden jedoch in gebratenem Speck IQ-Gehalte von 3,8 bis 10,5 ng/g gemessen, während Sinha et al. (1998a) dieses HAA in gebratenem Speck nicht nachweisen konnten. *MeIQ* wurde nur selten in Lebensmitteln nachgewiesen (Skog et al. 1998).

## 2.4 Stoffwechsel

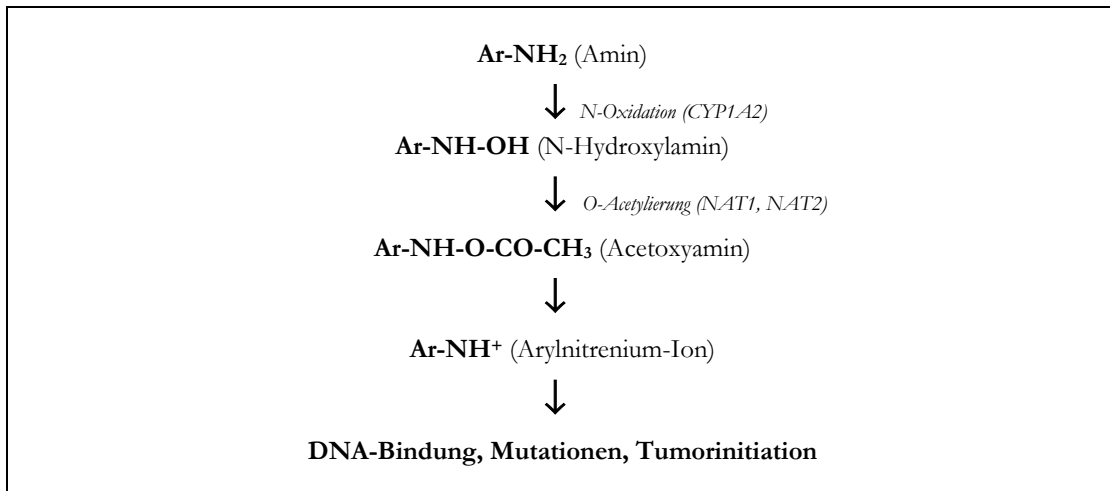
HAA werden im Dünndarm resorbiert, zur Leber transportiert und dort durch Mikrosomen katalysiert und aktiviert. Die wichtigste Reaktion hierbei ist die Acetylierung: In der Leber findet eine Oxidation der Aminogruppe mit Hilfe von Cytochrom CYP1A2 statt. In einem Ernährungsversuch mit sechs gesunden Männern konnte gezeigt werden, dass 90% des durch gebratenes Fleisch aufgenommenen *MeIQx* und 70% des PhIP durch CYP1A2 verstoffwechselt und in N-Hydroxylamine umgebaut werden (Davies et al. 1995, Boobis et al. 1994).

Das entstandene N-Hydroxyion wird u. a. zur Kolonmukosa transportiert. Dort wird ein N-Acetoxyamin durch eine O-Acetylierung gebildet. Katalysiert wird diese Reaktion durch eine Arylamin-N-Acetyltransferase (NAT1, NAT2). Neben der Acetylierung in der Kolonmukosa findet diese Reaktion aber auch in der Leber statt. Anschließend wird das entstandene N-Acetoxyamin in die Zielorgane, z. B. das Kolon transportiert (Lang et al. 1994). Bei dem N-Acetoxyamin handelt es sich um ein sehr reaktives Molekül, das ein Nitrenium-Ion bilden kann. Dieses ist in der Folge in der Lage mit der DNA Bindungen einzugehen und Mutationen auszulösen, die dann tumorinitiierend wirken können (Wild et al. 1995, Snyderwine 1994).

Studien an Nagern und Affen zeigten, dass IQ und PhIP in der Leber, in Leukozyten sowie Herz, Kolon, Testes und Gehirn DNA-Addukte bilden. Des Weiteren konnte bei Ratten die Bildung von DNA-Addukten im Brustgewebe laktierender Ratten nach der Gabe von IQ, *MeIQx* sowie PhIP nachgewiesen werden (Snyderwine 1994). Auch beim Menschen konnten in verschiedenen Organen, z. B. Kolon und Rektum, DNA-Addukte nachgewiesen werden (Mauthe et al. 1999, Wakabayashi 1997)

Das folgende Bild zeigt die Reaktionsschritte zur metabolischen Aktivierung der HAA im Überblick.





Ar = heterozyklischer Arylring

**Abb. 2:** Aktivierung von HAA im menschlichen Organismus (nach Wild 1995)

Sowohl die N-Acetyltransferase als auch das Cytochrom P450 1A2 zeigen eine interindividuelle Variabilität in der Aktivität. Bei NAT2 ist diese Variation rein genetisch bedingt (Polymorphismus), bei CYP1A2 hingegen spielen neben Polymorphismen auch Umweltfaktoren eine Rolle. Rauchen, die Aufnahme von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) oder auch der Verzehr von Kreuziferen verändern die Aktivität dieses Enzyms. Sinha et al. (1994) zeigten, dass auch die Aufnahme von HAA die Aktivität von CYP1A2 steigert.

Wild et al. (1995) zeigten, dass NAT2 bei der Phase-2-Aktivierung eine wichtigere Rolle spielt als NAT1. Deshalb ist es wahrscheinlich, dass die genetischen Polymorphismen von NAT2 das Ausmaß der DNA-Addukt-Bildung beeinflussen. Je nach Phänotyp kann zwischen schnellen und langsamen Acetylierern unterschieden werden. Schnelle Acetylierer metabolisieren die aufgenommenen HAA schneller und bilden damit auch schneller DNA-Addukte. Eine Studie von Lang et al. (1994) zeigte, dass Personen mit der schnellen Variante beider Enzyme häufiger an Kolonkrebs erkranken als Personen mit „langsam arbeitenden“ Enzymen. Auch Wild et al. (1995) vermuten, dass schnelle Acetylierer unter Kolonkrebs-Patienten häufiger zu finden sind als unter den Kontrollen. Jedoch gibt es auch Studien, in denen kein Zusammenhang zwischen Acetyliererstatus und Krebshäufigkeit gefunden wurde (Vineis & McMichael 1996).

Alternativ zur Phase-2-Aktivierung durch N-Acetyltransferase kann das N-Hydroxylamin mittels Phase-2-Konjugation, vermittelt durch UDP-Glucuronosyltransferasen in N-Glucuronid-Konjugate umgewandelt werden (Stillwell et al. 1999a, 1999b). Bei Aktivität der UDP-Glucuronosyltransferasen wurden alters-, geschlechts- und abstammungsbedingte Unterschiede beobachtet. Für MeIQx und PhIP wurde die Exkretion von radioaktiv markierten Stoffwechselprodukten untersucht.

Zwischen 20% und 58% des oral aufgenommenen radioaktiv markierten MeIQx wurden im Urin ausgeschieden, wobei neben nicht metabolisiertem MeIQx fünf Metabolite im Urin nachgewiesen wurden (Turesky et al. 1998). Zwei dieser Stoffe waren Phase-2-Konjugate,

zwei weitere waren Cytochrom P450-Oxidationsprodukte, der fünfte Metabolit konnte nicht identifiziert werden.

Eine ebenfalls sehr hohe Spannweite wurde bei der Ausscheidung von [<sup>14</sup>C]PhIP festgestellt (Malfatti et al. 1999). Zwischen 50% und 90% des radioaktiv markierten und oral aufgenommenen PhIP wurde im Urin der Probanden wiedergefunden. Dabei war N-Hydroxy-PhIP-N<sup>2</sup>-Glucuronid der wichtigste Metabolit. Insgesamt ist die Glucuronidierung der wichtigste Stoffwechselweg im PhIP-Metabolismus, nur ein geringer Anteil des aufgenommenen PhIP wurde unverändert ausgeschieden.

## 2.5 HAA und Krebsrisiko

Nach der Entdeckung von HAA zu Beginn der 1980er Jahre wurden zunächst Fütterungsversuche bei Tieren unternommen, die auf einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von HAA und verschiedenen Tumorarten schließen ließen (Shirai et al. 1995, Adamson et al. 1990). In epidemiologischen Studien am Menschen konnten diese Zusammenhänge allerdings nicht so eindeutig nachgewiesen werden. Ein wichtiger Grund dafür ist, dass die aufgenommene HAA-Menge beim Menschen sehr viel geringer ist als die Menge, die in Tierversuchen verabreicht wurde. Während den Tieren Futter mit HAA-Gehalten zwischen 0,01% und 0,06% verabreicht wurde, liegen die Konzentrationen in den Lebensmitteln, die Menschen zu sich nehmen, um einige Zehnerpotenzen niedriger (DGE 1996).

Die *International Agency for Research on Cancer* (IARC) gibt folgende Bewertung der einzelnen HAA ab:

- ◆ wahrscheinlich kanzerogen (Gruppe 2a): IQ
- ◆ vermutlich kanzerogen (Gruppe 2b): MeIQ, MeIQx, PhIP

IARC urteilt für die genannten HAA, dass für die Kanzerogenität bei Tieren ausreichende Beweise vorliegen (für IQ stärkere Beweise als für die anderen genannten HAA), nicht jedoch für den Menschen (IARC 1993).

Studien über Zusammenhänge zwischen der Zubereitung von Fleisch und Fisch bzw. der HAA-Aufnahme und dem damit verbundenen Krebsrisiko verschiedener Lokalisationen wurden in verschiedenen Ländern durchgeführt. Die folgenden Tabellen geben einen Überblick über Studien, die sich bisher mit den Zusammenhängen zwischen Krebsrisiko, Zubereitung von Fleisch und Fisch, HAA-Aufnahme und in einigen Studien auch mit dem Acetyliererstatus beschäftigt haben.

**Tab. 1:** Studien zum Zusammenhang zwischen Krebsrisiko und Fleischzubereitung

Autoren	Land	Krebsart	Was wird erfasst?	Ergebnisse
Jedrychowski et al. 1992	Polen	Magen	Fleischverzehr Zubereitung	* erhöhtes Risiko bei häufigem Braten von Fleisch (vs. Kochen): OR <sup>1</sup> =2,06 (1,48-2,87) * erhöhtes Risiko bei häufigem Schmoren von Fleisch (vs. Kochen): OR=1,59 (1,16-2,19)
Ward et al. 1997	USA	Magen, Ösophagus	Verzehr von rotem + weißem Fleisch Zubereitungsart Garegrad	* erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von gut durchgeb. <sup>2</sup> Fleisch => OR=3,2 (1,4-7,6)
Deneo-Pellerini et al. 1996	Uruguay	Lunge	Fleischverzehr Zubereitungsart	* erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von gebratenem Fleisch (4. vs. 1. Quartil): OR=1,92 (1,08-3,41)
Sinha et al. 1998b	USA	Lunge	Verzehr von rotem + weißem Fleisch Zubereitungsart Garegrad	* erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von gut durchgeb. Fleisch: OR=1,5 (1,1-2,1) * erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von gebratenem Fleisch: OR=1,5 (1,1-2,0)
Zheng et al. 1998	USA	Brustkrebs	Verzehr von rotem + weißem Fleisch Garegrad	* erhöhtes Risiko bei gut durchgeb. Hamburger (vs. blutig): OR=2,2 (1,30-3,77) * erhöhtes Risiko bei gut durchgeb. Speck, Steak, Hamburger (vs. blutig): OR=4,62 (1,36-15,70) * Risiko steigt mit Garegrad von Speck, Steak, Hamburger an
Steineck et al. 1990	Schweden	Urothelialkrebs	Verzehr von Fleisch Verzehr von gebratenem Fleisch	* nicht signifikant erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von gebratenem Fleisch * nicht signifikant erhöhtes Risiko bei Verzehr von brauner Sauce (wöchentlich vs. selten)
Knekt et al. 1994	Finnland	verschiedene Tumoren	Verzehr von Fleisch Verzehr von gebratenem Fleisch	* erhöhtes Brustkrebsrisiko für häufigen Verzehr von gebratenem Fleisch (3. vs. 1. Tertil): OR=1,8 (1,03-3,16)
Lyon & Mahoney 1988	USA	Kolon	Fleischverzehr Zubereitungsart	* kein Zusammenhang mit der Zubereitung von Fleisch
Schiffman & Felton 1990	USA	Kolorektale Tumoren	Fleischverzehr Garegrad	* erhöhtes Risiko für gut durchgeb. Fleisch (vs. blutig): OR=3,5 (1,3-9,6)
Gerhardsson de Verdier et al. 1991	Schweden	Kolorektale Tumoren	Verzehr von Fleisch Verzehr von brauner Sauce Bräunungsgrad von Fleisch Zubereitungsart	* erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von brauner Sauce (>1/Woche vs. selten): Kolon OR=1,8 (1,2-2,5); Rektum OR=2,7 (1,4-3,2) * erhöhtes Risiko bei überwiegendem Verzehr von stark gebräuntem Fleisch (vs. hell): Kolon OR=2,3 (1,3-4,0); Rektum OR=3,7 (1,9-7,8)
Muscat & Wynder 1994	USA	Kolorektale Tumoren	Fleischverzehr Garegrad	* kein Zusammenhang mit häufigem Verzehr von stark gebratenem Fleisch
Probst-Hensch et al. 1997	USA	Kolorektale Adenome	Verzehr von rotem + weißem Fleisch Zubereitungsart Garegrad Bräunungsgrad	* erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von gebratenem rotem Fleisch (>40% gebraten vs. nie braten): OR=1,8 (1,06-1,50) * hohe HAA-Exposition (mehr als 1x/Wo. rotes Fleisch gut durchgeb., mehr als 10% davon gebraten u. stark gebräunt): OR=2,2 (1,1-4,3)
Sinha et al. 1999	USA	Kolorektale Adenome	Verzehr von rotem + weißem Fleisch Zubereitungsart Garegrad	* erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von (gut) durchgeb. rotem Fleisch (90%ile vs. 10%ile): OR=1,29 (1,08-1,54) * erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von gegrilltem rotem Fleisch (90%ile vs. 10%ile): OR=1,16 (1,2-2,6)
Voskuil 1999	Niederlande	zufällig auftretende kolorektale Tumoren + HNPCC <sup>3</sup>	Fleischverzehr Zubereitungsart	* bei zufällig auftretenden Tumoren: erhöhtes Risiko bei Verzehr von stark gebräuntem Fleisch (vs. hell): OR=3,0 (1,2-7,5) * kein Zusammenhang bei HNPCC gefunden

<sup>1</sup>in Klammern wird zum Odds Ratio (OR) das dazugehörige 95%-Konfidenzintervall angegeben<sup>2</sup>durchgeb. = durchgebraten<sup>3</sup>HNPCC = Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (hereditäre nicht-polypöse Kolonkarzinome)

**Tab. 2:** Studien zum Zusammenhang zwischen Krebsrisiko, Fleischzubereitung und Acetyliererstatus

Autor	Land	Krebsart	Was wird erfasst?	Ergebnisse
Ambrosone et al. 1998	USA	Brust	NAT2-Genotyp Verzehr von Fleisch, gebratenem Fleisch Saucenverzehr	* kein Zusammenhang zw. Fleisch-/ Saucenverzehr und Krebsrisiko (weder für alle Frauen noch für schnelle Acetylierer)
Gertig et al. 1999	USA	Brust	NAT2-Genotyp Verzehr von Fleisch Zubereitung von Rind, Schwein, Lamm	* kein Zusammenhang zwischen dem Verzehr von rotem Fleisch und Krebsrisiko * kein Zusammenhang zwischen Zubereitung von Fleisch und Krebsrisiko
Zheng et al. 1999	USA	Brust	NAT1-Genotyp Verzehr von rotem Fleisch Garegrad	* erhöhtes Krebsrisiko bei Personen mit NAT1*11- Allel und hohem Verzehr von rotem Fleisch (3. vs. 1. Tertile):OR <sup>1</sup> =6,1 (1,1-33,2)
Deitz et al 2000	USA	Brust	NAT2-Genotyp Verzehr von rotem Fleisch "Garegrad score"	* erhöhtes Brustkrebsrisiko bei intermediären/schnellen Acetylierern und Verzehr von durchgebratenem Fleisch im Vgl. zu Personen, die nur wenig durchgebratenes Fleisch verzehren: OR=3,3 (1,6-6,8)
Lang et al. 1994	USA	Kolorektale Tumoren und Polypen	NAT2-Genotyp CYP1A2-Genotyp Zubereitung von Fleisch	* erhöhtes Krebsrisiko im Vergleich zu "langsam/langsam"-Metabolisierern, die v.a. wenig durchgebratenes Fleisch essen bei: - "langsam/langsam" und gut durchgebratenem Fleisch: OR=2,06 - "schnell/schnell" und gut durchgebratenem Fleisch: OR=6,45
Welfare et al. 1997	England	Kolorektale Tumoren	NAT2-Genotyp Fleischverzehr Zubereitung von Fleisch	* erhöhtes Risiko bei Verzehr von gebratenem Fleisch >2x/Woche: OR=3,0 (1,37-7,25) * erhöhtes Risiko bei schnellen Acetylierern und Verzehr von gebratenem Fleisch >2x/Woche: OR=6,0 (1,34-55)
Kampman et al. 1999	USA	Kolon	NAT2-Genotyp Verzehr versch. Fleischarten und Zubereitungsarten Garegrad v. rotem Fleisch u. Geflügel Verwendung des Bratrückstandes	* kein Zusammenhang zwischen Garegrad/Zubereitungsart/Bratrückstand und Krebsrisiko * leicht erhöhtes Risiko bei schnellen Acetylierern und hohem Verzehr von Fleischprodukten: OR=1,5 (1,1-2,0)

<sup>1</sup>in Klammern wird zum Odds Ratio (OR) das dazugehörige 95%-Konfidenzintervall angegeben

**Tab. 3:** Studien zum Zusammenhang zwischen Krebsrisiko, Fleischzubereitung und HAA-Aufnahme

Autor	Land	Krebsart	Was wird erfasst?	Ergebnisse
Sinha et al. 2000b	USA	Brust	HAA-Aufnahme <sup>2</sup> Zubereitung von rotem Fleisch, Garegrad	* erhöhtes Risiko bei hoher PhIP-Aufnahme (1. vs. 5. Quintil): OR <sup>1</sup> =1,9 (1,1-3,4)
Delfino et al. 2000	USA	Brust	HAA-Aufnahme <sup>2</sup> (eigene Datenbasis) Zubereitung von Fleisch, Garegrad NAT2-Status	* HAA-Aufnahme zeigt keinen Einfluss auf das Krebsrisiko * Acetyliererstatus zeigt keinen Einfluss auf das Krebsrisiko
De Stefani et al. 1997b	Uruguay	Brust	HAA-Aufnahme <sup>3</sup> Zubereitung von Fleisch	* alle Frauen: erhöhtes Risiko bei Vergleich des Verzehrs zwischen 4. und 1. Quartil für: - IQ: OR=3,34 (1,85-6,02) - MeIQx: OR=2,13 (1,27-3,55) - PhIP: OR=2,59 (1,49-4,70) - gebratenes Fleisch: OR=2,71 (1,61-4,55) * signifikant erhöhte Risiken finden sich auch bei postmenopausalen, jedoch nicht bei prämenopausalen Frauen
Sinha et al. 2000a	USA	Lunge	HAA-Aufnahme <sup>2</sup> Zubereitungsarten von Fleisch Garegrad	* erhöhtes Risiko bei hoher MeIQx-Aufnahme (90%ile vs. 10%ile) => OR=1,5 (95% CI 1,1-2,0) - Nichtraucher: OR=3,6 (1,3-10,3) - leichte/mittlere Raucher: OR=2,1 (1,3-3,3) * keine erhöhten Risiken bei anderen HAA gefunden
Augustsson et al. 1999a	Schweden	Kolon, Rektum, Blase, Niere	HAA-Aufnahme <sup>2</sup> Zubereitung von Fleisch + Fisch Bräunungsgrad	* keine erhöhten Risiken, wenn Personen im höchsten Quartil der HAA-Aufnahme mit jenen im untersten verglichen werden * alle Personen mit einer HAA-Aufnahme >1900 ng/Tag waren Fälle
Norrish et al. 1999	Neuseeland	Prostata	HAA-Aufnahme <sup>2</sup> Zubereitung von Fleisch Garegrad	* erhöhtes Risiko bei häufigem Verzehr von (gut) durchgebratenem Fleisch: OR=1,68 (1,02-2,77) * keine erhöhten Risiken, wenn Personen mit höchster HAA-Aufnahme mit jenen der niedrigsten verglichen werden
De Stefani et al. 1998a	Uruguay	Mundhöhle, Larynx, Ösophagus	HAA-Aufnahme <sup>3</sup> Zubereitung von Fleisch	* erhöhtes Risiko bei Vergleich des Verzehrs zwischen 4. und 1. Quartil für: - HAA gesamt: OR=2,3 (1,1-5,0) - PhIP: OR=2,5 (1,2-5,2) * keine erhöhten Risiken bei anderen HAA gefunden
De Stefani et al. 1998b	Uruguay	Magen	HAA-Aufnahme <sup>3</sup> Zubereitung von Fleisch	* erhöhtes Risiko bei Vergleich des Verzehrs zwischen 4. und 1. Quartil für: - PhIP: OR=1,58 (1,25-2,0) - gegrilltes Fleisch: OR=2,16 (1,76-2,64)
Sinha et al. 2001	USA	Kolorektale Adenome	HAA-Aufnahme <sup>3</sup> Verzehr von rotem + weißem Fleisch Zubereitungsart Garegrad	* erhöhtes Risiko mit steigender Aufnahme an MeIQx (pro 10 ng zusätzlicher Aufnahme): OR=1,15 (1,05-1,25)
De Stefani et al. 1997a	Uruguay	Kolorektale Tumoren	HAA-Aufnahme <sup>3</sup> Zubereitung von Fleisch	* erhöhtes Risiko bei Vergleich des Verzehrs zwischen 4. und 1. Quartil für: - IQ: OR=1,95 (1,03-3,68) - MeIQx: OR=2,26 (1,16-4,42) - PhIP: OR=1,87 (1,01-3,49)

<sup>1</sup>in Klammern wird zum Odds Ratio (OR) das dazugehörige 95%-Konfidenzintervall angegeben<sup>2</sup>die Berechnung der HAA-Aufnahme beruht auf eigenen Analysedaten<sup>3</sup>die Berechnung der HAA-Aufnahme beruht auf Literaturdaten

### 3 Erfassung der alimentären Aufnahme an HAA

#### 3.1 Probleme der Quantifizierung

HAA werden allgemein über eine Erfragung des Ernährungsverhaltens erfasst. Die Erfassung sollte die Quantifizierung der Aufnahme von Fleisch- und Fischprodukten sowie deren Zubereitung umfassen. Angaben zu Zubereitungsarten sollten spezifisch für Produkte angegeben werden, da z. B. bei demselben Bräunungsgrad in verschiedenen Fleischprodukten und Zubereitungsarten unterschiedliche Mengen an HAA gebildet werden (Skog et al. 1998). In einigen Studien wird allgemein nach dem Bräunungsgrad von Fleisch und Fisch gefragt, andere fragen nach Zubereitungsmethoden dieser Lebensmittel (Probst-Hensch et al. 1997, Ward et al. 1997). Die Nutzung von Surrogatvariablen kann zu Fehlklassifikation führen. In der Folge kann die HAA-Aufnahme über- oder unterschätzt werden, da in verschiedenen Fleischarten bei z. B. demselben Bräunungsgrad unterschiedliche Mengen HAA gebildet werden.

In einigen Studien werden Garbedingungen untersucht, die nicht den haushaltsüblichen Bedingungen bei der Lebensmittelzubereitung entsprechen (zu lange Garzeit, zu hohe Temperatur) (Keating & Bogen 2001, Skog et al. 1998). Diese Daten können nicht zur Quantifizierung herangezogen werden.

Erste Berechnungen der HAA-Aufnahme führten zu vergleichsweise hohen Mengen. Layton et al. (1995) berechneten eine durchschnittliche Aufnahme von 1800 ng/d, in einer anderen Studie wurde eine Aufnahme bis zu 12.000 ng/d errechnet (Skog et al. 1998). Neuere Untersuchungen, die sich auf systematisch untersuchte und in einem standardisierten Fragebogen erfasste Lebensmittel stützen, kommen mit Werten von 120-900 ng/d zu geringeren Belastungen (Byrne et al. 1998, Augustsson et al. 1997, Zoller et al. 1997, Thomson et al. 1996).

#### 3.2 Bereits vorhandene Fragebögen zur Berechnung der HAA-Aufnahme

Bisher haben nur zwei Arbeitsgruppen versucht, die Aufnahme von HAA mit Hilfe eines Fragebogens zu quantifizieren.

Die schwedische Arbeitsgruppe von Gunnar Steineck und Katarina Augustsson verwendete einen 188 Lebensmittel umfassenden Food Frequency Questionnaire (FFQ), der u. a. auch 36 Fleisch- und Fischprodukte in unterschiedlicher Zubereitung abfragt. Von diesen 36 Gerichten wurden 22 auf ihren Gehalt an bestimmten HAA bei verschiedenen Gartemperaturen untersucht. Diese Daten sind die Grundlage zur Berechnung der HAA-Aufnahme. Da nicht alle Lebensmittel analysiert wurden, dienen für ähnliche Lebensmittel die Analysedaten eines vergleichbaren Produktes als Berechnungsgrundlage (z. B. für Wiener Würstchen, Speckwürstchen und andere Würstchen die Werte von Falunwurst). Zur Bestimmung des Bräunungsgrades wurden sechs Bilderserien mit je vier Bildern verwendet. Für jedes Lebensmittel wird abgefragt, mit welchem Bräunungsgrad es üblicherweise verzehrt wird. Neben den Lebensmitteln gehen auch die Bratrückstände in die Berechnung der HAA-Aufnahme ein (Augustsson et al. 1997).

Der Fragebogen der Arbeitsgruppe vom National Cancer Institute in Bethesda (USA) umfasst acht Fleisch- und Fischprodukte in unterschiedlichen Zubereitungsformen und fragt deren Verzehrshäufigkeit ab. Darüber hinaus verwendet auch diese Gruppe Bilderserien, um den Bräunungs- und Garegrad der Lebensmittel zu erfassen (Byrne et al. 1998, Sinha et al. 1995a).

## 4 Kurzfragebögen zur Erfassung der Nahrungsaufnahme

### 4.1 Was sind Kurzfragebögen?

Während Ernährungshäufigkeits-Fragebögen (Food Frequency Questionnaires = FFQ) häufig sehr lange Erhebungsinstrumente sind, die mehr als 100 Lebensmittel oder Lebensmittelgruppen abfragen (Thompson & Byers 1994), wird im Screening-Bereich oder in größeren Studien ein Instrument gesucht, das in kürzerer Zeit auszufüllen und auszuwerten ist. Diese sogenannten Kurzfragebögen sind prinzipiell genauso aufgebaut wie ausführliche FFQ, d. h. sie erfragen auch die Verzehrshäufigkeit von Lebensmitteln. Dabei werden aber nur wenige bestimmte Lebensmittel ausgewählt, auf die Frage nach Portionsgrößen wird in der Regel verzichtet. Ziel von Kurzfragebögen ist nicht die quantitative Erfassung der Aufnahme eines Nährstoffes, sondern die qualitative oder semiquantitative Erfassung, um Personen verschiedenen Verzehrskategorien zuordnen zu können (Thompson & Byers 1994).

Was als ein kurzes Erhebungsinstrument bezeichnet wird, hängt häufig vom Ermessen des Wissenschaftlers, der dieses Instrument einsetzt, ab. So gibt es Screener, die mit weniger als zehn Fragen auskommen, während einige semiquantitative FFQ mehr als 60 Lebensmittel umfassen.

Eine Form der Kurzfragebögen sind *semiquantitative Fragebögen*. Wie auch FFQ erfassen sie die Aufnahme eines Nährstoffes in Gramm pro Tag. Für jedes Lebensmittel wird aus dem Nährstoffgehalt und der Verzehrshäufigkeit die Nährstoffaufnahme berechnet und anschließend durch Summieren aller Lebensmittel die Gesamtnährstoffaufnahme berechnet (Dreon et al. 1993). Ziel ist aber in der Regel nicht die exakte quantitative Angabe der Zufuhr, sondern die Kategorisierung der Probanden aufgrund der berechneten Aufnahme. In der Regel wird bei dieser Art Fragebögen auf die Angabe verschiedener Portionsgrößen verzichtet. Willett (1998) definiert einen semiquantitativen Fragebogen dadurch, dass dieser Lebensmittel nur in einer Portionsgröße (meist in einer natürlichen Einheit, wie z. B. einer Scheibe Brot, einem Ei oder einem Glas Milch) abfragt.

Viele semiquantitative Fragebögen wurden speziell zur Erfassung eines Nährstoffes oder einer Nährstoffgruppe entwickelt, z. B. zur Erfassung der Aufnahme von Fetten, Mineralstoffen wie Calcium oder Vitaminen, z. B.  $\beta$ -Carotin (Wappler et al. 1998, Cummings et al. 1987). Der Kurzfragebogen von Kempainen et al. (1992) fragt 21 Lebensmittel und Lebensmittelgruppen ab, mit dem Ziel, die Aufnahme an Gesamtfett, gesättigten, einfach ungesättigten und mehrfach ungesättigten Fettsäuren sowie Cholesterin zu erfassen. Block und Mitarbeiter (1989) entwickelten ebenfalls einen semiquantitativen Kurzfragebogen zur Erfassung der Fettaufnahme. Sie wählten unterschiedlich lange Versionen eines Fragebogens und verglichen die Ergebnisse mit denen eines 100 Items langen FFQ. Am Ende stellte sich eine 13 Lebensmittel umfassende Version mit den Portionsgrößen klein, mittel und groß als am günstigsten heraus.

*Screener* sind in der Regel kürzer als semiquantitative Fragebögen, da sie die Nährstoffauf-



nahme nur qualitativ erfassen und auch häufiger als semiquantitative Fragebögen nur einen einzelnen Nährstoff erfragen.

Wichtig ist nicht die genaue Erfassung der Nährstoffaufnahme, sondern eine Kategorisierung der Probanden, z. B. in die Kategorien geringe, mittlere und hohe Fettaufnahme. Die abgefragten Lebensmittel in einem Screener werden nicht in absoluten Nährstoffmengen ausgewertet, sondern es werden für die Verzehrshäufigkeit Punkte vergeben, aus denen als Summe ein Score gebildet wird. Je nach Höhe des Scores wird ersichtlich, ob die Aufnahme eines Nährstoffes hoch oder niedrig ist und in welche Verzehrskategorie der Proband fällt.

Einen sehr kurzen Screener mit vier Lebensmittelgruppen entwickelten Guthrie und Scheer (1981). Sie fragen nach dem Konsum von Milch- und Milchprodukten, Fleisch- und Fleischprodukten, Obst und Gemüse sowie Brot und Getreide.

Byers et al. (1985) gehen der Frage nach, wie viele Lebensmittel notwendig sind, um die Nährstoffaufnahme noch korrekt wiedergeben zu können. Sie kommen zu dem Schluss, dass die Frage nach 15-20 Schlüssellebensmitteln ausreicht, um die Probanden in Verzehrskategorien einzuteilen und eine Beziehung zwischen der Aufnahme eines Nährstoffes und dem Entstehen einer Krankheit nachweisen zu können.

Von der Arbeitsgruppe um Cummings (1987) stammt ein 34 Items umfassender Fragebogen zur Abschätzung der Calciumaufnahme. Dieser Fragebogen wird auf die fünfzehn, zehn bzw. fünf wichtigsten Lebensmittel verkürzt. Dadurch sinkt zwar der absolute Wert der gemessenen Calciumaufnahme, aber die Korrelation mit dem Sieben-Tage-Protokoll bleibt ebenso erhalten wie die Klassifizierung der Probanden in solche mit einer hohen bzw. niedrigen Mineralstoffaufnahme.

## **4.2 Entwicklung**

Die Auswahl der Lebensmittel für einen Fragebogen kann auf verschiedene Arten geschehen. Sie können auf Erfahrung beruhen oder datenbasiert mit Hilfe von Daten vorangegangener Studien ausgewählt werden. Es ist möglich, die Lebensmittel zu wählen, die am wichtigsten für die Versorgung der Bevölkerung mit einem Nährstoff sind (bevölkerungsbezogener Ansatz) oder aber diejenigen Nahrungsmittel zu wählen, die am meisten zur Varianz in der Aufnahme eines Nährstoffes in einer Personengruppe beitragen (varianzbezogener Ansatz).

Wichtig ist nach Willett (1998), dass die gewählten Lebensmittel folgende Bedingungen erfüllen:

- ◆ Erstens sollte das Lebensmittel von einer ausreichend großen Zahl von Individuen in einer Bevölkerung verzehrt werden.
- ◆ Zweitens muss das Lebensmittel den gewünschten Nährstoff in einer ausreichend hohen Menge enthalten.
- ◆ Drittens schließlich sollte der Verzehr dieses Lebensmittels in der Bevölkerung variieren, um Personen mit unterschiedlichen Verzehrsgewohnheiten voneinander unterscheiden zu können.

Dies macht Willett (1998) an einem Beispiel deutlich: Wenn alle Personen in einer Gruppe zwei Möhren pro Tag verzehren, ist es nicht sinnvoll, in einem Fragebogen über die Carotinoaufnahme nach diesem Lebensmittel zu fragen, da eine Kategorisierung der Menschen nicht möglich ist. Die Frage nach Spinat, der von einigen Menschen häufig in größeren Mengen, von anderen dagegen gar nicht verzehrt wird, ist besser geeignet, eine Rangfolge für die Carotinoaufnahme zu erstellen.

Während der varianzbezogene Ansatz die drei genannten Voraussetzungen erfüllt, ist dies bei dem bevölkerungsbezogenen Ansatz nicht völlig der Fall, da hier nicht darauf geachtet wird, ob die Lebensmittel zur Varianz der Nährstoffaufnahme in der Bevölkerung beitragen. Die verschiedenen Ansätze werden im Folgenden kurz vorgestellt.

#### A) Bevölkerungsbezogener Ansatz

Bei diesem Ansatz werden diejenigen Lebensmittel in den Fragebogen aufgenommen, die quantitativ am meisten zur Aufnahme eines bestimmten Nährstoffes beitragen. Hierbei wird berücksichtigt, dass einzelne Lebensmittel einen unterschiedlich hohen Anteil an der Versorgung mit einzelnen Nährstoffen haben. Dabei ist nicht nur der Nährstoffgehalt eines Lebensmittels wichtig, sondern auch die Verzehrshäufigkeit in der befragten Bevölkerung (Block et al. 1982, 1985). Deshalb enthält ein solcher Fragebogen auch Lebensmittel mit einem relativ geringen Nährstoffgehalt, die aber wegen ihrer hohen Verzehrshäufigkeit für die Versorgung der Bevölkerung wichtig sind.

Block et al. (1985) benutzen die 24-Stunden-Erinnerungsprotokolle von 11.658 erwachsenen US-Bürgern des NHANES II, um damit die 50 wichtigsten Lebensmittel zur Versorgung mit Energie, Proteinen, Kohlenhydraten, Gesamtfett, gesättigten Fettsäuren, Linol- und Linolensäure sowie Cholesterin zu bestimmen. Beispielsweise machen zwölf Lebensmittelgruppen 50% der Energiezufuhr aus. Die sogenannten „leeren“ Energieträger wie zuckerhaltige Erfrischungsgetränke, Zucker und Süßigkeiten tragen etwa 20% zur Gesamtkohlenhydratversorgung bei und allein acht Lebensmittel machen mehr als 50% der Zufuhr an gesättigten Fetten aus.

#### B) Varianzbezogener Ansatz

Dieser Ansatz beruht auf der Annahme, dass der Verzehr von Lebensmitteln in der Bevölkerung variiert und dass es wichtig ist, diese Varianz zu erfassen, um die einzelnen Personen oder Gruppen klassifizieren zu können (Willett 1998). Die zentrale Frage ist, welche Lebensmittel am stärksten zur interpersonellen Varianz in der Nährstoffaufnahme beitragen. Um diese Frage zu beantworten, können die schrittweise multiple Regression oder Max\_r angewandt werden.

#### *Schrittweise multiple Regressionsanalyse*

Um den Zusammenhang zwischen einer Einflussvariablen, der sogenannte unabhängigen Variable und einer Zielvariablen als abhängige Variable, beispielsweise einer Krankheit oder der Nährstoffaufnahme, zu beschreiben, werden Regressionsmodelle verwendet. Hierbei soll der Zusammenhang zwischen der Zielvariablen und der Einflussvariablen in Form einer mathematischen Gleichung dargestellt werden.

Willett et al. (1985) nutzten dieses Verfahren zur Erstellung eines kurzen FFQ. Im ersten Schritt wurde aus den Ergebnisse einer Ernährungserhebung eine ausführliche Lebensmittelliste erstellt, die 99 Lebensmittel umfasste, die zur Regressionsanalyse genutzt wurde. Am Ende bestand der semiquantitative Fragebogen aus jenen 61 Lebensmitteln, die den größten Beitrag zur interpersonellen Varianz leisteten.

Mit Hilfe der schrittweisen Regression entstand auch der Fragebogen für den deutschen Teil der European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) (Bohlscheid-Thomas et al. 1997).

In einer Studie von Byers et al. (1985) wird an einigen Beispielen der Unterschied zwischen der bevölkerungsbezogenen und der varianzbezogenen Methode verdeutlicht. Während ein großer Teil der Varianz durch relativ wenige Lebensmittel erklärt werden kann, werden weit mehr Lebensmittel benötigt, um denselben Prozentbeitrag zur Versorgung der Bevölkerung mit diesem Nährstoff zu erreichen. Beispielsweise reichen fünf Lebensmittel aus, um 90% der Varianz in der Vitamin-A-Aufnahme zu erklären, während diese fünf Lebensmittel aber nur 48% zur Gesamtversorgung mit diesem Nährstoff beitragen. Bei der Fettzufuhr erklären 17 Lebensmittel 90% der Varianz, leisten aber nur einen Beitrag von 49% zur Fettaufnahme in dieser Bevölkerung. Dies bedeutet, dass sehr viel weniger Lebensmittel in einen Fragebogen aufgenommen werden müssen, wenn nur die Absicht besteht, die Individuen einer Studienpopulation hinsichtlich ihrer Verzehrsvarianz zu klassifizieren. Als eine Art Richtwert kommen Byers et al. (1985) zu dem Ergebnis, dass 15-20 Items zur Erstellung eines Fragebogens, der einen Zusammenhang zwischen der Zufuhr eines einzelnen Nährstoffes und einer Erkrankung untersuchen soll, genügen.

#### *Max\_r*

Max\_r steht als Abkürzung für „*maximize Pearson correlation coefficient  $r^2$* “. Entwickelt wurde das Verfahren am National Cancer Institute der USA von Steven Mark und Donald Thomas (Mark et al. 1996).

Gleich der Regressionsanalyse ist Max\_r ein varianzbezogenes Verfahren. Es nutzt, ebenso wie der bevölkerungsbezogene Ansatz und die schrittweise Regression, die Informationen längerer Erhebungsinstrumente und verfolgt das Ziel, Schlüssellebensmittel zu identifizieren. Als Schlüssellebensmittel werden solche Lebensmittel bezeichnet, die die interpersonelle Varianz in der Aufnahme eines Nährstoffes darstellen können, ohne dass eine Vielzahl anderer Lebensmittel abgefragt werden müssen. Diese Lebensmittel stehen damit stellvertretend für viele andere Lebensmittel.

In Deutschland wurde Max\_r zur Entwicklung von Kurzfragebögen zur Erfassung der Aufnahme an verschiedenen Antioxidantien (Klein 1998) und Fetten (Rohrman et al. 2001, 2000) verwendet.

### **4.3 Ziele und Einsatzmöglichkeiten**

Wie bereits erwähnt, steht bei der Anwendung von Kurzfragebögen weniger die quantitative Erfassung der Ernährung wie z. B. bei Ernährungsprotokollen im Vordergrund, sondern ein

schneller Überblick über die Verzehrsgewohnheiten von Individuen oder bestimmten Bevölkerungsgruppen (Peters et al. 1994, Dowdy et al. 1990). Bei vielen Autoren ist dabei die Kategorisierung oder Klassifizierung der Probanden von besonderer Bedeutung (Roe et al. 1994, Kempainen et al. 1993, van Assema et al. 1992).

Kurzfragebögen eignen sich aufgrund ihrer Kürze, der geringen Kosten und der einfachen Art der Anwendung gut für größere Studien, die Zusammenhänge zwischen bestimmten Ernährungsmustern, insbesondere der Aufnahme bestimmter Nährstoffe und Krankheiten finden zu wollen (Jain et al. 1982). Aufgrund dessen sind sie auch für Bevölkerungs-Surveys geeignet (Knapp et al. 1994, Dobson et al. 1993), die eine große Anzahl von Personen screenen, um diejenigen herauszufinden, die von Ernährungsberatungsprogrammen profitieren können.

Weitere Einsatzgebiete finden sich im Bereich des Monitoring, d. h. in der Beobachtung des Ernährungsverhaltens über einen längeren Zeitraum (Coates et al. 1995, Srinath et al. 1993) und im Einsatz in Primary Health Clinics, in denen die Patienten regelmäßig untersucht und befragt werden (Peters et al. 1994).

Auch in epidemiologischen Studien werden Kurzfragebögen eingesetzt. In einer Untersuchung in Utah (USA) über den Zusammenhang zwischen Ernährung und koronaren Herzkrankheiten diente ein semiquantitativer Fragebogen der Erfassung der Fett- und Cholesterinaufnahme (Hopkins et al. 1989).

Ein wichtiger Einsatzbereich von Kurzfragebögen liegt in der Ernährungsberatung. Um die Ernährungsberatung effektiver und kostengünstiger zu gestalten, füllen Personen vor dem eigentlichen Beratungsgespräch einen kurzen Fragebogen aus, mit dem ihre Probleme schon kurz charakterisiert werden. Danach kann besser entschieden werden, wie intensiv die Schulung oder Beratung sein soll (Kinlay et al. 1997, Connor et al. 1992, Block et al. 1989).

#### **4.4 Vor- und Nachteile**

Kurzfragebögen können schnell eingesetzt werden und sind kostengünstig (Gray-Donald et al. 1997, Connor et al. 1992). Die Dauer für das Ausfüllen eines Kurzfragebogens liegt in der Regel bei wenigen Minuten (van Assema et al. 1992, Curtis et al. 1992). Für das Ausfüllen eines FFQ mit mehr als 100 Items wird teilweise mehr als eine Stunde benötigt, Ernährungsprotokolle beanspruchen die Studienteilnehmer mehrere Tage. Auch der zeitliche Aufwand seitens der Forscher ist wichtig, denn während Ernährungsprotokolle aufwendig kodiert werden müssen, können v. a. Screener schnell und größtenteils auch "im Kopf", ohne Hilfe von PC-Programmen ausgewertet und bewertet werden. In der Ernährungsberatung kann so z. B. von der zu beratenden Person selbst das Ergebnis berechnet und beurteilt werden.

Von Vorteil sind weiterhin die vielfältigen Einsatzmöglichkeiten der kurzen Erhebungsinstrumente. Kurzfragebögen sind sowohl in einem persönlichen Interview, in einem Telefoninterview und als selbst auszufüllender Fragebogen, der mit der Post verschickt wird, zu verwenden (Knapp et al. 1988).

Aufgrund ihrer Kürze sind diese Fragebögen meist nicht in der Lage, die absolute Menge der Nährstoffaufnahme wiederzugeben (Coates et al. 1995, Knapp et al. 1988).

Die Listen enthalten, besonders wenn es sich um Fragebögen zur Abschätzung der Vitamin- oder Mineralstoffaufnahme handelt, nur wenige oder keine energetisch bedeutenden Lebensmittel, so dass eine Erfassung der Gesamtenergieaufnahme nur schwer möglich ist (van Assema et al. 1992). Damit einher gehen die Probleme, dass die Energieaufnahme teilweise nur ungenau abzuschätzen ist und die Möglichkeit, die prozentuale Energiezufuhr durch Fette, Kohlenhydrate oder Eiweiß anzugeben, ebenfalls nur begrenzt möglich ist (Retzlaff et al. 1997, Roe et al. 1994, Kinlay et al. 1991).

Da häufig nur ein Nährstoff erfragt wird, ist es in späteren Analysen nicht möglich, aus diesem Fragebogen Rückschlüsse auf die Zufuhr anderer Nährstoffe zu ziehen (Thompson & Byers 1994). Damit ist es auch schwer für potentielle Confounder in Form anderer Nährstoffe oder der Energieaufnahme zu kontrollieren.

Kurzfragebögen werden häufig aus den Daten vorangegangener Studien an einer Bevölkerung oder einer Subpopulation konzipiert und sind deshalb in ihrer Zusammensetzung auf die Lebensmittelauswahl und die Ernährungsgewohnheiten dieser Menschen ausgerichtet. Es ist deshalb nicht sinnvoll, Fragebögen einfach auf eine andere Studienpopulation zu übertragen und anzuwenden (Coates et al. 1995, Thompson & Byers 1994, Heller et al. 1981). Einige Lebensmittel dieser Fragebögen werden in einer anderen Bevölkerung wahrscheinlich nicht verzehrt, während andere wichtige Lebensmittel fehlen. Das trifft auch für zeitlich lange auseinanderliegende Studien in derselben Bevölkerung zu, da sich das Nahrungsmittelangebot und die Ernährungsgewohnheiten im Laufe der Zeit verändern können.

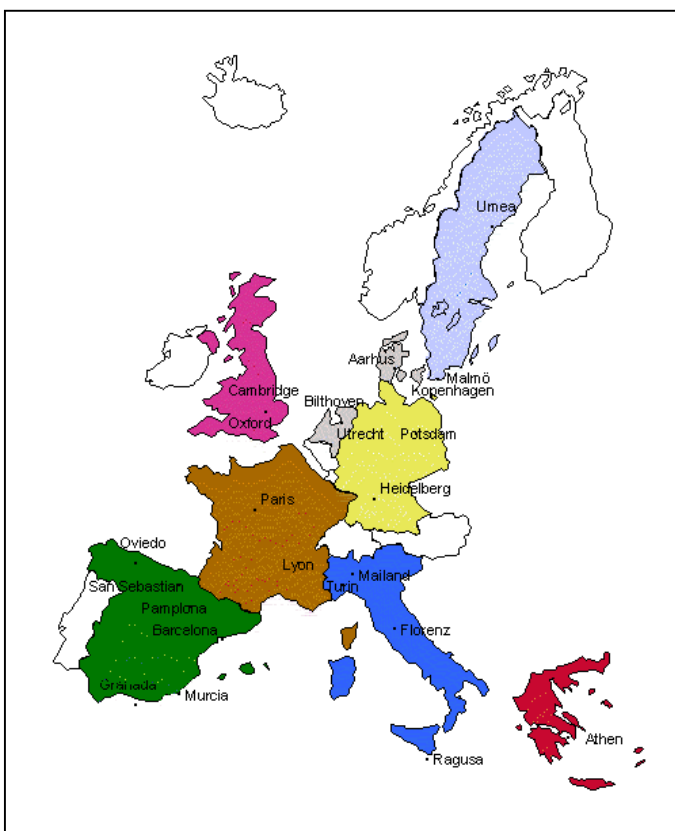
Eine Studie von Serdula et al. (1992) zeigte, dass die Aufnahme fettreicher Lebensmittel in einem Fragebogen, der mehrere Lebensmittel zu einer Frage zusammenfasst, geringer war als in einem Fragebogen, in dem dieselben Lebensmittel einzeln abgefragt wurden. Die Autoren können zwar nicht belegen, ob es sich um Under- oder Overreporting handelt, vermuten aber aufgrund der Ergebnisse anderer Studien ein Underreporting in dem Fragebogen mit den zusammengefassten Items. Dieses Problem betrifft Kurzfragebögen, die durch Zusammenfassen der einzelnen Lebensmittel eines längeren Fragebogens zu einigen wenigen Lebensmittelgruppen entstanden sind. Wird dagegen ein Kurzfragebogen erstellt, indem einzelne Items eines längeren FFQ ausgewählt werden, besteht die Gefahr des Underreportings nicht. Der Grund dafür ist, dass ein Lebensmittel und nicht ein Item, das aus mehreren ähnlichen, zusammengefassten Lebensmitteln besteht, abgefragt wird. Anscheinend ist es für Probanden einfacher, zu einzelnen Lebensmitteln Angaben zu machen als zu Items, die mehrere Lebensmittel zusammenfassen (Willett 1998).

## 5 European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)

### 5.1 Entwicklung und Ziele von EPIC

Die Idee einer europäischen Studie zum Fragenkomplex Ernährung, Lebensstil und Krebs entstand 1989/90 in sieben europäischen Ländern (Frankreich, Niederlande, Italien, Spanien, Deutschland, Griechenland, Großbritannien) (Riboli 1992). In der Zwischenzeit sind noch zwei Länder, Dänemark und Schweden, dazu gekommen, mit Norwegen gibt es eine lockere Kooperation.

Die folgende Karte zeigt die Teilnehmerländer und die Studienzentren in den einzelnen Ländern.



**Abb. 3:** Karte der EPIC-Teilnehmerländer

Die Hauptziele von EPIC können folgendermaßen zusammengefasst werden (Voß et al. 1995, Riboli 1992):

- ◆ Verbreiterung des Wissens um die Zusammenhänge zwischen Ernährung und dem Erkrankungsrisiko für die in Europa besonders häufigen Krebslokalisationen Speiseröhre, Magen, Darm, Brust, Gebärmutter, Blase, Lunge und Prostata.
- ◆ Schaffung einer soliden wissenschaftlichen Grundlage für die Entwicklung effektiver gesundheitspolitischer Maßnahmen und Ernährungsempfehlungen.

Die Studienzentren sind:

**Frankreich:** Ile-de-France, Bretagne/Pais Loire, Alsace-Lorraine, Nordpas-Calais, Rhône-Alpes, Languedoc/Roussillon, Auitaine

**Spanien:** Oviedo, San Sebastian, Pamplona, Murcia, Granada

**Italien:** Turin, Mailand, Florenz, Ragusa, Varese, Neapel

**Griechenland:** Athen

**Deutschland:** Heidelberg, Potsdam

**Großbritannien:** Oxford, Cambridge

**Niederlande:** Utrecht, Bilthoven

**Dänemark:** Aarhus, Kopenhagen

**Schweden:** Stockholm, Umea

**Norwegen:** Nord- und West-Norwegen, Süd- und Ost-Norwegen

- ◆ Untersuchung des Zusammenhanges zwischen bestimmten Nahrungsbestandteilen bzw. Ernährungsgewohnheiten und dem Erkrankungsrisiko für verschiedene chronische Krankheiten wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes und Osteoporose.

Die Leitung des gesamten europäischen Projektes liegt bei dem von der WHO getragenen Internationalen Krebsforschungszentrum IARC in Lyon, Frankreich. Das übergeordnete Instrument, das für die Entscheidungen innerhalb von EPIC zuständig ist, ist das sog. Steering Committee. Es besteht aus den Leitern der einzelnen Studienzentren sowie Vertretern des IARC und hat beratende und koordinierende Funktionen., um eine standardisierte Vorgehensweise zu erreichen. Zum Beispiel machte das Steering Committee Vorgaben zu Inhalten der Rekrutierung und des Follow-up, um aus allen Studienzentren Daten gleichen Inhalts und gleicher Qualität zu erhalten.

## 5.2 Rekrutierungsphase von EPIC

In EPIC werden detaillierte, Informationen über Ernährung und Lebensstil der Teilnehmer gesammelt. Aus diesem Grund wurden während der Rekrutierungsphase ein Instrument zur Erfassung der Nahrungsaufnahme eingesetzt sowie ein oder mehrere Instrumente zur Erfassung des Lebensstils. In Deutschland z. B. waren dies ein FFQ sowie ein Lebensstil-Fragebogen und ein computergesteuertes Interview mit weiteren Fragen zum Lebensstil.

Die Instrumente, die zur Erfassung der Nahrungsaufnahme in den einzelnen EPIC-Zentren eingesetzt wurden, waren sehr unterschiedlich und den jeweiligen Gegebenheiten angepasst (Ernährungs-Häufigkeitsfragebogen in Frankreich, Italien, Niederlande, Griechenland, Deutschland; Interview zur Ernährungsgeschichte in Spanien und Zentren Südtaliens; 7-Tage-Ernährungsprotokoll und ein kurzer FFQ in Großbritannien) (Riboli & Kaaks 1997). Um dennoch gemeinsame Auswertungen machen zu können, wurde ein Instrument benötigt, das die Angaben der Teilnehmer standardisiert. Als solches wurde in der sogenannten Kalibrierungsstudie bei etwa 10% der Teilnehmer pro Zentrum ein computergestütztes, standardisiertes 24-Stunden-Erinnerungsprotokoll durchgeführt. Dieses Kalibrierungsinstrument ist für alle Zentren der Studie einheitlich und erfasst im Gegensatz zum Fragebogen auch die Zubereitungsmethoden einiger Lebensmittelgruppen wie Fleisch und Fisch (Slimani et al. 1999, Voss et al. 1998).

Für die Fragen zum Lebensstil wurden Kernfragen festgelegt (das sog. *Core Protocol*), die in jedem Land erhoben werden sollen (Riboli 1992, IARC 1990). Dazu gehören:

- ◆ Schul- und Berufsausbildung
- ◆ derzeitig ausgeübter Beruf
- ◆ derzeitiges und früheres Rauchverhalten
- ◆ derzeitiger und früherer Alkoholkonsum
- ◆ gegenwärtige körperliche Aktivität
- ◆ gegenwärtige und frühere Erkrankungsgeschichte
- ◆ Reproduktionsgeschichte

- ◆ Fragen zu Menstruation und Menopause (Frauen)
- ◆ Fragen zur Verwendung von Kontrazeptiva bzw. Hormonbehandlung (Frauen)

Ein weiterer wichtiger Punkt in der Konzeption von EPIC war die Schaffung einer biologischen Datenbank. Zu diesem Zweck wurden die Teilnehmer gebeten eine Blutprobe abzugeben. Sie umfasst 14 ml, die in 0,5ml-Aliquoten in flüssigem Stickstoff bei  $-196^{\circ}\text{C}$  gelagert und für biochemische und molekularbiologische Untersuchungen verwendet werden (Riboli 1992).

Die folgende Tabelle zeigt die Erhebungsinstrumente, die unter allen Teilnehmern angewendet wurden im Überblick.

**Tab. 4:** Instrumente der EPIC-Studie, die bei allen Teilnehmern angewendet wurden

<b>Ernährungsfragebogen</b>	Häufigkeit und Menge des Lebensmittelverzehr
<b>Lebensstilfragebogen</b>	Demographie, Berufstätigkeit; bei Frauen: Schwangerschaften, Ovulationshemmer, Hormonstatus
<b>Interview</b>	Eigen- und Familienanamnese, Medikamenteneinnahme, Rauchen, körperliche Aktivität
<b>Anthropometrie</b>	Körpergröße, Sitzhöhe, Körpergewicht, Taillen- und Hüftumfang
<b>Blutentnahme</b>	14 ml Vollblut

Die Rekrutierung von Studienteilnehmern begann in den einzelnen Ländern zwischen 1991 und 1994. Die Ersterhebung ist inzwischen in allen Teilnehmerländern abgeschlossen. Tab. 5 gibt einen Überblick über die Rekrutierungsdauer und die Anzahl von Teilnehmern in den einzelnen Ländern.

**Tab. 5:** Dauer der Rekrutierung und Anzahl der Studienteilnehmer pro Land (nach Riboli 2000, Boeing et al. 1999b)

Land	Rekrutierungsbeginn	Rekrutierungsende	Teilnehmerzahl
<b>Spanien</b>	1992	1996	41.446
<b>Frankreich</b>	1992	1993	69.321
<b>Italien</b>	1993	1998	53.097
<b>Niederlande</b>	1993	1998	40.110
<b>Großbritannien</b>	1993	1998	88.171
<b>Deutschland</b>	1994	1998	53.130
<b>Griechenland</b>	1994	1999	27.883
<b>Schweden</b>	1991	1996	53.830
<b>Dänemark</b>	1994	1997	57.054
<b>Norwegen</b>			*
<b>Gesamt</b>			484.042

\*bis Fertigstellung der Arbeit war die Teilnehmerzahl aus Norwegen noch nicht bekannt (N. Slimani, persönliche Mitteilung)



### 5.3 *Follow-up der Studienteilnehmer*

Die Studie ist als prospektive Kohortenstudie geplant, d. h. die rekrutierten Teilnehmer werden über einen Zeitraum von vielen Jahren hinweg beobachtet, um das Auftreten von Krankheiten und andere Veränderungen festzuhalten. Die wichtigste Zielerkrankheit ist Krebs. Daneben sollen aber auch alle Todesfälle sowie deren Ursachen erfasst werden (IARC 1998).

Um die inzidenten Krebsfälle bei den Teilnehmern festzustellen, ist in den einzelnen Ländern ein unterschiedliches Vorgehen notwendig. Unterschieden werden kann zwischen einer aktiven und einer passiven Nachbeobachtung. Eine aktive Nachbeobachtung ist in jenen Ländern notwendig, in denen kein bevölkerungsbezogenes Krebsregister existiert. Dort müssen die Teilnehmer in regelmäßigen Abständen kontaktiert werden, um Angaben zu Krebserkrankungen zu erhalten. Dies ist in Deutschland, Frankreich und Griechenland der Fall. In anderen Ländern gibt es z. T. schon seit vielen Jahren Krebsregister (Italien, Spanien, Niederlande, Großbritannien), so dass in diesen Teilnehmerländern auf ein regelmäßiges Follow-up verzichtet werden kann. Dort ist es ausreichend, in regelmäßigen Abständen einen Abgleich der Studienkohorte mit den Einträgen im nationalen Krebsregister durchzuführen (Riboli 1992, IARC 1998).

Da in Deutschland kein flächendeckendes bevölkerungsbezogenes Krebsregister existiert, hat man sich für ein aktives Follow-up entschieden (Bergmann et al. 1999). Ein aktives Follow-up hat den Vorteil, dass nicht nur der Vitalstatus, Todesursachen und inzidente Krebserkrankungen erfasst werden können, sondern darüber hinaus auch weitere Angaben von den Teilnehmern erfragt werden können. In Deutschland wurden im ersten Follow-up Informationen zum Auftreten chronischer Erkrankungen, zu Vorsorgeuntersuchungen und zur Einnahme von Medikamenten und Nahrungsergänzungsmitteln erfragt (Bergmann et al. 1999).

In Heidelberg begann nach einer viermonatigen Pilotphase das erste Follow-up im Januar 1998. Zum Ende des ersten Follow-ups betrug die Teilnehmerate in Heidelberg 93,5%. Angaben zum Vitalstatus lagen von 99,9% der Heidelberger Teilnehmer vor.

## II MATERIAL UND METHODEN

### 1 Entwicklung eines Kurzfragebogens zur Erfassung der HAA-Aufnahme

#### 1.1 *Aufbau des Fragebogens*

Ziel der vorliegenden Studie war die Entwicklung eines Fragebogens, mit dem zum einen die alimentäre Aufnahme an HAA und zum anderen auch die Zubereitung der wichtigsten Fleisch- und Fischprodukte erfasst werden soll. Mit Hilfe des Fragebogens soll es möglich sein, die Teilnehmer in Kategorien gemäß ihrer HAA-Aufnahme einzuteilen. Er sollte entwickelt werden, indem ein zunächst sehr umfassender Fragebogen auf die wesentlichen Lebensmittel zur Erfassung der HAA-Aufnahme reduziert wird. Letztendlich sollte dieser Fragebogen nicht mehr als drei bis vier Seiten umfassen.

Der Fragebogen, der für die Pilotstudie entwickelt wurde, beruht zum Teil auf einem Fragebogen, der von C. Bayer im Rahmen einer Diplomarbeit in der Abteilung entwickelt wurde (Bayer et al. 1997).

Der erste Teil des Fragebogens enthält allgemeine Fragen zum Verzehr von Fleisch- und Fischmahlzeiten, wie der Häufigkeiten oder des Verzehrsortes. Daneben werden Fragen zur Zubereitung gestellt, wie z. B. zur Verwendung von Fett, zur Temperatur bei der Zubereitung und zum Panieren und Marinieren von Lebensmitteln. Als ein weiterer Punkt werden Fragen zum Grillen von Fleisch und Fisch gestellt.

Im zweiten Teil des Fragebogens wird die Häufigkeit des Verzehrs verschiedener Fleischarten und Fisch in unterschiedlichen Zubereitungsarten abgefragt.

Im letzten Teil des Fragebogens wird schließlich gefragt, welchen Bräunungsgrad die Lebensmittel üblicherweise haben, die die Teilnehmer verzehren.

Der Fragebogen ist in Kapitel 1 im Anhang abgebildet.

In diesem Fragebogen wurde auf die Quantifizierung der Aufnahme der einzelnen Fleischarten verzichtet. Dafür wurde auf die Daten, die mit einem FFQ während der Rekrutierungsphase von EPIC erhoben wurden, zurückgegriffen (Brandstetter et al. 1999). Die Verzehrsmenge der abgefragten Lebensmittel wurde aus diesen Daten berechnet und dient als Grundlage für die Berechnung der HAA-Aufnahme.

Neben der Aufnahme von Fleisch und Fisch wurde auch die Aufnahme durch Saucen, die aus Braten-/Fleischsaft hergestellt werden, in die Berechnung integriert.

#### 1.2 *Lebensmittelliste*

In den HAA-Fragebogen wurden jene Lebensmittel aufgenommen, die nach den Ergebnissen des FFQ, der während der Rekrutierung angewendet wurde, von den Teilnehmern der EPIC-Studie in Heidelberg am meisten (Mittelwert der Aufnahme) verzehrt wurden. Daneben wurden auch solche Lebensmittel berücksichtigt, die zwar in geringerer Menge

verzehrt wurden, aber aufgrund der großen Menge an HAA, die während der Zubereitung entstehen können, trotzdem einen nicht unbeträchtlichen Teil zur alimentären HAA-Aufnahme beitragen können.

Folgende Lebensmittel wurden ausgewählt:

- ◆ Rindersteak, -filet, -lende
- ◆ Rinderbraten, -rouladen, -gulasch
- ◆ Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak
- ◆ Schweinebraten, -gulasch
- ◆ Kasseler, Schweinerippchen
- ◆ Speck, Schweinebauch
- ◆ Frikadellen, Hackbraten
- ◆ Fleischkäse
- ◆ Bratwurst
- ◆ Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes
- ◆ Fisch

### ***1.3 Zubereitungsarten***

Für den zweiten Teil des Fragebogens wurden die Zubereitungsarten ausgewählt, die für die HAA-Bildung relevant sind. Solche, bei denen keine oder nur geringe Mengen an HAA entstehen, beispielsweise Dünsten, in der Mikrowelle erwärmen oder Frittieren, wurden nicht berücksichtigt (Taylor et al. 1982, Bjeldanes & Morris 1982, Nilsson et al. 1986, Doolittle et al. 1989).

Folgende Zubereitungsarten wurden in den Fragebogen aufgenommen:

- ◆ Kurzbraten
- ◆ Braten/Schmoren
- ◆ Grillen

### ***1.4 Erfassung des Bräunungsgrades***

Im letzten Teil der Fragebogens wird gefragt, welchen Bräunungsgrad die Lebensmittel üblicherweise haben, die die Teilnehmer verzehren. Zu diesem Zweck wird auf fünf Bilderserien mit je vier Bildern eines Lebensmittels in verschiedenen Bräunungsgraden zurückgegriffen. Diese Bilder wurden von der Arbeitsgruppe von Gunnar Steineck und Katarina Augustsson vom Karolinska Institut in Stockholm, Schweden, zur Verfügung gestellt: Auf eigene Fotoaufnahmen für die erfragten Lebensmittel im Heidelberger Fragebogen wurde aus logistischen Gründen verzichtet. Zur Verfügung standen weiterhin Bilder der Arbeitsgruppe von Rashmi Sinha (Nutritional Epidemiology Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, USA). Die schwedischen Bilder passen jedoch besser zu den deutschen Ernährungsgewohnheiten und wurden aus diesem Grund für die vorliegende Studie ausgewählt.

Zu den auf den Bildern abgebildeten Lebensmitteln standen auch die jeweiligen Analysedaten mit den HAA-Gehalten zur Verfügung. Für Lebensmittel, für die keine HAA-Analysen zur Verfügung standen, wurde auf ähnliche Lebensmittel zurückgegriffen (siehe folgendes Kapitel 2.1).

## 2 Berechnung der HAA-Aufnahme aus dem Fragebogen

### 2.1 Datenbasis zur Berechnung der HAA-Aufnahme

Zur Berechnung der HAA-Aufnahme wurden keine eigenen Analysen von Lebensmitteln vorgenommen, sondern auf die in der Literatur veröffentlichten Werte zurückgegriffen. Wichtig war der Aspekt, dass die Lebensmittel in verschiedenen Zubereitungsarten und Bräunungsgraden zubereitet wurden und dafür jeweils Analysen vorlagen. Diese Analysen sollten unter standardisierten Bedingungen gemacht worden sein. Diese Anforderungen wurden nur von drei Studiengruppen erfüllt, so dass nur von diesen die Daten zur Berechnung der HAA-Aufnahme herangezogen wurden (Abdulkarim & Smith 1998, Sinha et al. 1998a, 1998c, 1998a Skog et al. 1997, 1995). Die Arbeitsgruppen von Steineck bzw. Sinha haben FFQs entwickelt, mit denen es möglich ist, die Aufnahme an HAA zu erfassen. Zu diesem Zweck wurden von ihnen zahlreiche Lebensmittelanalysen durchgeführt, um den Gehalt an HAA für verschiedene Lebensmittel, Zubereitungsmethoden und Garrückstände im Kochgeschirr zu bestimmen. Diese Analysen sind auf die Ernährungsgewohnheiten in den beiden Ländern Schweden und USA abgestimmt. Da sich die Ernährungsgewohnheiten und die Zubereitung von Lebensmitteln in Deutschland vom Verhalten in den beiden genannten Ländern unterscheiden, lagen nicht für alle Zubereitungsarten, die in der vorliegenden Studie abgefragt wurden, Analysedaten vor. Für Lebensmittel und Zubereitungsmethoden, die nicht analysiert wurden, dienten die Analysedaten eines vergleichbaren Produktes als Berechnungsgrundlage (z. B. für Fleischkäse die Werte von Falunwurst). Dies war auch in der schwedischen Studie in ähnlicher Weise gehandhabt worden (Augustsson et al. 1997). Für die Berechnung der HAA-Aufnahme aus Bratwurst wurde auf die Ergebnisse einer weiteren US-amerikanischen Studie (Abdulkarim & Smith 1998) zurückgegriffen, die ebenfalls unter standardisierten Bedingungen den HAA-Gehalt verschiedener Fleischprodukte für verschiedene Bräunungsgrade untersucht hatte.

Für jedes der erfragten Lebensmittel werden vier Bräunungsgrade zum Auswählen angeboten. Für einige Lebensmittel liegen jedoch Analysedaten nicht für vier verschiedenen Bräunungsgrade vor, sondern nur für zwei oder drei. In diesen Fällen wurde im Sinne einer konservativen Schätzung der HAA-Aufnahme auf die Gehalte des nächstgeringeren Bräunungsgrades zurückgegriffen. Zum Beispiel lagen für Huhn, gebraten, nur Analysedaten zu Bild 4 (niedrigster Bräunungsgrad) und Bild 2 (zweitstärkster Grad der Bräunung) vor, für Bild 3 wurde deshalb auf die Daten von Bild 4 zurückgegriffen, für Bild 1 (höchster Bräunungsgrad) auf die Daten zu Bild 2.

In keiner der Datenquellen wurde für Lebensmittel, die im hier verwendeten Fragebogen erfasst werden, nennenswerte Mengen von 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinolin (MeIQ) nachgewiesen (siehe Tab. 27 und 28 im Anhang). Aus diesem Grund wird dieses HAA in der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.

## 2.2 Berechnung der HAA-Aufnahme

### 2.2.1 Berechnung der Lebensmittel-Verzehrmenge

Da der eingesetzte HAA-Kurzfragebogen nicht die Verzehrhäufigkeit und die Portionsgröße der abgefragten Lebensmittel erfasst, werden diese Angaben aus dem FFQ der Ersterhebung für die entsprechenden Probanden übernommen. Der während der Rekrutierung in Heidelberg eingesetzte FFQ fragt für 148 Lebensmittel und Lebensmittelgruppen die Verzehrhäufigkeit und die Portionsgröße ab. Für Fleisch und Fisch wird die Verzehrhäufigkeit mit einer neunstufigen Häufigkeitsskala erfasst, die von „einmal pro Monat oder seltener“ bis „fünfmal pro Tag oder häufiger“ reicht. Die Teilnehmer konnten für jedes Lebensmittel außerdem angeben, dass sie es „nie“ verzehren. Die Portionsgröße wird mit Hilfe von Bildern bestimmt (Brandstetter et al. 1999). Aus Portionsgröße und Verzehrhäufigkeit errechnet sich die verzehrte Menge eines Lebensmittels pro Tag.

### 2.2.2 Berechnung der HAA-Aufnahme aus Fleisch

Zur Berechnung der HAA-Menge werden neben der verzehrten Menge eines Lebensmittels die Verzehrhäufigkeit dieses Lebensmittels in einer bestimmten Zubereitungsart sowie der HAA-Gehalt für das Lebensmittel in dieser Zubereitungsart benötigt. Letzterer ergibt sich aus dem Bräunungsgrad des Lebensmittels und der Zubereitungsart.

Die Häufigkeit der Zubereitungsarten für ein Lebensmittel wurde im HAA-KFB abgefragt. Ein Proband konnte angeben, ob er eine Zubereitungsart für ein Lebensmittel nie, in einem Viertel der Fälle, in der Hälfte der Fälle, in drei Viertel der Fälle oder immer anwendet. Diese Häufigkeiten wurden in der Berechnung folgendermaßen gewichtet:

- ◆ nie = 0
- ◆ ¼ der Fälle = 0,25
- ◆ ½ der Fälle = 0,5
- ◆ ¾ der Fälle = 0,75
- ◆ immer = 1

Gaben Personen für ein Lebensmittel mehrere Zubereitungsarten an und war die Summe der Gewichtungsfaktoren größer 1, wurde ein Ausgleichsfaktor berechnet:

$$\text{Ausgleichsfaktor} = 1 / \sum \text{Gewichtungsfaktor für alle Zubereitungsarten eines Lebensmittels}$$

Die Formel zur Berechnung der HAA-Aufnahme durch die Sauce aus einer Zubereitungsart eines Lebensmittels sieht wie folgt aus:

<b>HAA-Menge eines Lebensmittels in einer Zubereitungsart</b>	=	Verzehrmenge eines Lebensmittels	*	Gewichtungsfaktor der Zubereitungsart	*	HAA-Menge für diese Zubereitungsart und den genannten Bräunungsgrad
---------------------------------------------------------------	---	----------------------------------	---	---------------------------------------	---	---------------------------------------------------------------------

Aus der Summe der HAA-Menge aller Zubereitungsarten für ein Lebensmittel errechnet sich dann die HAA-Aufnahme aus diesem Lebensmittel.

### 2.2.3 Berechnung der HAA-Aufnahme aus Sauce

Zur Berechnung der HAA-Menge, die durch den Verzehr von Sauce beigetragen wird, sind folgende Informationen notwendig:

- ◆ verzehrte Saucenmenge einer Person: wird im FFQ erfragt
- ◆ Verwendung von Bratrückstand bei Kurzbraten oder Braten: wird im HAA-KFB erfragt

Im FFQ der Rekrutierung wird lediglich erfragt, wie viel Sauce allgemein zu einer Portion Fleisch verzehrt wird. Es muss deshalb im Folgenden noch berechnet werden, wie viel Sauce anteilmäßig bei einzelnen Zubereitungsarten verzehrt wird.

Die Formel zur Berechnung der HAA-Aufnahme durch die Sauce aus einer Zubereitungsart eines Lebensmittels sieht wie folgt aus:

<b>HAA-Menge der Sauce eines Lebensmittels in einer Zubereitungsart</b>	=	Verzehrsmenge Sauce	*	Gewichtungsfaktor der Zubereitungsart	*	HAA-Menge der Sauce für diese Zubereitungsart und den genannten Bräunungsgrad
-------------------------------------------------------------------------	---	---------------------	---	---------------------------------------	---	-------------------------------------------------------------------------------

Wie auch bei der HAA-Menge aus Fleisch, ergibt sich die HAA-Menge, die durch den Saucenverzehr zu einem Lebensmittel beigetragen wird, aus der Summe der HAA-Menge aller Zubereitungsarten für ein Lebensmittel.

Die Summe aus allen Lebensmitteln sowie allen Fleischarten, zu denen aus Fleischsaft bzw. Bratrückstand hergestellte Sauce verzehrt wird, ergibt die Gesamtaufnahme an HAA.

### 3 Pilotstudie zur Erfassung der alimentären HAA-Aufnahme

#### 3.1 Einsatz des entwickelten ersten HAA-Fragebogens

Die Pilotstudie zum Testen des entwickelten Fragebogens wurde in das laufende erste Follow-up von EPIC in Heidelberg integriert.

Der Fragebogen wurde in der ersten Phase der Validierung an 500 zufällig ausgewählte Teilnehmer im Rahmen des laufenden Follow-up zusammen mit dem regulären Follow-up-Fragebogen verschickt. Wurden die Fragebögen nicht innerhalb von drei Wochen zurückgeschickt, erhielten die Probanden einen Erinnerungsbrief, nach sechs Wochen einen Erinnerungsanruf. Die Response-Rate im Follow-up betrug nach 12 Wochen etwa 93%. Im Vergleich dazu wurden von den 500 zusätzlich verschickten HAA-Fragebögen 77% (n=385) zurückgesandt. Dies ist u. a. darauf zurückzuführen, dass in dem Anschreiben, das dem HAA-Fragebogen beilag, auf die Freiwilligkeit der Teilnahme an dieser Pilotstudie hingewiesen wurde.

Keiner der Fragebögen wurde wegen komplett fehlender Angaben ausgeschlossen. Bei etwa 15% der Fragebögen lagen fehlende Angaben zu einer oder mehreren Fragen, die zur Berechnung der HAA-Aufnahme notwendig waren, vor. Bei fehlenden oder unklaren Angaben wurde folgendermaßen vorgegangen:

- ◆ Bei fehlenden Angaben bezüglich der Zubereitungsart wurde angenommen, dass diese Zubereitungsart nicht verwendet wird, wenn im Rest des Fragebogens Angaben zur Zubereitung gemacht wurden.
- ◆ Bei fehlenden Angaben zur Verwendung des Bratrückstandes wurde davon ausgegangen, dass dieser nicht verwendet wird.
- ◆ Bei fehlenden Angaben zum Bräunungsgrad eines Lebensmittels wurde, wenn Angaben zur Zubereitung vorlagen, der am häufigsten für dieses Lebensmittel genannte Bräunungsgrad verwendet.

#### 3.2 Entwicklung einer gekürzten Fragebogenversion aus dem ersten HAA-Fragebogen

In die Entwicklung des gekürzten HAA-Fragebogens wurden die Daten von 353 Teilnehmern einbezogen, die die längere Version innerhalb von drei Monaten zurückgeschickt hatten.

Mit Hilfe der Daten der zurückgeschickten Fragebögen wurde die HAA-Aufnahme pro Tag, pro Lebensmittel und pro Zubereitungsart berechnet. Die so erhaltenen Ergebnisse dienten der Erstellung einer gekürzten Fragebogenversion. Diese Version wurde in der zweiten Phase der Validierung an jene EPIC-Teilnehmer verschickt, die den ersten HAA-Fragebogen, im weiteren Text als *längerer HAA-Fragebogen* bezeichnet, zurückgeschickt hatten (n=385). Von den 385 Personen, denen die gekürzte Fragebogenversion geschickt worden war, hatten nach 16 Wochen 344 Personen den Fragebogen zurückgeschickt. Die Al-



ters- und Geschlechtsverteilung der Personen in EPIC-Heidelberg sowie in der Gruppe der Pilotstudie ist in der folgenden Tabelle dargestellt.

**Tab. 4:** Teilnehmer von EPIC-Heidelberg sowie der Pilotstudie zur Validierung des gekürzten HAA-Kurzfragebogens nach 10-Jahres-Altersgruppen

Kohorte	Geschlecht	Anteil nach Geschlecht	Anteil nach Altersgruppen		
			35-44	45-54	55-64
EPIC gesamt (n=25.546)	Männer	46,7%	9,2%	18,5%	18,7%
	Frauen	53,3%	19,2%	17,6%	16,4%
Pilotstudie (n=344)	Männer	45,8%	7,5%	21,7%	16,5%
	Frauen	54,2%	20,3%	18,9%	15,1%

Die Verteilung der Personen in der Pilotstudie unterscheidet sich in einigen Altersgruppen von der Verteilung in der Gesamtstudie. Es ist zu beobachten, dass mehr Frauen in der Altersgruppe 35-44 sowie 45-54 Jahre teilgenommen haben, bei den Männern ist die Altersgruppe 45-54 Jahre besonders stark vertreten.

### 3.3 Methoden zur Kürzung des Fragebogens

Zur Ermittlung der Lebensmittel, die in der gekürzten Version des HAA-Fragebogens abgefragt werden sollten, wurden verschiedene Verfahren eingesetzt. Zum einen wurde der Anteil, den einzelne Lebensmittel und Zubereitungsarten zur Gesamtaufnahme an HAA beitragen, berechnet (bevölkerungsbezogene Methode nach Block). Zum anderen wurden zwei varianzbezogene Verfahren eingesetzt, um diejenigen Lebensmittel zu ermitteln, die am meisten zur interpersonellen Varianz der HAA-Aufnahme beitragen. Diese Verfahren sind die schrittweise multiple Regressionsanalyse (Vorwärtsselektion) sowie das Verfahren Max\_r (Mark et al. 1996).

#### 3.3.1 Schrittweise multiple Regressionsanalyse

Im Gegensatz zur einfachen linearen Regression ist bei der multiplen Regression die abhängige Variable, z. B. die Gesamtaufnahme des Nährstoffes  $j$ , nicht nur von einer unabhängigen Variable  $x$ , sondern von mehreren Variablen ( $x_1$  bis  $x_n$ ) abhängig. Die Gleichung hat die allgemeine Formel:

$$y = a + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n$$

$y$  = abhängige Variable, z. B. Nährstoffaufnahme

$x_1$  bis  $x_n$  = unabhängige Variablen

$a$  = Ordinatenabschnitt

$b_1$  bis  $b_n$  = Regressionskoeffizienten (Beta-Gewichte)

Die Regressionskoeffizienten werden so bestimmt, dass die Regressionsgleichung die Zielvariable  $y$  möglichst genau vorhersagen.

Das Kriterium, das die Güte der Anpassung der mathematischen Gleichung an die Wirklichkeit beschreibt, ist das Bestimmtheitsmaß  $R^2$ . Das Bestimmtheitsmaß drückt den Anteil der durch die unabhängigen Variablen  $x_1$  bis  $x_n$  erklärten Varianz an der gesamten Varianz der abhängigen Variable  $y$  aus. Besteht zwischen den Variablen  $x$  und  $y$  ein linearer Zusammenhang, so ist das Bestimmtheitsmaß gleich dem quadrierten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten, also  $R^2=r^2$  (Voß 2000).

Ein Problem der Regressionsanalyse ist, dass oft nicht bekannt ist, wie viele Einflussgrößen in die Gleichung einbezogen werden müssen. Deshalb kann die schrittweise Regression angewandt werden (Bortz 1999).

Bei der Entwicklung eines Fragebogen wird in folgender Weise vorgegangen:

1. Aus vorher erhobenen Daten, z. B. aus einem mehrtägigen Ernährungsprotokoll oder, wie in diesem Fall, aus einem ausführlicheren Fragebogen, wird die Nährstoffnahme (Gesamtzufuhr und Zufuhr durch jedes einzelne Lebensmittel) berechnet.
2. Entwicklung eines Regressionsmodelles mit der Gesamtaufnahme des Nährstoffes als abhängige Variable und der Verzehrsmengen der einzelnen Lebensmittel als unabhängige Variablen.

Der Computeralgorithmus identifiziert dasjenige Lebensmittel, das den größten Teil der interpersonellen Varianz erklärt, als erste unabhängige Variable. Die zweite unabhängige Variable bildet das Lebensmittel, das die verbleibende Restvarianz am besten erklärt. Dieser Vorgang wird solange fortgesetzt, bis weitere Variablen das Regressionsmodell nicht mehr verbessern (Signifikanzniveau für den Eintritt einer Variablen in das Modell ist  $p < 0,5$ , siehe Kapitel 5 im Anhang).

Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  drückt hier den erklärten Anteil der interpersonellen Varianz in der Gesamtaufnahme des Nährstoffes  $j$  aus (Willett 1998, Kristal et al. 1990). Von Willett (1998) wird vorgeschlagen, dass zumindest so viele Lebensmittel in den Fragebogen aufgenommen werden sollten, damit ein Bestimmtheitsmaß von  $R^2=0,8$  erreicht wird. Es ist aber auch möglich, schon von vornherein zu sagen, dass der Fragebogen auf eine bestimmte Anzahl von Fragen bzw. Lebensmittelitems begrenzt werden soll.

### **3.3.2 Max\_r**

Max\_r ist, wie auch die Regressionsanalyse, ein varianzbezogenes Verfahren (Mark et al. 1996). Es nutzt ebenso wie der bevölkerungsbezogene Ansatz und die schrittweise Regression die Informationen längerer Erhebungsinstrumente mit dem Ziel Schlüssellebensmittel zu identifizieren.

Die Nährstoffaufnahme  $Z$  einer Person  $i$  kann aus einem ausführlichen Erhebungsinstrument nach folgender Formel berechnet werden:

$$Z_i = \sum_{j=1}^T C_j * Q_{ij} = \sum_{j=1}^T X_{ij}$$

$i$  = Person

$j$  = Lebensmittel 1,2,...,T

T = alle Lebensmittel, die den gesuchten Nährstoff enthalten

$Q_{ij}$  = Menge des Lebensmittels  $j$ , die die Person  $i$  verzehrt

$C_j$  = Nährstoffkonzentration im Lebensmittel  $j$

$Z_i$  = „wahre“ Nährstoffaufnahme der Person  $i$

$X_{ij}$  = Summe aus Nährstoffkonzentration und Lebensmittelmenge

Da es häufig nicht möglich ist, alle Lebensmittel  $T$  abzufragen, soll eine Teilmenge mit  $k$  Lebensmitteln ( $k \ll T$ ) von  $T$  gefunden werden, die die interpersonelle Variation in der Nährstoffaufnahme noch zeigen kann. Die folgende Formel drückt diesen Zusammenhang aus:

$$W_i = \sum_{j=1}^k X_{ij}$$

$W_i$  ist demzufolge die Nährstoffaufnahme einer Person, die auf den Lebensmitteln der gesuchten Teilmenge  $k$  basiert.

Da viele Kurzfragebögen nach Erstellung mittels der schrittweisen Regression die berechneten Regressionskoeffizienten zur Berechnung der Nährstoffaufnahme nicht weiter berücksichtigen, wird von Mark et al. (1996) eine neue Vorgehensweise vorgeschlagen.

Max\_r sucht die Lebensmittel heraus, die die Korrelation zwischen der wahren Nährstoffaufnahme  $Z_i$  und der geschätzten Aufnahme  $W_i$  maximieren. Die statistische Maßzahl hierfür ist der Pearsonsche Korrelationskoeffizient  $r$ . Max\_r bestimmt also die Teilmenge  $k$ , die bei vorgegebener Größe (z. B. zehn Lebensmittel) den Pearsonschen Korrelationskoeffizienten  $r$  zwischen der Nährstoffaufnahme durch dieser Teilmenge ( $W_i$ ) und der Nährstoffaufnahme durch alle Lebensmittel ( $Z_i$ ) maximiert. Umgekehrt ist es auch möglich, für einen vorgegebenen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten  $r$  (z. B.  $r=0,8$ ) eine möglichst kleine Teilmenge  $k$  an Lebensmitteln zu berechnen.

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst beschlossen, einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von  $r \geq 0,9$  als Cut-off-Point zu wählen. Das hätte aber bedeutet, dass nur eine kleine Anzahl von Lebensmitteln und Zubereitungsarten in den Fragebogen aufgenommen worden wären. Aus diesem Grund wurde der Cut-off-Point auf  $r=1,0$  festgelegt, so dass zu einer größeren Anzahl von Lebensmitteln neben der HAA-Aufnahme auch Aussagen zu der Zubereitung gemacht werden kann. Das bedeutet, dass so viele Lebensmittel und Zubereitungsarten in die Teilmenge  $k$  aufgenommen werden, wie notwendig sind, um einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von  $r=1,0$  zu erreichen. Ein Korrelationskoeffizient

von  $r=0,9$  wird als ausreichend hoch genug angesehen, um in Studien, in denen die Kurzlisten zum Einsatz kommen, die Fehlklassifikation von Probanden gemäß ihrer Nährstoffaufnahme so gering wie möglich zu halten (Willett (1998):  $R^2 = r^2 > 0,8$ ).

Grundlage für Max\_r bildet eine Varianz-Covarianz-Matrix mit der Nährstoffaufnahme pro Lebensmittelitem und pro Teilnehmer. Diese Matrix wird für die HAA-Aufnahme von Max\_r berechnet. In die Berechnungen gehen die Lebensmittel ein, die zur HAA-Aufnahme beitragen. Nicht verzehrte Lebensmittel gehen mit 0g/Tag ein. Das Verfahren Max\_r wird mit dem Programm Max\_r 3.1 durchgeführt.

Um die Lebensmittel und Zubereitungsarten zu ermitteln, die am wichtigsten zur Berechnung der HAA-Aufnahme sind, wird nach folgendem Prinzip verfahren:

Zunächst wird von dem Programm Max\_r eine Liste aller Lebensmittel  $T$  erstellt, die zur HAA-Aufnahme beitragen. Aus dieser ersten Liste ( $T$ ) soll durch das Programm eine Teilmenge von Lebensmitteln ( $k$ ) ausgesucht werden, die zusammen einen maximalen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten  $r$  erreicht. Bei der Verwendung einer unbegrenzten Zahl von  $k$  Lebensmitteln kommt es zu einer sehr hohen Zahl an Kombinationsmöglichkeiten, für die alle der Korrelationskoeffizient bestimmt werden müsste. Da dieses Verfahren sehr rechen- und zeitintensiv ist, schlagen Donald und Mark (1997) eine zeitlich verkürzte Suchstrategie vor. Hierbei wird schrittweise vorgegangen und die Zahl der Lebensmittel in der Teilmenge  $k$  auf fünf begrenzt. Das Programm testet alle Kombinationsmöglichkeiten der Lebensmittel dieser Liste und ermittelt die Lebensmittelkombination, die den höchsten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten erreicht.

In einem zweiten Schritt wird die vorher erstellte Teilmenge  $k$ , bestehend aus jenen fünf Lebensmitteln, die von allen Kombinationsmöglichkeiten den höchsten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten erreicht, erweitert. Es wird die Anweisung gegeben, die fünf Lebensmittel zu behalten und aus den verbleibenden Lebensmitteln ( $T$  minus 5) die nächsten fünf besten Lebensmittel herauszusuchen. Anschließend wird der Korrelationskoeffizient zwischen allen  $T$  Lebensmitteln und der nun zehn Lebensmittel umfassenden Teilmenge  $k$  berechnet. Dieses Verfahren wird solange fortgesetzt bis der gewünschte Pearsonschen Korrelationskoeffizient von  $r \sim 1,0$  erreicht ist.

### 3.3.3 *Bevölkerungsbezogener Ansatz*

Um den bevölkerungsbezogenen Beitrag aus den einzelnen verzehrten Lebensmitteln, die einen bestimmten Stoff, z. B. HAA enthalten, zu berechnen, wird folgendermaßen vorgegangen:

1. Die Gesamtmenge des aufgenommenen Nährstoffes wird als Summe aller verzehrten Lebensmittel berechnet.
2. Die Menge des aufgenommenen Nährstoffes durch jedes einzelne Lebensmittel wird aufsummiert.
3. Der bevölkerungsbezogene Beitrag, den jedes Lebensmittel zur Gesamtaufnahme leistet, wird durch folgenden Quotienten errechnet:

bevölkerungsbezogener	=	Nährstoffzufuhr durch Lebensmittel $j$ * 100
Beitrag		Gesamtnährstoffaufnahme aus allen Lebensmitteln

4. Die Lebensmittel werden jetzt entsprechend ihres bevölkerungsbezogenen Beitrags geordnet.

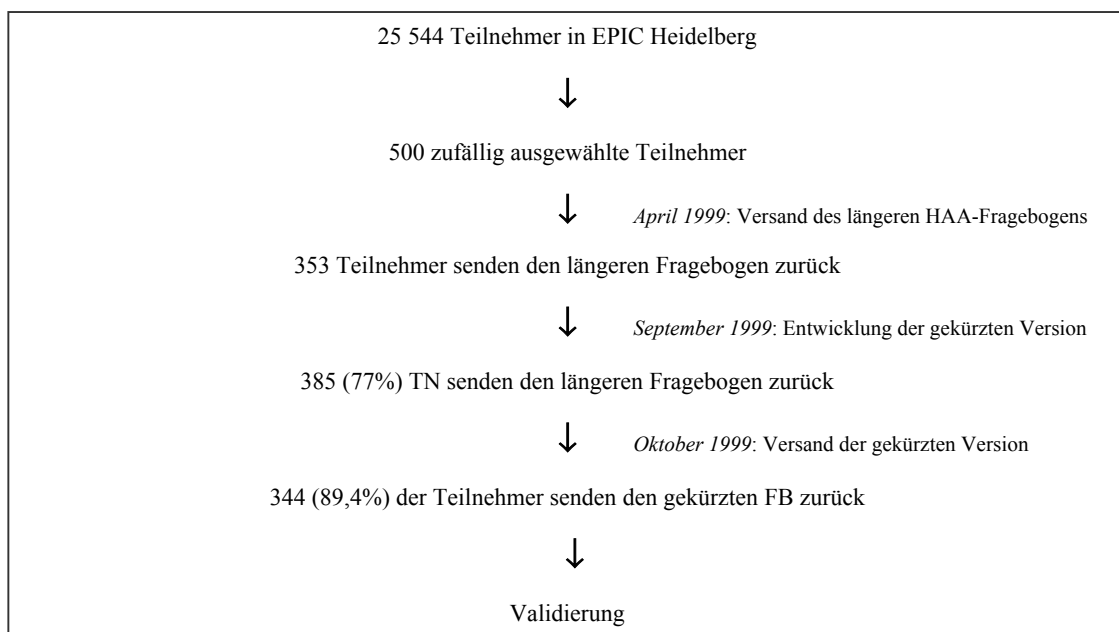
### 3.3.4 Auswirkung der Kürzung des längeren HAA-Fragebogens

Aus den Daten des langen HAA-Fragebogens wird die HAA-Aufnahme für alle darin erfragten Lebensmittel berechnet. Dies erfolgt auch bezüglich der Aufnahme, wenn nur die Lebensmittel und Zubereitungsarten für die gekürzte Version zugrunde gelegt werden (siehe **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).

Für beide, längere und gekürzte Version, werden der Median der HAA-Gesamtaufnahme sowie der Aufnahme der einzelnen HAA berechnet. Diese Ergebnisse werden mit Hilfe des Spearman Rangkorrelationskoeffizienten, eines Quintilsvergleiches und des gewichteten Kappa-Koeffizienten miteinander verglichen. Die drei genannten Methoden werden in Kapitel 3.5.1 ausführlich erläutert.

### 3.4 Validierung des gekürzten Fragebogens

Ziel der Validierung ist die Überprüfung, inwieweit der gekürzte HAA-Fragebogen in der Lage ist, die HAA-Aufnahme im Vergleich zu der zuerst eingesetzten längeren Version zu erfassen. Aus diesem Grund wurde der gekürzte Fragebogen an jene 385 EPIC-Teilnehmer geschickt, die die längere Version innerhalb von fünf Monaten ausgefüllt zurückgeschickt hatten. (Abb. 4).



**Abb. 4:** Pilotstudie zur Validierung des HAA-Fragebogens

Zur Überprüfung, inwieweit die Ergebnisse der gekürzten Fragebogenversion mit jenen der ersten, längeren Version übereinstimmen, werden die im Folgenden aufgeführten Verfahren angewendet.

### **3.4.1 Alimentäre HAA-Aufnahme**

Zum Vergleich der Ergebnisse der alimentären HAA-Aufnahme, die aus dem kurzen bzw. dem längeren Fragebogen berechnet wurde, werden verschiedene Methoden zur Beurteilung des Unterschiedes bzw. der Validität des kurzen HAA-Fragebogens angewendet, die im Folgenden kurz vorgestellt werden.

#### a) Tabellarische und graphische Darstellung der HAA-Aufnahme

Die aus den beiden Fragebogenversionen errechnete HAA-Aufnahme wird tabellarisch und graphisch dargestellt. Zum einen wird für die Gesamt-HAA-Aufnahme, berechnet aus dem kurzen und aus dem langen Fragebogen, jeweils die Verteilung in Form eines Histogrammes dargestellt. Des Weiteren werden der Median der Aufnahme sowie die 75%- und 95%-Perzentilen und das Maximum der Gesamt-HAA-Aufnahme berechnet. Weiter aufgegliedert wird die Aufnahme der einzelnen HAA berechnet sowie die HAA-Aufnahme aus verschiedenen Lebensmitteln. Zur Beurteilung, ob die berechneten Mengen an HAA zwischen den beiden Fragebogenversionen unterschiedlich sind, wird der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben verwendet.

#### b) Berechnung der Korrelationskoeffizienten

Korrelationskoeffizienten machen eine Angabe über die Stärke eines Zusammenhanges zwischen zwei Messgrößen. Bei normalverteilten Variablen wird der Pearsonsche Korrelationskoeffizient verwendet, während der Spearman Rangkorrelationskoeffizient ein verteilungsfreies Zusammenhangsmaß ist.

Im Kolmogoroff-Smirnoff-Test auf Normalverteilung wurde nachgewiesen, dass die Daten zur HAA-Aufnahme in dieser Pilotstudie nicht normalverteilt sind (Daten nicht gezeigt). Aus diesem Grund wurde der Spearman Korrelationskoeffizient zwischen der HAA-Aufnahme aus dem längeren und dem kürzeren Fragebogen berechnet.

#### c) Quintilsvergleich

Mit diesem Verfahren wird die Übereinstimmung in der kategoriellen Einteilung basierend auf den Ergebnissen des langen bzw. jenen des kurzen HAA-Fragebogen getestet. Die Probanden werden gemäß ihrer HAA-Aufnahme aus der längeren Fragebogenversion und gemäß der Aufnahme aus der gekürzten Version in Quintile aufgeteilt. Diese Einteilungen werden dann in einer Kreuztabelle gegenübergestellt. Das Ergebnis sieht schematisch folgendermaßen aus:

Quintile gekürzter HAA-Fragebogen	Quintile längerer HAA-Fragebogen					Summe
	I	II	III	IV	V	
I						20%
II						20%
III						20%
IV						20%
V						20%
Summe	20%	20%	20%	20%	20%	100%

	Einordnung in dasselbe Quintil
	Einordnung in ein angrenzendes Quintil
	Einordnung in das entgegengesetzte Quintil

**Abb. 5:** Prinzip des Quintilsvergleiches zwischen dem gesamten Erhebungsinstrument und einer Kurzliste

In der Diagonalen befinden sich die richtig klassifizierte Personen. Je höher der Anteil der Personen ist, die von beiden Instrumenten in dieselbe Kategorie eingeteilt werden, desto besser ist das zu validierende Instrument. Fehlklassifikationen können danach unterschieden werden, wie weit sie von der Diagonale entfernt sind (Bortz 1999). Der Anteil der groben Fehlklassifikation, d. h. die Einteilung in entgegengesetzte Kategorien, sollte möglichst gering sein.

In der Auswertung wird dann angegeben, wie viele Personen gleich klassifiziert wurden, wie viele in eine angrenzende Quintile eingeordnet wurden und wie viele Teilnehmer in gegenüberliegende Quintile eingeteilt, d. h. völlig fehlklassifiziert, wurden.

Als Maß der Übereinstimmung der Kategorisierung wird der gewichtete Kappa-Koeffizient berechnet.

Der *Kappa-Koeffizient* ist ein Maß, mit dem die Übereinstimmung von zwei Klassifikationen derselben Objekte erfasst und überprüft werden kann. Bei dem gewichteten Kappa-Koeffizienten wird dem Umstand Rechnung getragen, dass die Abweichung zwischen den Antworten in den beiden Fragebögen unterschiedlich stark sein kann. Beispielsweise ist der Unterschied geringer wenn eine Person nach den Ergebnissen des langen Fragebogen in Quintil 2 und nach jenen im kurzen in Quintil 3 eingeteilt wird, als wenn eine Person im kurzen Fragebogen in Quintil 2 und im längeren in Quintil 5 eingeordnet wird. Um dies zu berücksichtigen, werden größere Abweichungen zwischen den Einordnungen durch die beiden Fragebogenversionen anders in der Berechnung des Kappa-Koeffizienten gewichtet als kleinere Abweichungen (Bortz 1999).

Zur Berechnung des Kappa-Koeffizienten müssen bei den zu vergleichenden Variablen dieselben Kategorien vorliegen. Dies ist bei dem Vergleich des Bräunungsgrades zwischen dem längeren und dem gekürzten HAA-Fragebogen nicht gegeben, da die Anzahl der Angaben in der Kategorie "sehr stark gebräunt" sehr gering ist (0-2% der Teilnehmer). Aus diesem Grund werden in dieser Auswertung die Angaben "sehr stark gebräunt" und "stark gebräunt" zusammengefasst, so dass die Zahl der Kategorien des Bräunungsgrades nur noch drei beträgt. Somit ist eine Berechnung des Kappa-Koeffizienten wieder möglich.

#### d) Mittelwertvergleich und Differenzen zwischen den Fragebögen

Nach Bland und Altman (1986) wird die Differenz zwischen der HAA-Aufnahme aus der längeren Fragebogenversion und aus dem gekürzten Fragebogen betrachtet. Hierfür wird in einem Scatterplot die Differenz zwischen der HAA-Aufnahme aus der längeren Fragebogenversion und dem gekürzten Fragebogen gegen den Mittelwert aus beiden Fragebögen aufgetragen. Ebenso wird in diesen Scatterplot der Mittelwert der Differenz sowie die doppelte Standardabweichung des Mittelwertes der Differenz eingetragen. Als Richtwert für eine gute Übereinstimmung zwischen den zu vergleichenden Instrumenten sollte die Differenz zwischen der HAA-Aufnahme für mindestens 95% der Probanden im Bereich zwischen  $\pm 2$  Standardabweichungen vom Mittelwert der Differenz liegen. Dieser Bereich wird von Bland und Altman (1986) als „95% limit of agreement“ bezeichnet. Im Folgenden wird als deutsche Übersetzung "95%-Bereich der Übereinstimmung" verwendet

Die Berechnung der Grenzen des „95%-Bereiches der Übereinstimmung " erfolgt nach folgender Formel:

<b>95%-Bereich der Übereinstimmung</b> = Mittelwert der Differenz $\pm$ 2 Standardabweichungen
------------------------------------------------------------------------------------------------

Da in der vorliegenden Arbeit die Daten nicht normalverteilt waren, wurde ein Log-Transformation vorgenommen (Bland & Altman 1986).

#### **3.4.2 Angaben zu Bratrückstand, Zubereitungsmethoden und Bräunungsgrad**

Neben der HAA-Aufnahme werden folgende Angaben zwischen der langen und der kurzen Fragebogenversion verglichen:

- ◆ Verwendung des Bratrückstandes beim Kurzbraten bzw. Braten/Schmoren
- ◆ Häufigkeit der Verwendung einzelner Zubereitungsarten
- ◆ bevorzugter Bräunungsgrad eines Lebensmittels

Die Fragestellung, inwieweit sich die Antworten im kürzen Fragebogen von denen des längeren unterscheiden, interessiert, da sich das Antwortverhalten der Teilnehmer möglicherweise ändert, wenn weniger Lebensmittel bzw. weniger Zubereitungsmöglichkeiten zur Zubereitung eines Lebensmittels angeboten werden.

Als Maß der Übereinstimmung wird zum einen der Anteil Teilnehmer berechnet, der in beiden Fragebogenversionen gleich geantwortet hat, sowie der gewichtete Kappa-Koeffizient.



### **3.5 Ergebnisse des kurzen HAA-Fragebogens**

Für die alimentäre HAA-Aufnahme werden die Ergebnisse für Männer und Frauen bzw. für 10-Jahres-Altersgruppen berechnet. Dies wird sowohl für die HAA-Gesamt-Aufnahme als auch für die einzelnen HAA und Lebensmittel gemacht. Unterschiede zwischen Männern und Frauen werden mittels Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, Unterschiede zwischen den Altersgruppen mit dem Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben auf Signifikanz getestet. Von diesen Analysen werden jeweils die Personen ausgeschlossen, die keine Angaben zu der entsprechenden Frage gemacht hatten.

In einem weiteren Schritt wird untersucht, inwieweit ein Lebensmittel selbst zur HAA-Aufnahme beiträgt und welchen Anteil die Verwendung des Bratrückstandes, der z. B. zur Herstellung von Saucen oder zum Schwenken von Kartoffeln verwendet wird, hat. Diese Untersuchung wird für die verschiedenen HAA sowie die einzelnen erfragten Lebensmittel gemacht.

Um der Frage nachzugehen, inwieweit die HAA-Aufnahme mit dem Fleischverzehr zusammenhängt, wird von den Teilnehmern die HAA-Aufnahme berechnet und mit dem Fleisch- und Fischverzehr verglichen. Die Daten zum Fleisch- und Fischverzehr wurden aus dem FFQ berechnet, der während der Rekrutierungsphase von den Teilnehmern erhoben wurde (Brandstetter et al. 1999).

Als Maß des Zusammenhangs wird der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman berechnet.

Neben der HAA-Aufnahme werden auch die Angaben zur Verwendung von Zubereitungsarten für einzelne Lebensmittel sowie zum Bräunungsgrad für Frauen und Männer und verschiedene Altersgruppen betrachtet. Zur Beurteilung der Unterschiede auf Signifikanz wurden die schon vorher erwähnten Testverfahren verwendet.

Die Berechnungen der HAA-Aufnahme wurden mit dem Statistikpaket SAS, Version 6.12 sowie Version 8.1 durchgeführt. Für einige statistische Tests wurde SPSS, Version 10, verwendet.

### III ERGEBNISSE

#### 1 Ermittlung der Lebensmittel für einen gekürzten HAA-Fragebogen

##### 1.1 *Max\_r*

In der folgenden Tabelle 7 werden die zwölf Kombinationen aus Lebensmitteln und Zubereitungsarten dargestellt, die von *Max\_r* aus den 26 abgefragten als die wichtigsten zur Erfassung der interpersonellen Varianz berechnet wurden. Angegeben wird jeweils das Lebensmittel mit dem kumulierten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten  $r$ . Das Ergebnis von *Max\_r* ist ungekürzt im Kapitel 4 des Anhangs zu sehen.

**Tab. 7:** Lebensmittel, die am meisten zur interpersonellen Varianz in der HAA-Aufnahme beitragen, berechnet mit *Max\_r* auf der Basis von 353 HAA-Kurzfragebögen

Nummer	Lebensmittel und Zubereitungsart	kumulierter Pearson $r$
1	Rinderbraten, -rouladen, -gulasch, <i>gebraten</i>	0.761
2	Schweinebraten, -gulasch, <i>gebraten</i>	0.896
3	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>gegrillt</i>	0.980
4	Fisch, <i>gebraten</i>	0.985
5	Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, <i>kurzgebraten</i>	0.990
6	Rindersteak, -filet, -lende, <i>kurzgebraten</i>	0.993
7	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>gebraten</i>	0.995
8	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>kurzgebraten</i>	0.997
9	Rindersteak, -filet, -lende, <i>gebraten</i>	0.998
10	Fisch, <i>gegrillt</i>	0.999
11	Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, <i>gebraten</i>	0.999
12	Kasseler, Schweinerippchen, <i>kurzgebraten</i>	1.000

Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient zwischen der Lebensmittelgruppe „Rinderbraten, -rouladen, -gulasch gebraten“ und der Gesamtaufnahme aus allen 26 Lebensmittelgruppen beträgt  $r=0,76$ . Allein die drei ersten Items erreichen einen kumulierten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von  $r>0,95$ . Mit zwölf Items wird ein Pearsonscher Korrelationskoeffizient von  $r\sim 1,0$  erreicht.

##### 1.2 *Schrittweise multiple Regression*

Die Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse der schrittweisen multiplen Regression, mit Hilfe derer die Variablen bestimmt wurden, die wichtig zur Erfassung der HAA-Aufnahme sind. Auch hierbei handelt es sich, wie bei *Max\_r*, um ein varianzbezogenes Verfahren. Angegeben werden nur die Lebensmittelitems bis zum Erreichen eines „Model  $R^2$ “, d.h. des Bestimmtheitsmaßes von  $R^2 = 1,0$ . Das Gesamtergebnis ist im Anhang 5 dargestellt.

**Tab. 8:** Ergebnisse der schrittweisen multiplen Regression auf Basis von 353 HAA-Kurzfragebögen

Nummer	Lebensmittel und Zubereitungsart	kumuliertes R <sup>2</sup>
1	Rinderbraten, -rouladen, -gulasch, <i>gebraten</i>	0,5790
2	Schweinebraten, -gulasch, <i>gebraten</i>	0,8034
3	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>gegrillt</i>	0,9609
4	Fisch, <i>gebraten</i>	0,9711
5	Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, <i>kurzgebraten</i>	0,9813
6	Rindersteak, -filet, -lende, <i>kurzgebraten</i>	0,9874
7	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>gebraten</i>	0,9917
8	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>kurzgebraten</i>	0,9956
9	Fisch, <i>gegrillt</i>	0,9972
10	Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, <i>gebraten</i>	0,9983
11	Rindersteak, -filet, -lende, <i>gebraten</i>	0,9991
12	Kasseler, Schweinerippchen, <i>kurzgebraten</i>	0,9995
13	Frikadellen, Hackbraten, <i>kurzgebraten</i>	0,9997
14	Fleischkäse, <i>kurzgebraten</i>	0,9998
15	Kasseler, Schweinerippchen, <i>gebraten</i>	0,9998
16	Bratwurst, <i>kurzgebraten</i>	0,9999
17	Speck, Schweinebauch, <i>kurzgebraten</i>	0,9999
18	Fisch, <i>kurzgebraten</i>	0,9999
19	Rindersteak, -filet, -lende, <i>gegrillt</i>	1,0000

Die Ergebnisse der schrittweisen linearen Regression sind in weiten Teilen vergleichbar jenen von Max\_r. Auch hier macht das Item „Rinderbraten, -rouladen und -gulasch, gebraten“ den größten Teil der interpersonellen Varianz aus. Mit drei Items wird ein  $R^2 > 0,95$  erreicht, mit 19 Lebensmitteln ein  $R^2 = 1,0$ .

### 1.3 Vergleichende Darstellung der angewandten Methoden

Die nachfolgende Tabelle stellt die Ergebnisse der schrittweisen Regression und von Max\_r im Vergleich zum Beitrag jedes Lebensmittelitems zur Gesamt-HAA-Aufnahme dar. Angegeben wird der prozentuale Betrag der einzelnen Lebensmittel und Zubereitungsarten zur mittleren HAA-Aufnahme. Die Lebensmittel sind nach ihrem prozentualen Beitrag zur HAA-Aufnahme sortiert und in absteigender Reihenfolge nummeriert. Als Vergleich dazu werden die Reihenfolgen angegeben, in der die Lebensmittel von den beiden varianzbezogenen Verfahren als geeignet zur Erfassung der interindividuellen Varianz der HAA-Aufnahme ausgewählt wurden.

**Tab. 9:** Ergebnisse der multiplen schrittweisen Regression und Max\_r im Vergleich mit der bevölkerungsbezogenen Methode (n=353)

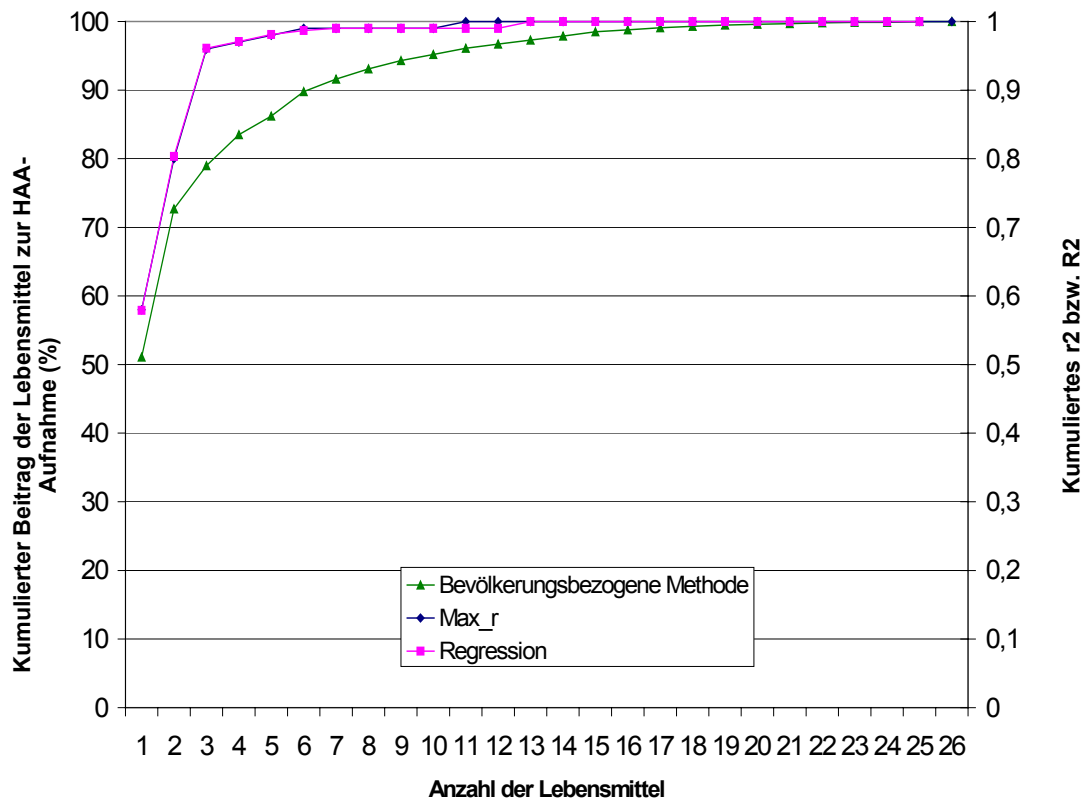
Nr. <sup>1</sup>	Lebensmittel und Zubereitungsart	Beitrag zur HAA- kumulierter		Regr. <sup>2</sup>	Max_r <sup>2</sup>
		Gesamtaufnahme (%)	Beitrag (%)		
1	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>gegrillt</i>	51,1	51,1	3	3
2	Fisch, <i>gebraten</i>	21,6	72,7	4	4
3	Rinderbraten, -rouladen, -gulasch, <i>gebraten</i>	6,3	79,0	1	1
4	Fisch, <i>gegrillt</i>	4,5	83,5	9	10
5	Schweinebraten, -gulasch, <i>gebraten</i>	2,7	86,2	2	2
6	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>kurzgebraten</i>	3,6	89,8	8	8
6	Rindersteak, -filet, -lende, <i>kurzgebraten</i>	1,8	91,6	6	6
8	Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, <i>kurzgebraten</i>	1,5	93,1	5	5
9	Rindersteak, -filet, -lende, <i>gebraten</i>	1,2	94,3	11	9
10	Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, <i>gebraten</i>	0,9	95,2	7	7
11	Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, <i>gebraten</i>	0,9	96,1	10	11
12	Kasseler, Schweinerippchen, <i>gebraten</i>	0,6	96,7		
13	Bratwurst, <i>kurzgebraten</i>	0,6	97,3		
14	Rindersteak, -filet, -lende, <i>gegrillt</i>	0,6	97,9		
15	Frikadellen, Hackbraten, <i>kurzgebraten</i>	0,6	98,5		
16	Kasseler, Schweinerippchen, <i>kurzgebraten</i>	<0,5	98,8	12	12
17	Fleischkäse, <i>kurzgebraten</i>	<0,5	99,1		
18	Frikadellen, Hackbraten, <i>gebraten</i>	<0,5	99,3		
19	Fisch, <i>kurzgebraten</i>	<0,5	99,5		
20	Speck, Schweinebauch, <i>kurzgeraten</i>	<0,5	99,6		
21	Speck, Schweinebauch, <i>gegrillt</i>	<0,5	99,7		
22	Bratwurst, <i>gegrillt</i>	<0,5	99,8		
23	Fleischkäse, <i>gebraten</i>	<0,5	99,9		
24	Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, <i>gegrillt</i>	<0,5	99,9		
25	Kasseler, Schweinerippchen, <i>gegrillt</i>	<0,5	100,0		
26	Fleischkäse, <i>gegrillt</i>	0	100,0		

<sup>1</sup>Nr. = Nummer: Nummerierung entsprechend des Beitrages der einzelnen Kombinationen aus Lebensmitteln und Zubereitungsformen zur HAA-Aufnahme;

<sup>2</sup>Rangfolge, in die Lebensmittel entsprechend der schrittweisen Regression (Regr.) bzw. Max\_r ermittelt wurden; aufgeführt sind die jeweils 12 wichtigsten Kombinationen aus Lebensmitteln und Zubereitungsformen; die grau markierten Felder stellen die Lebensmittel und Zubereitungsarten dar, die letztendlich für den Fragebogen ausgewählt wurden

Aus der Tabelle wird deutlich, dass die Lebensmittel, die am meisten zur HAA-Aufnahme beitragen, auch jene sind, die von Max\_r und der schrittweisen Regressionsanalyse als die wichtigsten zur Erklärung der interpersonellen Varianz der HAA-Aufnahme ausgewählt wurden. Die Reihenfolge der Lebensmittel, d. h. die Wichtigkeit einzelner Lebensmittel bei den drei Verfahren, ist jedoch unterschiedlich. Während die elf ersten Lebensmittel zumindest in der Auswahl, wenn auch nicht in der Reihenfolge identisch sind, ist das Item „Kasseler und Schweinerippen kurzgebraten“ in der Wichtigkeit für die quantitative HAA-Aufnahme an Platz 16, während es von Max\_r und der schrittweisen Regression an die zwölfte Stelle gesetzt wird.

In der nachfolgenden Abbildung wird der kumulierte Beitrag der einzelnen Lebensmittel zur HAA-Gesamtaufnahme dem kumulierten Bestimmtheitsmaß ( $R^2$ ) sowie dem quadrierten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten ( $r^2$ ), der mit Max\_r berechnet wurde, gegenübergestellt.



$r^2$  = quadrierteter Pearsonscher Korrelationskoeffizient, der von Max\_r berechnet wurde;  $R^2$  = Bestimmtheitsmaß, berechnet durch die schrittweise multiple Regression

**Abb. 6:** Vergleich der Ergebnisse von Max\_r, der schrittweisen multiplen Regression und der bevölkerungsbezogenen Methode

Aus Abb. 6 werden die Unterschiede zwischen der bevölkerungsbezogenen Methode und den beiden varianzbezogenen Methoden sehr deutlich. Während drei Lebensmittel 79% zur HAA-Gesamtaufnahme beitragen, tragen die ersten drei Lebensmittel in Max\_r bzw. der Regression bereits 96% zur Erklärung der interpersonellen Varianz bei.

#### 1.4 Auswirkung der Kürzung des längeren HAA-Fragebogens

Im Folgenden wird aus den Daten des langen HAA-Fragebogens die HAA-Aufnahme für alle darin erfragten Lebensmittel berechnet sowie für die Aufnahme wenn nur die Lebensmittel und Zubereitungsarten für die gekürzte Version zugrunde gelegt werden (vergleiche Tab. 7). Angegeben werden der Median der HAA-Aufnahme berechnet aus der kurzen und der langen Liste an Lebensmitteln sowie der Spearman Rangkorrelationskoeffizient. Daneben ist der Anteil der Teilnehmer der im Quintilsvergleich in gleiche Aufnahmequintile eingeteilt wird sowie der gewichtete Kappa-Koeffizient gezeigt.

**Tab. 10:** Veränderungen der HAA-Aufnahme durch Kürzen der Liste von Lebensmitteln und Zubereitungsarten

	HAA-Aufnahme aus allen Lebensmitteln (in ng/Tag)	HAA-Aufnahme aus den Lebensmitteln der gekürzten Liste (in ng/Tag)	Spearman r	gleiches Quintil*	entgegen- gesetztes Quintil*	Kappa- Koeffizient
<b>HAA</b>	89	79	0,99	91,0	0	0,94
<b>PhIP</b>	53	42	0,99	89,0	0	0,93
<b>MeIQx</b>	25	23	0,99	88,4	0	0,92
<b>DiMeIQx</b>	2	1	0,97	88,8	0	0,91
<b>IQ</b>	0	0	0,95	n. b.	n. b.	n. b.

Spearman r = Spearman Rangkorrelationskoeffizient zwischen der HAA-Aufnahme berechnet aus allen Lebensmitteln und den Lebensmitteln der gekürzten Liste; n. b. = nicht berechnet;

\* Quintilsvergleich zwischen der HAA-Aufnahme berechnet aus allen Lebensmitteln und der HAA-Aufnahme berechnet aus der gekürzten Liste

Werden der HAA-Aufnahme nicht mehr alle Lebensmittel und Zubereitungsarten zugrunde gelegt, sinkt der Median der Aufnahme. Die Korrelationen betragen aber mindestens  $r=0,95$ . Mindestens 88% der Teilnehmer werden von der längeren und der gekürzten Liste in dasselbe Quintil eingeordnet. Keiner der Teilnehmer wird grob fehlklassifiziert.

## 2 Validierung der gekürzten Fragebogenversion

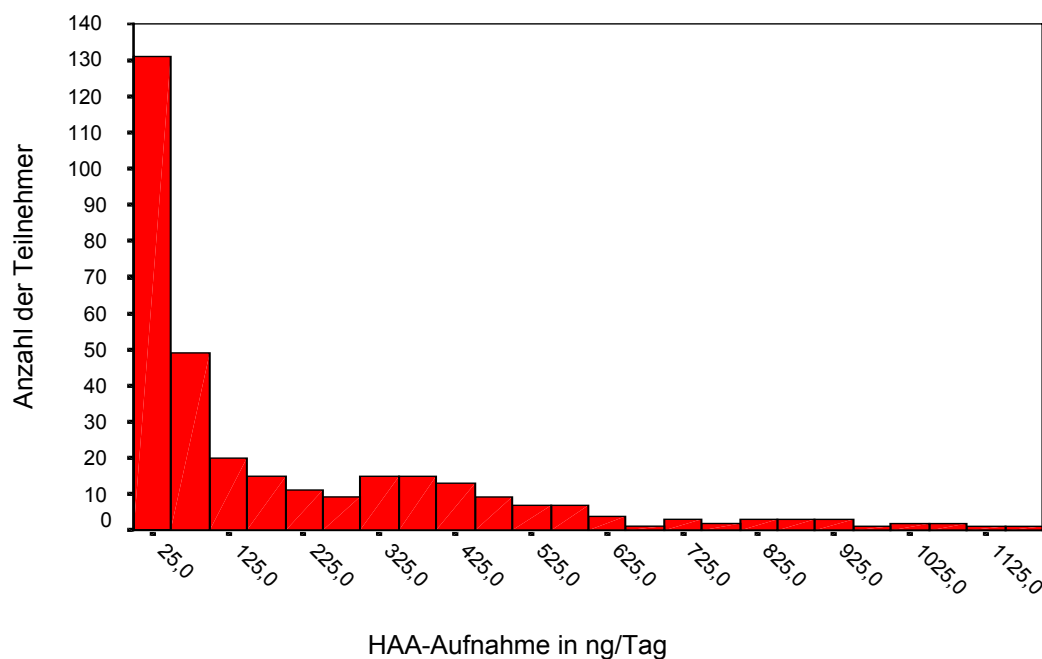
Die Ergebnisse der Methode Max\_r wurden verwendet, um eine gekürzte Version des Fragebogens zu erstellen. Einbezogen wurden alle Kombinationen aus Lebensmitteln und Zubereitungsmethoden, die dazu beitrugen, einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von  $r=1,0$  (gerundet) zu erreichen. Hierbei handelt es sich um die schon in Tab. 7 aufgelisteten Lebensmittel und Zubereitungsmethoden.

Von den 385 verschickten Fragebögen der gekürzten Version wurden 344 innerhalb von vier Monaten zurückgeschickt. Auf den Ergebnissen dieser 344 Fragebogen beruhen die in den folgenden Kapiteln vorgestellten Ergebnisse.

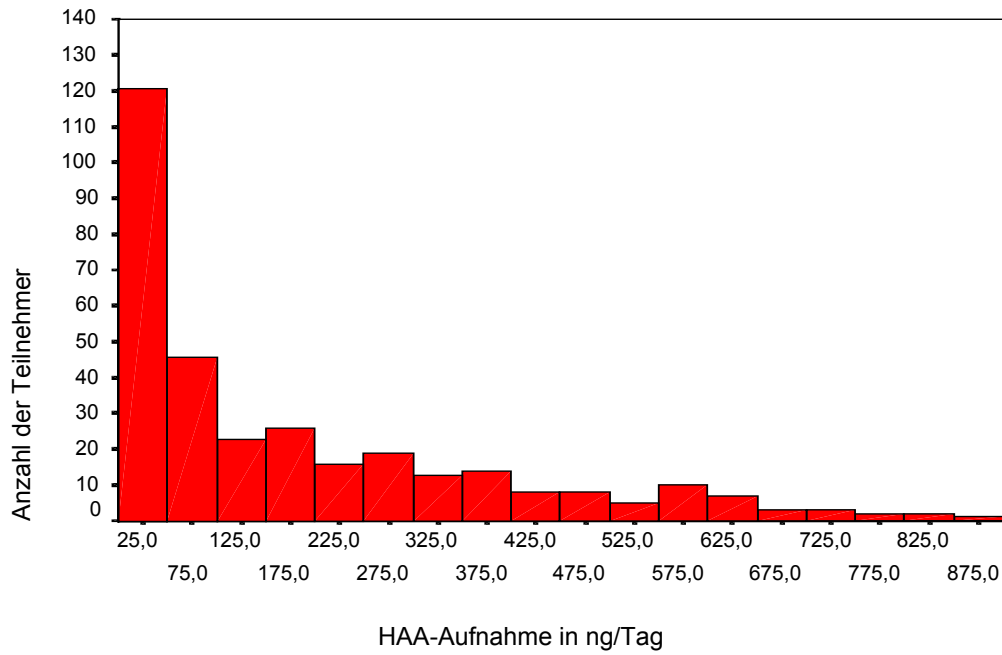
### 2.1 Alimentäre HAA-Aufnahme

Für die 344 Personen, die sowohl einen langen als auch einen kurzen HAA-Fragebogen ausgefüllt hatten, wurde die Zufuhr an HAA auf Basis nur der zwölf abgefragten Items berechnet und mit der Zufuhr aus der längeren Version verglichen. In den folgenden Tabellen und Abbildungen werden die Ergebnisse des gekürzten Fragebogens mit jenen des längeren verglichen.

Die Abbildungen 7 und 8 zeigen die Verteilungen der aus der langen und der kurzen Fragebogenversion berechneten Gesamt-HAA-Aufnahme innerhalb der Studiengruppe von 344 Teilnehmern.



**Abb. 7:** Histogramm der Gesamt-HAA-Aufnahme berechnet aus der langen Fragebogenversion (Teilnehmer, deren Aufnahme oberhalb des 99%-Perzentsils lag, wurden nicht einbezogen, um die Verteilung in den unteren Bereichen besser darstellen zu können)



**Abb. 8:** Histogramm der Gesamt-HAA-Aufnahme berechnet aus der gekürzten Fragebogenversion (Teilnehmer, deren Aufnahme oberhalb des 99%-Perzentils lag, wurden nicht einbezogen, um die Verteilung in den unteren Bereichen besser darstellen zu können)

Die aus beiden Fragebogenversionen berechnete HAA-Aufnahmen sind nicht normalverteilt und zeigen eine deutlich rechtsschiefe Verteilung.

In der nachstehenden Tabelle werden die HAA-Aufnahme berechnet aus dem langen und dem kurzen Fragebogen dargestellt. Angegeben werden für die HAA bzw. die Lebensmittel der Median sowie zur Darstellung der Verteilung die 75%- und 95%-Perzentilen sowie das Maximum der Aufnahme.



**Tab. 11:** Median und Maximum der HAA-Aufnahme (ng/Tag) für verschiedene HAA und Lebensmittel, berechnet aus der langen bzw. kurzen Fragebogenversion (n=344)

	Fragebogen	Median	75% <sup>1</sup>	95% <sup>2</sup>	Max <sup>3</sup>	p-Wert <sup>4</sup>
<b>Gesamt-HAA</b>	lang	89	333	801	10432	0,64
	kurz	103	303	804	4194	
<b>PhIP</b>	lang	53	253	646	9208	0,25
	kurz	63	225	650	4060	
<b>MeIQx</b>	lang	25	66	173	1085	0,10
	kurz	34	118	160	880	
<b>DiMeIQx</b>	lang	2	5	25	140	0,11
	kurz	2	4	17	123	
<b>IQ</b>	lang	0	0	3	17	0,15
	kurz	0	1	3	8	
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes</b>	lang	9	61	495	8821	0,67
	kurz	15	85	460	4122	
<b>Fisch</b>	lang	3	51	336	2012	0,00
	kurz	15	89	466	1089	
<b>Rinderbraten, -gulasch, -rouladen</b>	lang	2	11	115	423	0,02
	kurz	4	12	71	683	
<b>Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak</b>	lang	2	6	36	138	0,75
	kurz	1	6	34	182	
<b>Schweinebraten, -gulasch</b>	lang	1	6	38	316	0,40
	kurz	1	7	32	683	
<b>Rindersteak, -filet, -lende</b>	lang	0	7	37	321	0,00
	kurz	0	4	23	553	
<b>Kasseler, Schweinerippchen</b>	lang	0	0	12	96	0,00
	kurz	0	0	3	261	

<sup>1</sup>75% = 75%-Perzentile<sup>2</sup>95% = 95%-Perzentile<sup>3</sup>Max = Maximum<sup>4</sup>Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben: p<0,05 für Unterschiede in der Aufnahme zwischen dem kurzen und dem langen Fragebogen

Das Minimum der Aufnahme beträgt in allen Fällen 0 ng/Tag, da zwei Personen in der Pilotstudie angaben weder Fleisch noch Fisch zu verzehren. Der Median der Gesamtaufnahme an HAA beträgt aus dem längeren Fragebogen 89 ng und 102 ng berechnet aus der gekürzten Version und ist damit nicht signifikant unterschiedlich. Auch die Aufnahme einzelner HAA unterscheidet sich nicht signifikant zwischen den beiden Fragebogenversionen. Werden die einzelnen Lebensmittel betrachtet, ist die HAA-Aufnahme aus „Rindersteak, -filet, -lende“, „Fisch“, „Kasseler, Schweinerippchen“ und „Rinderbraten, -gulasch und -rouladen“ signifikant unterschiedlich für die beiden Fragebogenversionen.

Die maximale Gesamtaufnahme an HAA ist in den beiden Fragebogenversionen stark unterschiedlich. Während diese in fast allen Fällen in der längeren Version höher ist als in der kürzen, unterscheiden sich die 95%-Perzentilen jedoch kaum. Dieselbe Beobachtung kann bei fast allen Lebensmitteln sowie bei PhIP und DiMeIQx gemacht werden.

In der folgenden Tabelle sind die Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman zwischen der berechneten HAA-Aufnahme aus dem langen und aus dem gekürzten Fragebogen dargestellt.

**Tab. 12:** Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman zwischen der HAA-Aufnahme berechnet aus dem langen Fragebogen und der gekürzten Version differenziert nach einzelnen HAA und Lebensmitteln (n=344)

	Spearman Rangkorrelationskoeffizient
<b>Gesamt HAA</b>	0,51
<b>IQ</b>	0,48
<b>MeIQx</b>	0,60
<b>DiMeIQx</b>	0,58
<b>PhIP</b>	0,46
<b>Rindersteak, -filet, -lende</b>	0,54
<b>Rinderbraten, -gulasch, rouladen</b>	0,59
<b>Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -steak, -filet</b>	0,54
<b>Schweinebraten, -gulasch</b>	0,58
<b>Kasseler, Schweinerippchen</b>	0,27
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes</b>	0,52
<b>Fisch</b>	0,44

Die Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman zwischen der HAA-Aufnahme aus dem ersten längeren und dem zweiten kürzeren Fragebogen liegen für alle Personen zwischen  $r=0,44$  und  $0,60$ . Eine Ausnahme ist die HAA-Aufnahme aus „Kasseler“, für die der Korrelationskoeffizient bei nur  $r=0,27$  liegt.

Zur weiteren Überprüfung der Frage, inwieweit die gekürzte Fragebogenversion in der Lage ist, Personen im Vergleich zur längeren Version korrekt zu klassifizieren, wird bezüglich der Gesamt-HAA-Aufnahme, sowie einige HAA und Lebensmittel für alle Teilnehmer ein Quintilsvergleich durchgeführt (siehe Tab. ).

**Tab. 13:** Ergebnisse der Quintilsvergleiche für einige HAA und Lebensmittel zwischen der langen und der gekürzten Fragebogenversion

	Gleiches Quartil	Angrenzendes Quartil	Entgegengesetztes Quartil
<b>Gesamt-HAA</b>	139 (40,4%)	114 (33,1%)	11 (3,2%)
<b>PhIP</b>	130 (37,8%)	112 (32,6%)	12 (3,5%)
<b>MeIQx</b>	134 (39,0%)	124 (36,0%)	4 (1,2%)
<b>DiMeIQx</b>	134 (40,0%)	112 (37,8%)	6 (1,7%)
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes</b>	131 (38,1%)	131 (38,1%)	7 (2,0%)
<b>Fisch</b>	100 (29,1%)	129 (37,5%)	7 (2,0%)

Von beiden Fragebogenversionen werden zwischen 67% und 75% der Teilnehmer der Pilotstudie in dasselbe oder ein angrenzendes Quartil eingeteilt. Exakt klassifiziert werden 32% bis 37% der Befragten. Die grobe Fehlklassifikation, also die Einordnung in entgegengesetzte Quartile durch die beiden zu vergleichenden Fragebogenversionen, reicht von 0,6% bis 3,5%.

Wird für jedes Quartil, das auf Basis des kurzen HAA-Fragebogens gebildet wurde, der Median der HAA-Aufnahme aus dem längeren Fragebogen berechnet, ergibt sich das in Tab. 14 gezeigte Bild.

**Tab. 14:** Median der HAA-Aufnahme aus dem langen HAA-Fragebogen berechnet auf Basis der Quintilseinteilung des gekürzten Fragebogens (Angaben in ng/Tag)

	Quartil 1	Quartil 2	Quartil 3	Quartil 4	Quartil 5
<b>Gesamt-HAA*</b>	9	39	149	148	384
<b>PhIP*</b>	5	23	56	176	266
<b>MeIQx*</b>	5	15	30	54	87
<b>DiMeIQx*</b>	0	1	2	4	9
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, geschnetzeltes*</b>	0	4	13	33	101
<b>Fisch*</b>	0	2	8	14	70

\*Unterschiede signifikant mit  $p < 0,01$  (Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben)

Der Median der HAA-Aufnahme steigt mit jedem Quintil an, lediglich für die Variable Gesamt-HAA ist der Median für Quintil 3 und Quintil 4 fast identisch. Die Unterschiede zwischen den Quintilen sind für alle untersuchten HAA und Lebensmittelitems statistisch signifikant.

In Tab. 15 wird für Gesamt-HAA sowie die einzelnen HAA und Lebensmittel der Mittelwert der Differenz der Aufnahme aus kurzem und langem Fragebogen sowie die Standardabweichung und die Anzahl der Teilnehmer im von Bland und Altman (1996) beschriebenen 95%-Bereich der Übereinstimmung angegeben.

**Tab. 15:** Mittelwert der Differenzen sowie 95%-Bereich der Übereinstimmung der berechneten HAA-Aufnahme zwischen den beiden HAA-Fragebögen

	Mittelwert der Differenzen <sup>1</sup> (in ng/Tag)	SD des Mittelwertes <sup>2</sup>	95%-Bereich der Übereinstimmung <sup>3</sup>	% Probanden in diesem Bereich <sup>4</sup>
<b>Gesamt-HAA</b>	0,9	7,6	0,0 - 52,5	94,8
<b>MeIQx</b>	0,8	6,0	0,0 - 26,9	94,8
<b>PhIP</b>	1,1	12,6	0,0 - 213,8	94,5
<b>DiMeIQx</b>	0,9	8,7	0,0 - 70,8	92,2
<b>IQ</b>	1,1	8,9	0,0 - 91,2	86,9
<b>Rindersteak, -filet, -lende</b>	1,7	21,4	0,0 - 794,3	92,7
<b>Rinderbraten, -gulasch, rouladen</b>	0,6	24,5	0,0 - 346,7	90,7
<b>Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -steak, -filet</b>	1,3	17,8	0,0 - 398,1	91,0
<b>Schweinebraten, -gulasch</b>	0,7	18,6	0,0 - 229,1	91,0
<b>Kasseler, Schweinerippchen</b>	3,0	17,0	0,0 - 812,8	95,6
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes</b>	0,4	24,5	0,0 - 257,0	94,2
<b>Fisch</b>	0,7	23,4	0,0 - 363,1	87,5

<sup>1</sup> Mittelwert der Differenzen = Mittelwert der Differenzen zwischen der HAA-Aufnahme aus dem langen und dem kurzen Fragebogen

<sup>2</sup> SD des Mittelwertes = Standardabweichung des Mittelwertes der Differenz

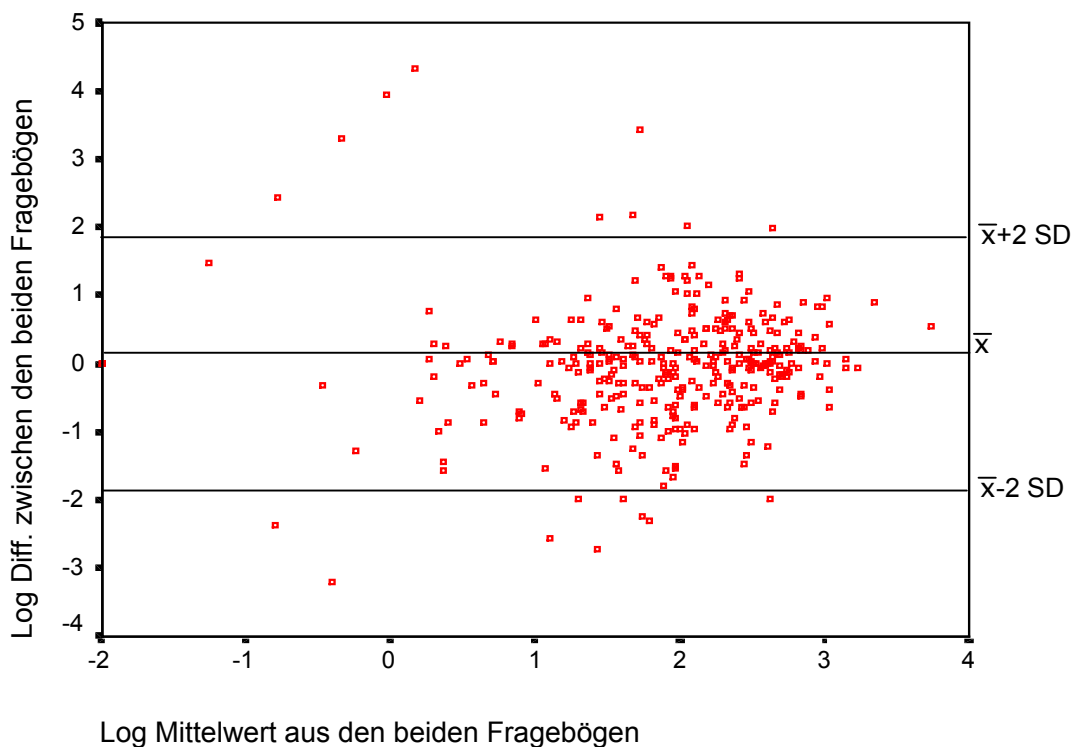
<sup>3</sup> 95%-Bereich der Übereinstimmung = Mittelwert der Differenzen  $\pm$  2 Standardabweichungen

<sup>4</sup> nach Bland und Altman (1996) sollte für 95% der Teilnehmer die Differenz zwischen den beiden Fragebögen bei einer guten Übereinstimmung der beiden Instrumente im 95%-Bereich der Übereinstimmung liegen

Nur für die Lebensmittelgruppe "Kassler und Schweinerippchen" wird die Forderung von Bland und Altman (1986) erreicht, dass mehr als 95% der Teilnehmer der Validierungsstudie mit der für sie berechneten Differenz der HAA-Aufnahme zwischen den beiden Fragebögen in dem berechneten 95%-Bereich der Übereinstimmung liegen. Bis auf zwei Le-

bensmittelgruppen liegt die Differenz der HAA-Aufnahme zwischen den beiden Fragebogenversionen für mehr als 90% der Befragten in dem gewünschten Bereich, bei der Gesamt-HAA-Aufnahme sowie der Aufnahme an PhIP und MeIQx ist der Anteil nur wenig geringer als 95%.

In Abb. 9 ist für die Gesamt-HAA-Aufnahme die Differenz zwischen dem Ergebnis aus dem längeren Fragebogen und der gekürzten Version gegen den Mittelwert aus langem und kurzem Fragebogen aufgetragen. Zur Kennzeichnung des 95%-Bereiches der Übereinstimmung wurden der Mittelwert sowie die Grenzen (Mittelwert  $\pm$  2 Standardabweichungen) eingezeichnet.



**Abb. 9:** Logarithmus des Mittelwertes der Differenzen zwischen der HAA-Aufnahme aus dem langen und dem gekürzten Fragebogen aufgetragen gegen den Logarithmus des Mittelwertes aus langem und kurzem HAA-Fragebogen (n=344)

In dieser Abbildung ist zu erkennen, dass ein Großteil der Teilnehmer für die HAA-Gesamtaufnahme in dem geforderten Bereich von  $\pm$  2 SD vom Mittelwert der Differenzen zwischen der langen und der gekürzten Fragebogenversion liegen. Allerdings werden die gewünschten 95% der Personen nicht erreicht. Achtzehn Personen (5,2%) liegen außerhalb des Bereiches.

## 2.2 Angaben zur Verwendung des Bratrückstandes

Voraussetzung für die Aufnahme von HAA aus Sauce ist, dass diese aus Bratrückstand hergestellt wird. Aus diesem Grund wird zunächst untersucht, welcher Anteil von Personen Bratrückstände weiterverwendet, z. B. zur Saucenherstellung oder zum Schwenken von Kartoffeln.

Auch hierbei wird zwischen den Ergebnissen des längeren HAA-Fragebogens und jenen der gekürzten Version verglichen. In den Vergleich werden jeweils nur die Personen einbezogen, die für den langen und den kurzen Fragebogen Angaben gemacht haben. Personen mit fehlenden Angaben wurden ausgeschlossen (Tab. 16).

**Tab. 16:** Verwendung des Bratrückstandes, der bei der Zubereitung von Fleisch und Fisch entsteht

	kurzgebraten (n=265)		gebraten/geschmort (n=310)	
	lang	kurz	lang	kurz
ja	35,1	38,0	71,0	79,4
nein	47,0	52,8	20,6	18,0
übereinstimmende Antwort	74,3%		85,8%	
gewichteter Kappa-Koeffizient	0,50		0,56	

Beim Braten und Schmoren wurde der Bratrückstand häufiger zur Herstellung einer Sauce verwendet als beim Kurzbraten. Bei der Frage zur Weiterverwendung des Bratrückstandes beim Kurzbraten gaben knapp 75% der Teilnehmer in den beiden Fragebogenversionen übereinstimmende Antworten, beim Braten/Schmoren waren es 85%.

## 2.3 Anwendung von Zubereitungsarten für Fleisch und Fisch

In der folgenden Tabelle wird die Häufigkeit der Anwendung verschiedener Zubereitungsarten für die abgefragten Fleisch- und Fischarten dargestellt. Dabei wird die Häufigkeit, die in der längeren Fragebogenversion angegeben wurde, mit der des gekürzten Fragebogens verglichen. Nicht dargestellt wird der Anteil der Teilnehmer, der für ein Lebensmittel nicht angeben konnte, wie häufig eine bestimmte Zubereitungsart verwendet wird.

**Tab. 17:** Häufigkeit der Verwendung der Zubereitungsarten im längeren HAA-Fragebogen (n=344)

Lebensmittel	Zubereitungsart	esse ich nicht!	nie <sup>2</sup>	1/4 der Fälle	1/2 der Fälle	3/4 der Fälle	immer
<b>Rindersteak, -filet, -lende</b>	kurzgebraten	20,9%	16,5%	10,4%	8,7%	9,6%	29,3%
	gebraten	20,9%	33,6%	9,3%	7,5%	9,0%	8,7%
	gegrillt	20,9%	42,3%	13,3%	5,5%	1,2%	1,4%
<b>Rinderbraten, -rouladen, -gulasch</b>	gebraten	15,9%	1,2%	11,6%	3,2%	3,2%	62,0%
<b>Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak</b>	kurzgebraten	9,6%	33,9%	9,6%	10,1%	9,3%	16,3%
	gebraten	9,6%	25,8%	9,3%	11,0%	10,7%	23,8%
	gegrillt	9,6%	46,1%	17,1%	8,4%	2,9%	1,4%
<b>Schweinebraten, -gulasch</b>	gebraten	21,2%	2,3%	9,0%	3,2%	4,1%	57,4%
<b>Kasseler, Schweinerippchen</b>	kurzgebraten	39,1%	38,8%	2,6%	2,9%	1,4%	4,1%
	gebraten	39,1%	17,4%	6,4%	3,2%	2,9%	23,8%
	gegrillt	39,1%	42,0%	4,1%	1,2%	0,6%	0,6%
<b>Speck, Schweinebauch</b>	kurzgebraten	63,8%	19,4%	2,3%	1,4%	2,0%	3,5%
	gegrillt	63,8%	10,1%	5,8%	2,3%	1,4%	9,6%
<b>Frikadellen, Hackbraten</b>	kurzgebraten	12,2%	42,7%	6,7%	7,3%	4,4%	19,8%
	gebraten	12,2%	21,2%	5,8%	8,1%	4,7%	41,6%
<b>Fleischkäse</b>	kurzgebraten	34,9%	16,9%	8,7%	4,1%	4,7%	26,2%
	gebraten	34,9%	36,0%	3,2%	1,7%	3,2%	8,7%
	gegrillt	34,9%	43,3%	3,8%	0,9%	0,3%	3,2%
<b>Bratwurst</b>	kurzgebraten	14,2%	20,9%	8,4%	14,5%	12,8%	20,9%
	gegrillt	14,2%	21,8%	14,0%	15,1%	5,8%	19,2%
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes</b>	kurzgebraten	9,9%	44,8%	5,5%	9,0%	8,4%	9,3%
	gebraten	9,9%	20,1%	8,1%	13,1%	14,0%	28,8%
	gegrillt	9,9%	45,1%	10,8%	9,6%	5,8%	4,1%
<b>Fisch</b>	kurzgebraten	6,7%	36,3%	8,4%	8,1%	8,1%	22,1%
	gebraten	6,7%	32,0%	9,0%	11,6%	7,0%	24,7%
	gegrillt	6,7%	59,0%	9,0%	7,6%	1,5%	0,9%

<sup>1</sup> Anteil der Personen, die angaben, ein bestimmtes Lebensmittel nicht zu essen;

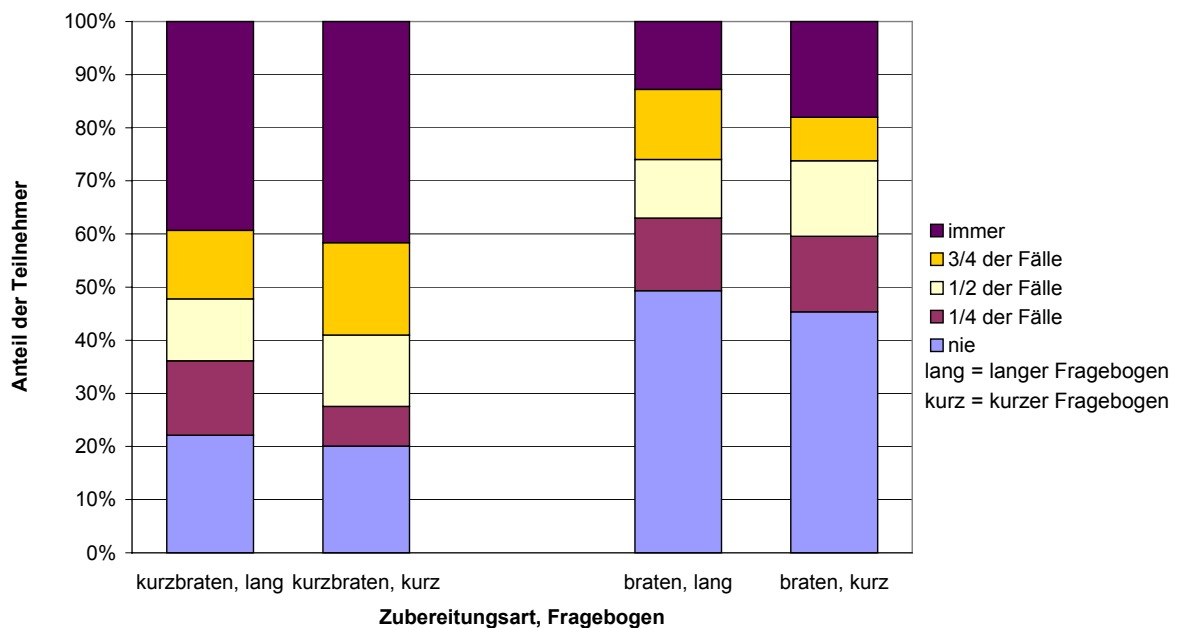
<sup>2</sup> Anteil der Personen, die angaben, eine bestimmte Zubereitungsart nie zur Zubereitung eines bestimmten Lebensmittel zu verwenden

Je nach Lebensmittel gaben zwischen 6,7% und 63,8% der Teilnehmer an ein Lebensmittel nicht zu essen. Am häufigsten wurde der Verzehr von Speck und Schweinebauch verneint, am seltensten der Verzehr von Fisch.

Für "Rindersteak, -filet und -lende" war das Kurzbraten die am häufigsten verwendete Zubereitungsart. Bei "Schweineschnitzel, -kotelett, -filet, -lende und steak" war das Braten die wichtigste Zubereitungsart, Kurzbraten stand an zweiter Stelle. Bei "Kasseler und Schweinerippchen" wurde Braten am häufigsten verwendet, während Grillen und Kurzbraten nur eine geringe Rolle spielten. "Speck und Schweinebauch" wurden etwas häufiger gegrillt als kurzgebraten. Lebensmittel der Gruppe "Frikadellen und Hackbraten" werden überwiegend gebraten, bei "Fleischkäse" war das Kurzbraten die häufigste Zubereitungsart. Bei "Bratwurst" wurde weder das Kurzbraten noch das Grillen eindeutig bevorzugt. Beide Zubereitungsarten wurden von etwa 20% der Teilnehmer immer verwendet, ebenso viele Personen gaben an, diese Zubereitungsarten nie zu verwenden. In der Gruppe "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" wurde Braten von einem Drittel der Teilnehmer immer zu Zubereitung verwendet und war damit die häufigste Methode. "Fisch" wurde von den Befragten häufig kurzgebraten oder gebraten, jedoch selten gegrillt.

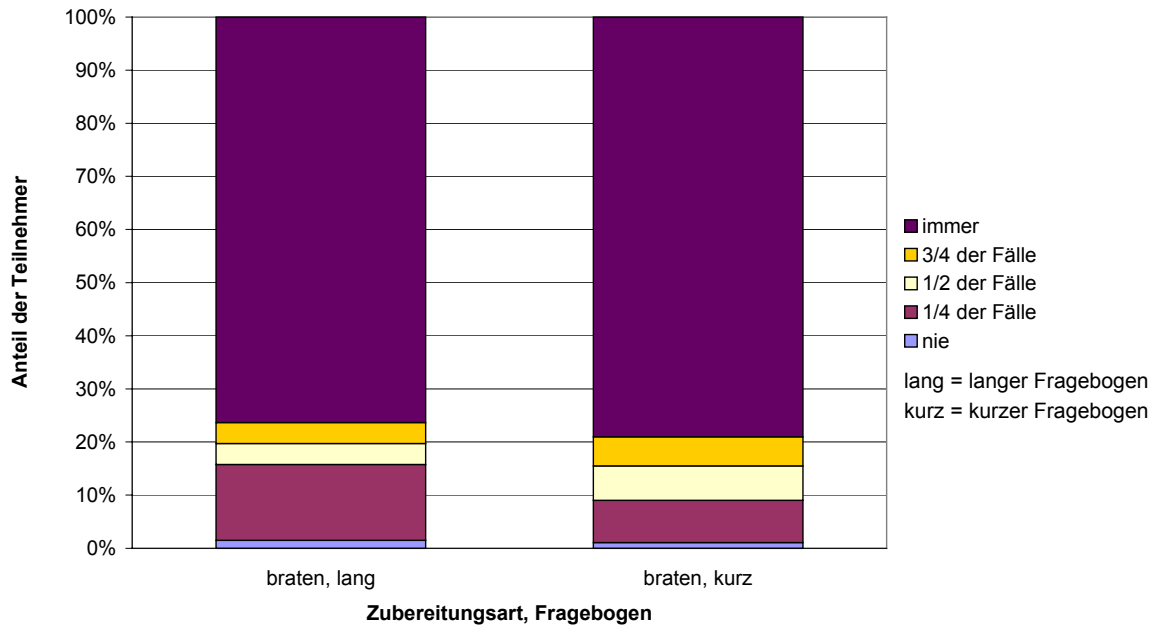
Die folgenden Abbildungen vergleichen die Ergebnisse der langen und der kurzen Fragebogenversion bezüglich der Angabe zu der Verwendung der Zubereitungsarten. Es werden jeweils die Anteile der Teilnehmer dargestellt, die für eine Zubereitungsart angegeben ha-

ben, diese nie, in einem Viertel, in der Hälfte, in drei Viertel der Fälle oder immer zur Zubereitung eines bestimmten Lebensmittels zu verwenden. Um einen Eindruck zu bekommen, wie häufig welche Zubereitungsart angewendet wurde, wenn ein Lebensmittel verzehrt wurde, wurden in diese Darstellung nur die Teilnehmer einbezogen, die angaben, das gefragte Lebensmittel verzehrt zu haben. Teilnehmer, die dies verneint haben, werden nicht einbezogen.



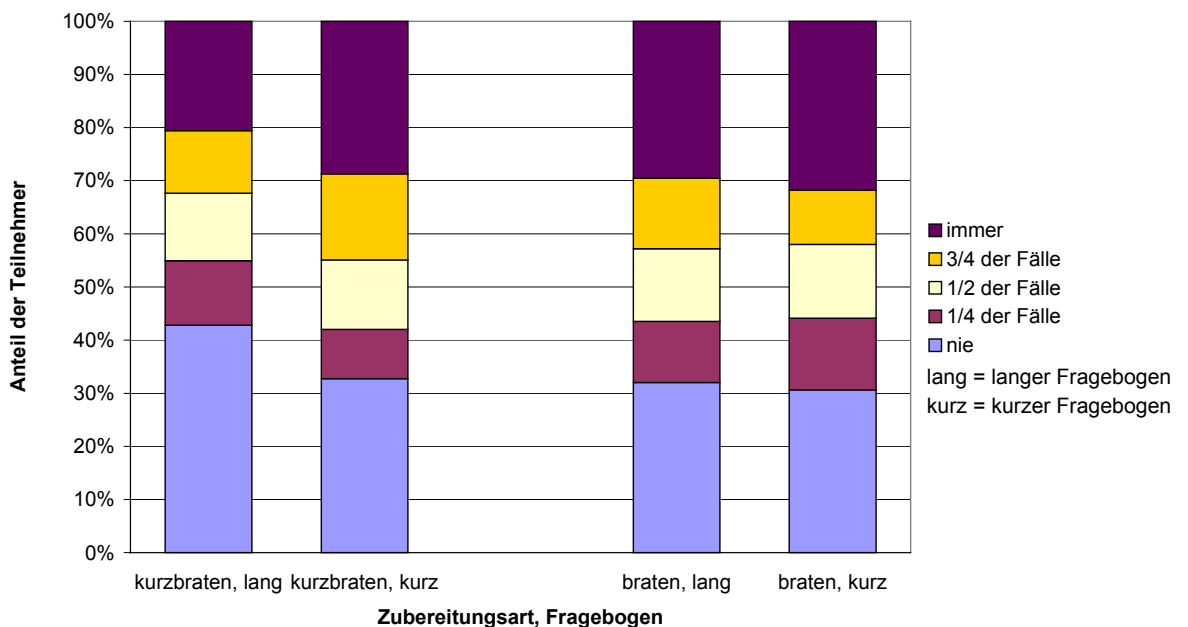
**Abb. 10:** Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Rindersteak, -filet und -lende"

Wenn "Rindersteak, -filet und -lende" verzehrt wurden, wurden diese Lebensmittel von den in dieser Studie befragten Personen überwiegend kurzgebraten. Fast die Hälfte der Befragten gaben in beiden Fragebogenversionen an, Lebensmittel dieser Gruppe nie zu braten, während etwa 40% zur Zubereitung immer Kurzbraten verwendeten.



**Abb. 11:** Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Rinderbraten, -gulasch und -rouladen"

"Rinderbraten, -gulasch, und -rouladen" wurden vom überwiegenden Teil der Teilnehmer immer gebraten. Die Unterschiede in den Angaben zwischen den beiden Fragebögen waren gering.

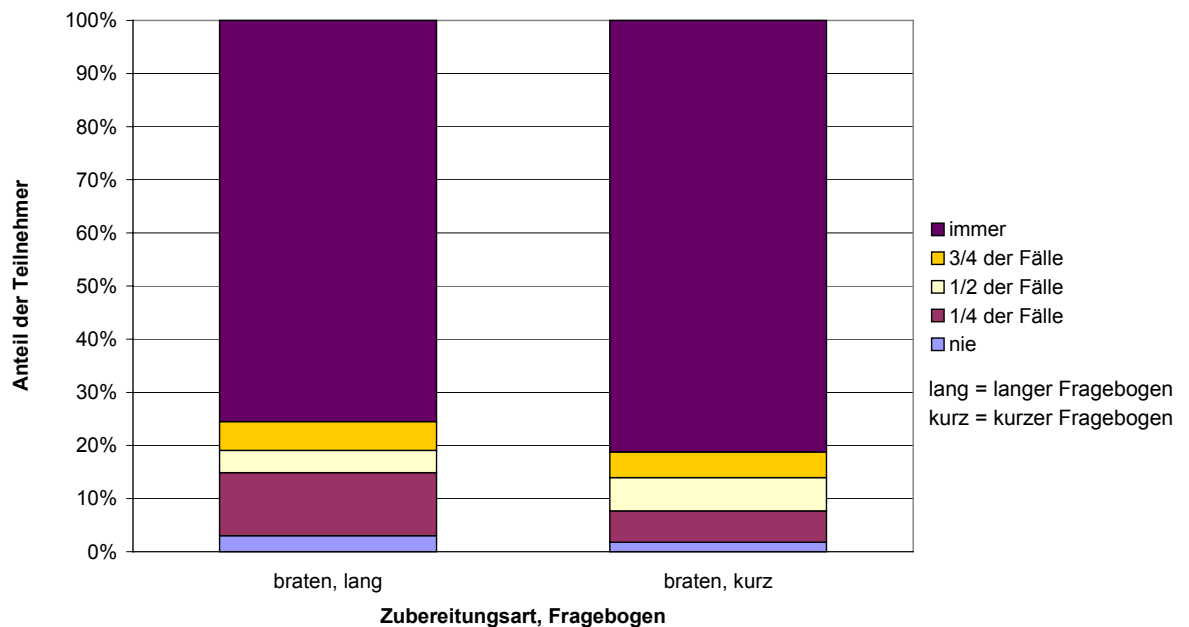


**Abb. 12:** Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet und -steak"

In der Gruppe "Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet und -steak" wurde keine der beiden erfragten Zubereitungsarten eindeutig bevorzugt. Jeweils 20-30% der befragten Perso-



nen verwendeten Braten bzw. Kurzbraten immer zur Zubereitung von Lebensmitteln dieser Gruppe. Jeweils 30-40% der Teilnehmer sagten, dass sie diese Lebensmittel nie auf diese Arten zubereiten. Die Unterschiede in den Angaben zum Kurzbraten waren zwischen den beiden Fragebogenversionen größer als die Angaben zum Braten, was auch im geringen Kappa-Koeffizienten (Tab. 18) deutlich wird.



**Abb. 13:** Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Schweinebraten und -gulasch"

"Schweinbraten und -gulasch" wurden von 75% bis 82% der Teilnehmer, die angaben diese Lebensmittel zu essen, gebraten. Lediglich etwa 2% der befragten Personen verwendeten diese Zubereitungsart nie.

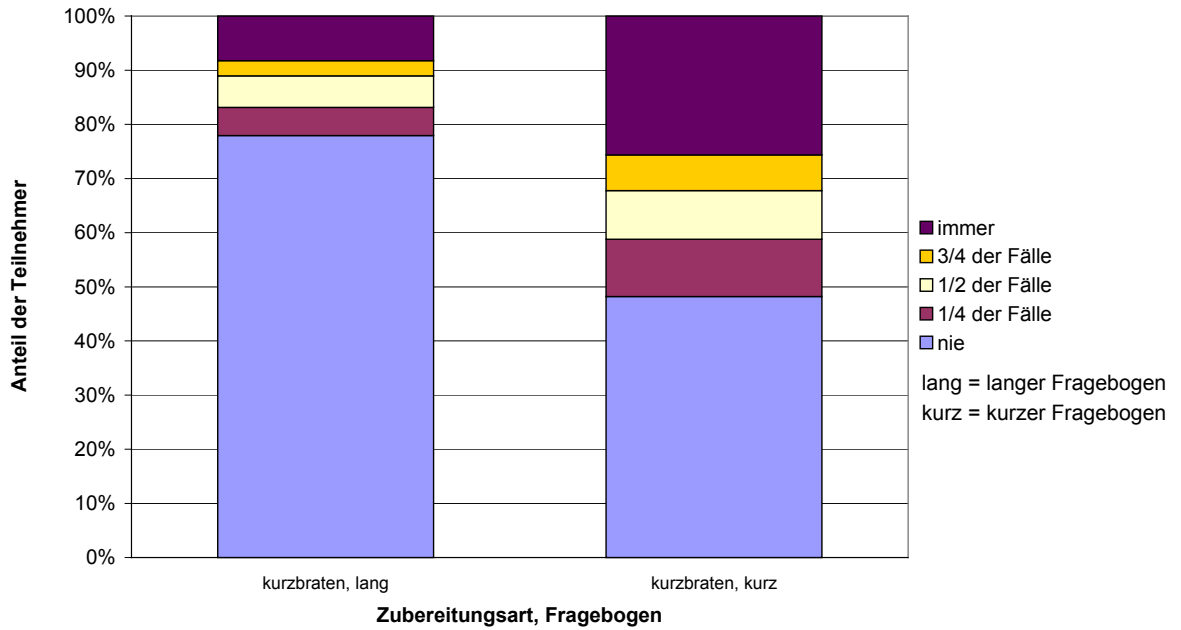


Abb. 14: Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Kasseler und Schweinerippchen"

Im langen HAA-Fragebogen gaben mehr als drei Viertel der befragten Personen an, dass sie "Kasseler und Schweinebauch" nie kurzbraten. In der gekürzten Version sagten dies nur noch knapp die Hälfte der Teilnehmer. Diese Differenz zeigt sich auch im Kappa-Koeffizienten von  $\kappa=0,39$  (Tab. 18).

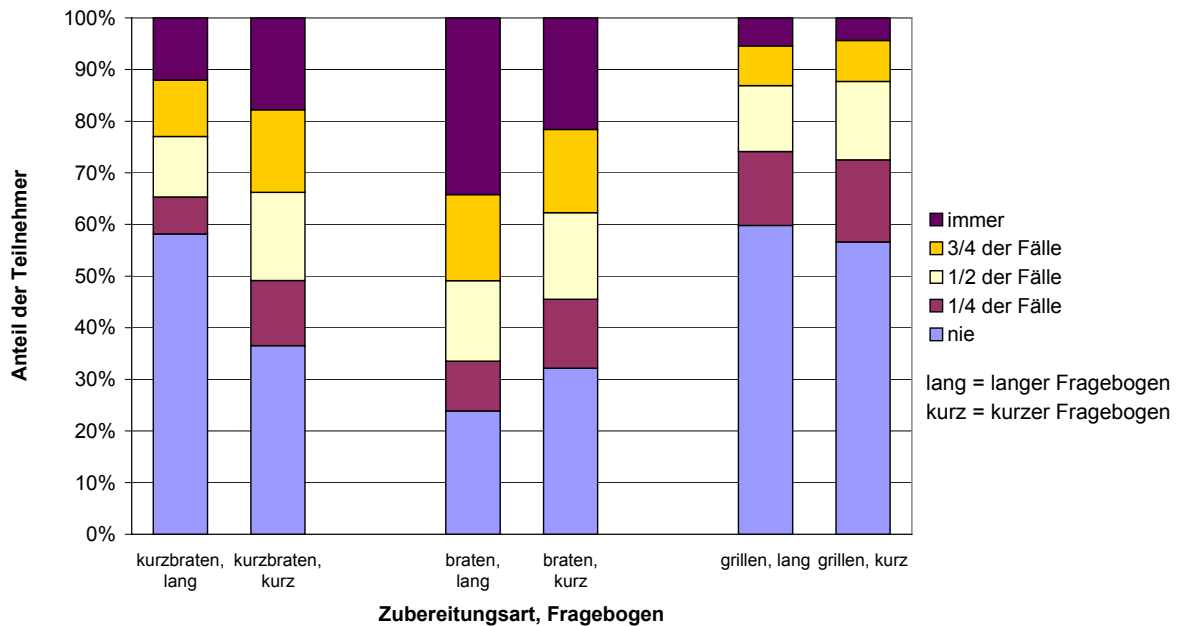
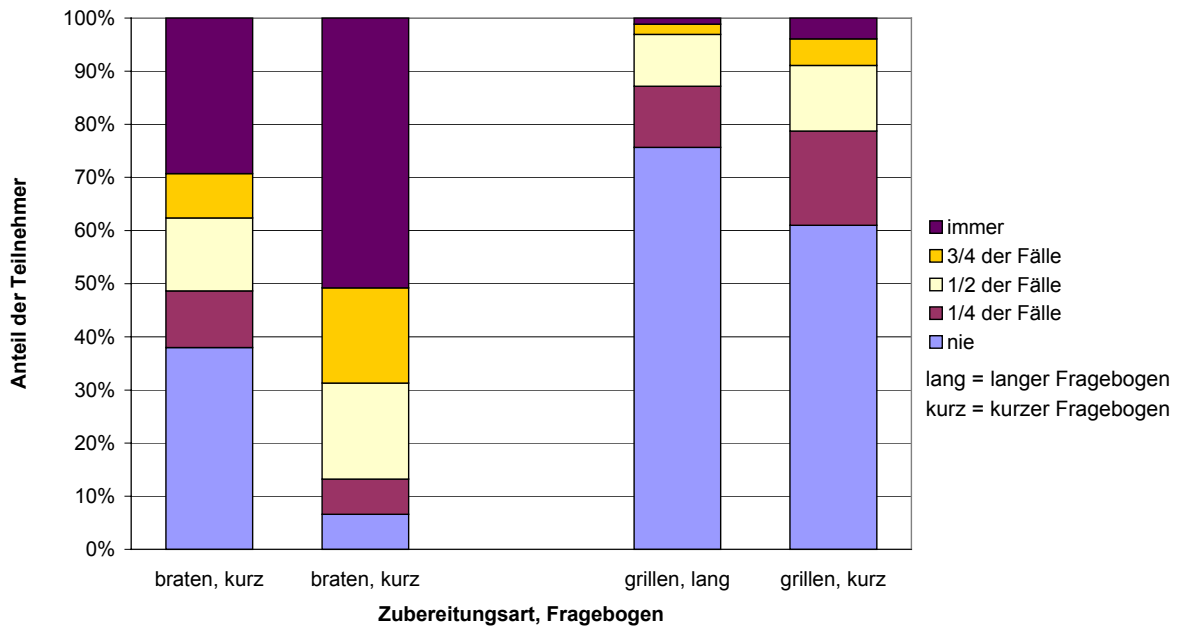


Abb. 15: Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes"

In beiden Fragebogenversionen war das Braten die am häufigsten verwendete Zubereitungsart für "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes". Im längeren Fragebogen erklärten über 50% der Teilnehmer, dass sie Lebensmittel dieser Gruppe überwiegend (immer bzw. in drei Viertel der Fälle) braten. Zwischen 55% und 60% der Befragten gaben an "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" nie zu grillen. Die Angaben zum Kurzbraten unterschieden sich stark zwischen beiden Versionen. Während in der längeren Version von fast 60% der Teilnehmer bei der Verwendung des Kurzbratens "nie" angegeben wurde, waren es in der zweiten Version nur 35%.



**Abb. 16:** Verwendung der erfragten Zubereitungsarten für "Fisch"

In Abb. 16 zeigt sich deutlich, dass "Fisch" nur von wenigen Personen in der vorliegenden Studie gegrillt wurde. Im längeren Fragebogen gab ein Viertel der Teilnehmer an, "Fisch" zu grillen, in der kürzeren Version waren es rund 40%. Von diesen verwendeten aber nur wenige diese Zubereitungsart regelmäßig (in drei Viertel der Fälle oder immer). Braten wurde im langen Fragebogen von etwa 30% der Teilnehmer immer zur Zubereitung von "Fisch" verwendet, im kurzen war es rund die Hälfte der Befragten. Der Anteil derer, die "Fisch" nie braten, betrug im ersten Fragebogen 37%, im gekürzten zweiten nur noch 5%. Diese Unterschiede zeigen sich auch mit  $\kappa=0,25$  im niedrigen Kappa-Koeffizienten (Tab. 18).

Zusammenfassend wird in Tab. 18 die Übereinstimmung in der Antworten zur Verwendung der Zubereitungsarten zwischen dem kurzen und dem langen HAA-Fragebogen dargestellt. Es wird gezeigt, wie viele der Teilnehmer in beiden Fragebögen zur Verwendung einer Zubereitungsart bei einem bestimmten Lebensmittel übereinstimmend geantwortet haben.

**Tab. 18:** Übereinstimmung bezüglich der Verwendung von Zubereitungsarten zwischen den beiden Fragebogenversionen

Lebensmittel	Zubereitungsart	n*	übereinstimmende Antworten (%)	gewichteter Kappa-Koeffizient
Rindersteak, -filet, -lende	kurzgebraten	301	45,2	0,50
	gebraten	285	49,3	0,40
Rinderbraten, -rouladen, -gulasch	gebraten	328	69,2	0,54
Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak	kurzgebraten	292	41,4	0,37
	gebraten	281	46,3	0,43
Schweinebraten, -gulasch	gebraten	328	68,8	0,56
Kasseler, Schweinerippchen	kurzgebraten	297	56,8	0,39
Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes	kurzgebraten	279	40,1	0,29
	gebraten	299	37,4	0,27
	gegrillt	264	49,3	0,32
Fisch	gebraten	303	36,7	0,25
	gegrillt	271	67,2	0,44

\*n = Anzahl der Teilnehmer, die in beiden Fragebögen Angaben zur Zubereitung der gefragten Lebensmittel machten (ausgeschlossen sind jene Teilnehmer, die angaben, das gefragte Lebensmittel nicht zu essen)

Zwischen 36,7% und 69,2% der Teilnehmer machten im langen bzw. im kurzen Fragebogen übereinstimmende Angaben bezüglich der Anwendungshäufigkeit verschiedener Zubereitungsarten für die abgefragten Lebensmittel. Der gewichtete Kappa-Koeffizient reicht von  $\kappa=0,25$  bis  $\kappa=0,56$ . Am wenigsten stimmen die Angaben bezüglich der Zubereitung von "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" überein ( $\kappa=0,27-0,29$ ), am besten ist die Übereinstimmung bei "Schweinebraten und -gulasch" sowie "Rinderbraten, -rouladen und -gulasch". Bei beiden Lebensmittelgruppen machten etwa 69% der Probanden übereinstimmenden Angaben mit  $\kappa=0,54-0,56$ .

## 2.4 Bräunungsgrad der Lebensmittel

Im Folgenden werden die Ergebnisse bezüglich des bevorzugten Bräunungsgrades für die verschiedenen Lebensmittel dargestellt. Die erste Tabelle stellt die Angaben der Teilnehmer im längeren Fragebogen dar. Sie soll einen Eindruck vermitteln, welcher Bräunungsgrad für die Lebensmittel bevorzugt wird, die im kürzeren Fragebogen nicht mehr abgefragt werden.

**Tab. 19:** Angaben zum bevorzugten Bräunungsgrad im längeren HAA-Fragebogen (n=344)

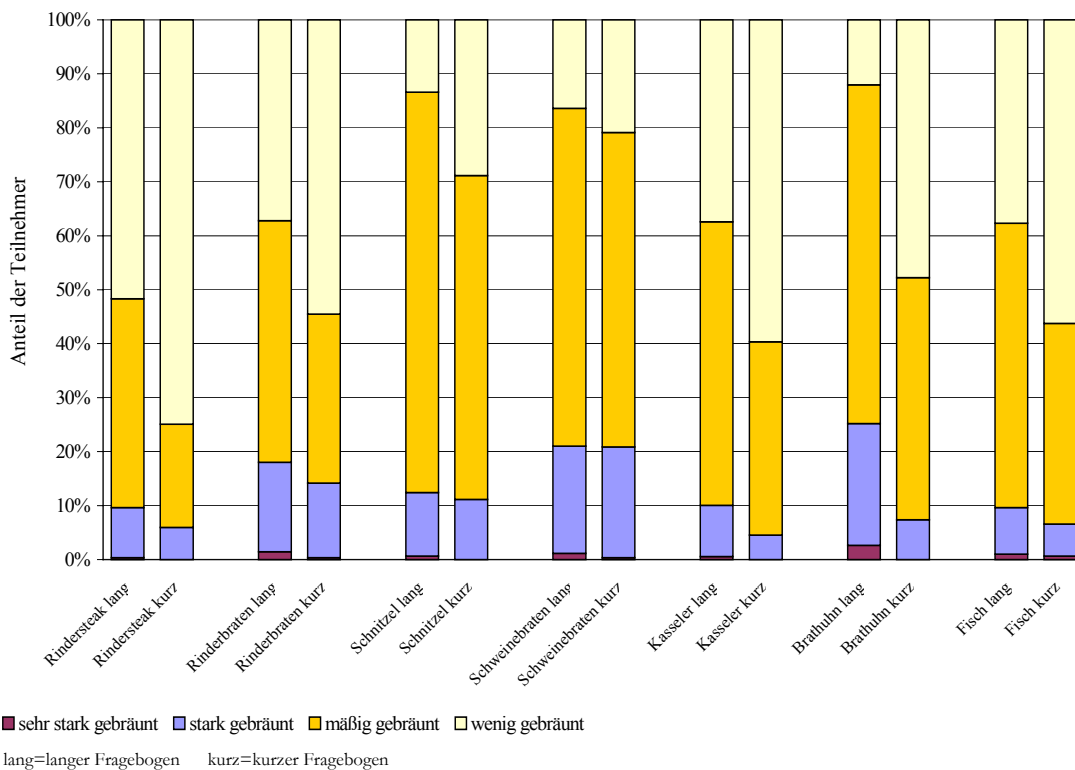
Lebensmittel	esse ich nicht*	sehr stark gebräunt	stark gebräunt	mäßig gebräunt	wenig gebräunt
Rindersteak, -filet, -lende	19,5%	0,3%	7,3%	30,2%	40,4%
Rinderbraten, -rouladen, -gulasch	15,4%	1,2%	13,4%	36,0%	29,9%
Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak	9,9%	0,6%	10,5%	66,0%	11,9%
Schweinebraten, -gulasch	20,3%	0,9%	15,1%	47,7%	12,5%
Kasseler, Schweinerippchen	39,2%	0,3%	4,9%	27,3%	19,5%
Speck, Schweinebauch	63,7%	2,6%	11,9%	11,3%	4,1%
Frikadellen, Hackbraten	11,6%	1,5%	15,7%	46,8%	23,0%
Fleischkäse	34,6%	0,9%	10,2%	41,6%	10,2%
Bratwurst	14,2%	2,0%	23,8%	48,8%	5,5%
Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes	9,9%	2,0%	17,4%	48,5%	9,3%
Fisch	6,7%	0,9%	7,6%	45,9%	32,8%

\* Anteil der Personen, die angaben, ein bestimmtes Lebensmittel nicht zu essen

Aus der Tabelle wird deutlich, dass nur 0,3-2,6% der Teilnehmer zubereitetes Fleisch sehr stark gebräunt verzehrten. Zwischen 4,9% und 23,8% der befragten Personen gaben an, Fleisch und Fisch stark gebräunt zu essen. Ein großer Anteil von Teilnehmern erklärten, diese Lebensmittel mäßig gebräunt zu verzehren, bis zu 40% sagten, dass sie ihr Fleisch wenig gebräunt essen.

Bei diesen Angaben zeigt sich zusätzlich, dass der bevorzugte Bräunungsgrad vom Lebensmittel abhängig ist. Am häufigsten wurden "Speck und Schweinebauch" sehr stark gebräunt gegessen. Auch "Bratwurst" sowie "Brathuhn, Putenschitzel und Putengeschnetzeltes" werden von 20-25% der Teilnehmer sehr stark oder stark gebräunt verzehrt. Im Gegensatz dazu gaben nur 5,2% der Teilnehmer an, "Kasseler und Schweinerippchen" sehr stark oder stark gebräunt zu verzehren. Dieser Anteil war auch bei "Rindersteak, -filet und -lende" gering (7,6%). Mit Ausnahme von "Speck und Schweinebauch" wurden die abgefragten Fleischsorten und Fisch zu 50% oder mehr lediglich mäßig oder wenig gebräunt verzehrt.

Die nachfolgende Abbildung stellt die Unterschiede in den Antworten bezüglich des bevorzugten Bräunungsgrades zwischen dem langen und dem kurzen HAA-Fragebogen für jede der abgefragten Fleischarten bzw. Fisch dar. Auch bei dieser Darstellung wurden, um darzustellen, welcher Bräunungsgrad von jenen Personen, die eine Lebensmittel verzehren, bevorzugt wird, nur die Teilnehmer einbezogen, die jeweils eine eindeutige Angabe zum bevorzugten Bräunungsgrad gemacht haben. Teilnehmer, die mit "ich esse dieses Lebensmittel nicht" geantwortet haben, sind in dieser Darstellung ausgeschlossen.



**Abb. 17:** Bevorzugter Bräunungsgrad für verschiedene Fleischarten bzw. Fisch im langen bzw. kurzen HAA-Fragebogen

Im langen Fragebogen erklärten bis zu 2,6% der Teilnehmer an, dass sie ein Lebensmittel üblicherweise sehr stark gebräunt verzehren. Der Anteil derer, die die Angabe stark gebräunt machten, reichte von 8,7% bis 22,6%. Weitere 38,7-74,2% der Befragten gaben mäßig gebräunt und 12,0-51,7% wenig gebräunt als Form, in der sie die im Fragebogen aufgeführten Lebensmittel bevorzugt verzehrten. Für alle Lebensmittel ist erkennbar, dass im kurzen Fragebogen die Teilnehmer vermehrt angegeben haben, das Fleisch bzw. den Fisch wenig gebräunt zu verzehren, während der Anteil der Personen, die erklärten, diese Lebensmittel stark gebräunt zu essen zurückging. Einzige Ausnahme ist hier die Gruppe "Schweinbraten und -gulasch".

Während im langen Fragebogen nur rund die Hälfte der befragten Personen erklärten, "Rindersteak, -filet und -lende" überwiegend wenig gebräunt zu verzehren, waren es in der gekürzten zweiten Version fast drei Viertel der Befragten. Der Anteil derer, die diese Lebensmittel mäßig, stark oder sehr stark gebräunt verzehren, ging dementsprechend zurück. Bei "Rinderbraten, -gulasch und -rouladen" gaben fast 17% (lange Fragebogenversion) bzw. 14% (kurze Version) der Teilnehmer an, diese Lebensmittel stark gebräunt zu verzehren. Der Anteil derjenigen, die diese Lebensmittel üblicherweise nur wenig gebräunt verzehren, lag in der ersten Befragung bei 37%, in der zweiten bei fast 55%. Der überwiegende Teil der befragten Personen gab an, "Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, und -steak" üblicherweise mäßig gebräunt zu verzehren (74,2% im längeren, 60,0% im gekürzten HAA-Fragebogen). Auch bei diesen Lebensmitteln erklärten im zweiten Fragebogen im Vergleich zum ersten mehr Personen, diese Lebensmittel wenig gebräunt zu verzehren. Der Anteil stieg von 13% auf fast 29% der Befragten, die Angaben zum Bräunungsgrad dieser Lebensmittel gemacht hatten. Die Antworten zum Bräunungsgrad von "Schweinebraten und -gulasch" waren in beiden Fragebogenversionen ähnlich. Rund 20% der Teilnehmer verzehrten diese beiden Lebensmittel üblicherweise stark gebräunt und etwa 60% mäßig gebräunt. Von den Befragten, die "Kasseler und Schweinerippchen" essen, erklärten in der ersten Fragebogenversion fast 10% diese Lebensmittel stark gebräunt zu verzehren. In der zweiten Befragung waren es nur noch 5%. Der Anteil der Personen, die "Kasseler und Schweinerippchen" kaum gebräunt essen, stieg von 37% auf 60%. Die Angaben zum Bräunungsgrad von "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" unterscheiden sich sehr zwischen der ersten und der zweiten Befragung der Teilnehmer. Von denjenigen, die Angaben zum Bräunungsgrad gemacht haben, gaben im längeren Fragebogen noch 2,6% an diese Lebensmittel sehr stark gebräunt zu essen, in der gekürzten Version sank der Anteil auf Null. Der Anteil der Teilnehmer, die angaben, diese Lebensmittel üblicherweise wenig gebräunt zu verzehren, stieg stark von 12% im langen auf 48% im kurzen Fragebogen. Die Zahl der Teilnehmer, die erklärten, "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" mäßig bzw. stark gebräunt zu verzehren, ging zurück. Während im längeren Fragebogen noch mehr als 50% der Teilnehmer angaben, "Fisch" mäßig gebräunt zu essen, waren es im kürzeren nur noch 37%. Im Gegensatz dazu machten im gekürzten Fragebogen mehr als 55% der Befragten die Angabe, Fisch nur wenig gebräunt zu verzehren.

Auch für den Bräunungsgrad wird in der folgenden Tabelle zusammengefasst, wie viele Teilnehmer der Pilotstudie in beiden Fragebogenversionen gleiche Angaben zum Bräu-

nungsgrad eines Lebensmittels gemacht haben. Als Maß der Übereinstimmung wird der gewichtete Kappa-Koeffizient berechnet.

In dieser Auswertung wurden die Angaben "sehr stark gebräunt" und "stark gebräunt" zusammengefasst, so dass die Zahl der Kategorien der Bräunungsgrad nur noch drei beträgt (vergleiche Kap. III-3.4.1).

**Tab. 20:** Übereinstimmung bezüglich des Bräunungsgrades von Lebensmitteln zwischen den beiden Fragebogenversionen

Lebensmittel	n*	übereinstimmende Antworten (%)	gewichteter Kappa-Koeffizient
Rindersteak, -filet, -lende	331	57,7	0,47
Rinderbraten, -rouladen, -gulasch	308	55,5	0,49
Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak	337	60,5	0,47
Schweinebraten, -gulasch	326	61,0	0,50
Kasseler, Schweinerippchen	284	60,2	0,54
Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes	296	40,2	0,26
Fisch	312	57,1	0,48

\*n = Anzahl der Teilnehmer, die in beiden Fragebögen Angaben zum Bräunungsgrad der fragten Lebensmittel machten (ausgeschlossen sind jene Teilnehmer, die angaben, das fragte Lebensmittel nicht zu essen)

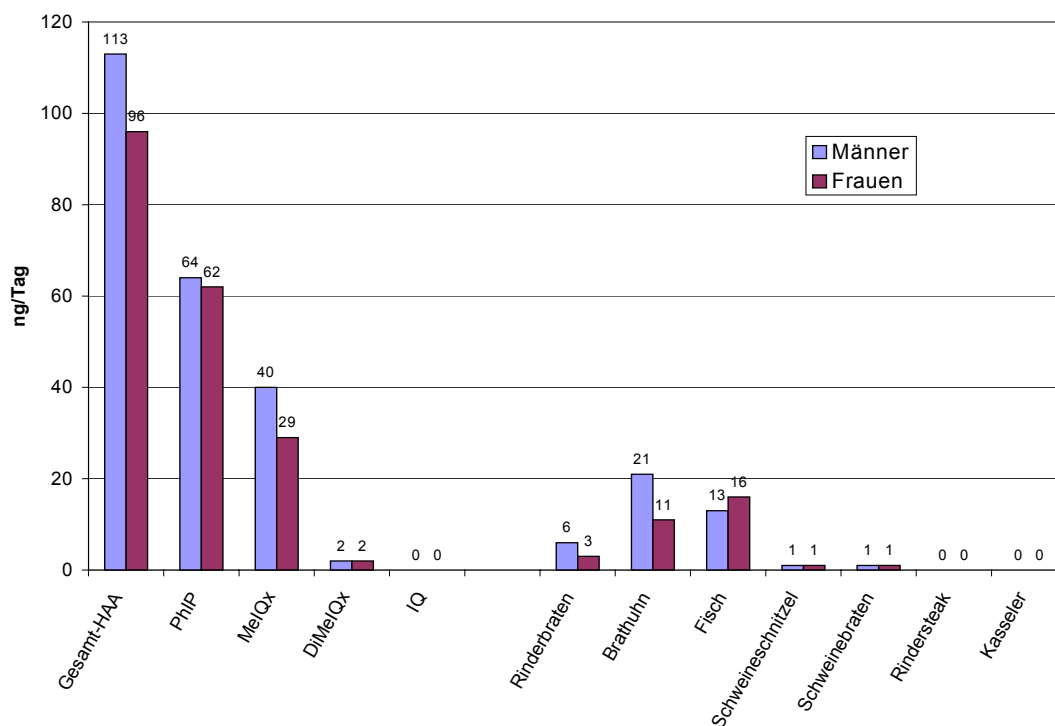
Bei den Angaben zum Bräunungsgrad machten zwischen 40,2% und 61,0% der Teilnehmer übereinstimmende Angaben in den beiden Fragebogenversionen. Am wenigsten stimmen die Angaben zu "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" überein, alle anderen Lebensmittel liegen bei 55% und mehr. Der gewichtete Kappa-Koeffizient als Maß der Übereinstimmung zwischen dem kurzen und dem längeren HAA-Fragebogen reicht von  $\kappa=0,26$  bis  $\kappa=0,54$ . Abgesehen von dem Wert für "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" liegen für alle anderen Lebensmittel die Kappa-Koeffizienten bei  $\kappa=0,47$  und mehr.

### 3 Ergebnisse des gekürzten HAA-Fragebogens

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse des gekürzten HAA-Fragebogens genauer betrachtet. Besonderes Gewicht wird dabei auf das Geschlecht und das Alter der Teilnehmer gelegt.

#### 3.1 Alimentäre HAA-Aufnahme

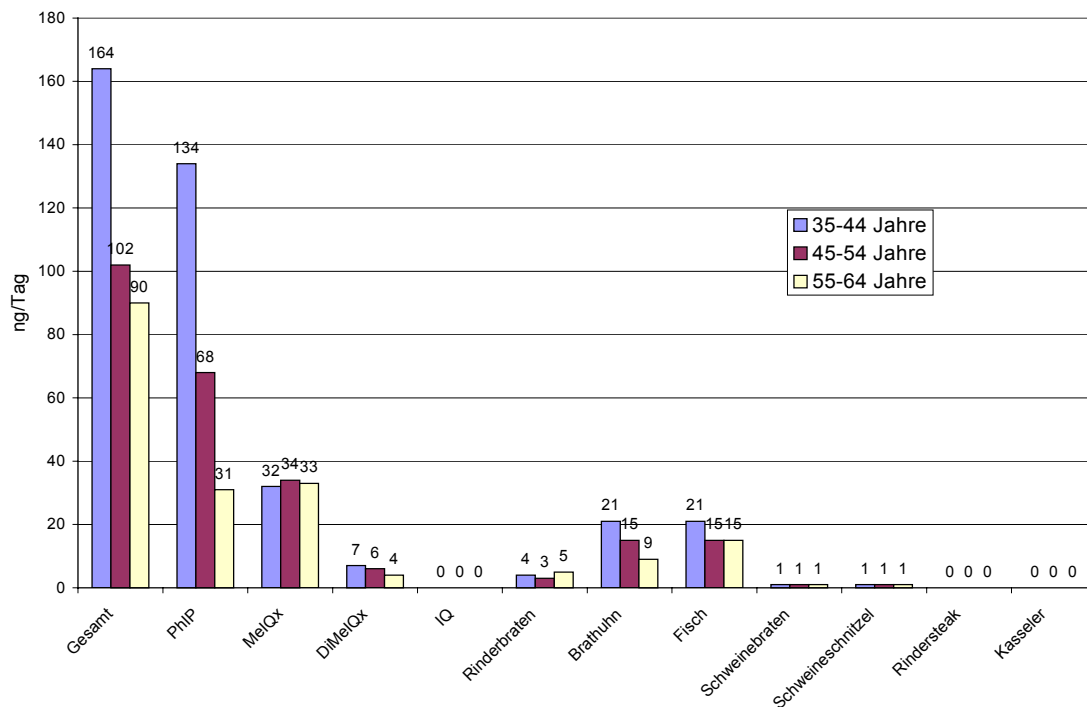
Für Männer und Frauen wurde der Median der HAA-Aufnahme, berechnet aus der langen bzw. kurzen Fragebogenversion, in Abb. 18 graphisch dargestellt.



**Abb. 18:** Median der HAA-Aufnahme berechnet aus dem kurzen HAA-Fragebogen differenziert nach einzelnen HAA und Lebensmittel für Männer und Frauen

Für Frauen zeigt sich im Vergleich zu den Männern eine geringere HAA-Gesamtaufnahme sowie eine geringere Aufnahme an PhIP und MeIQx. Lediglich die MeIQx-Aufnahme unterscheidet sich signifikant zwischen Frauen und Männern ( $p < 0,05$ ). Werden die einzelnen Lebensmittel betrachtet, gibt es signifikante Unterschiede in der HAA-Aufnahme aus „Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem“ und „Rindersteak, -filet und -lende“ (jeweils  $p < 0,05$ ; *Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben*).





**Abb. 19:** Median der HAA-Aufnahme berechnet aus dem kurzen HAA-Fragebogen differenziert nach einzelnen HAA und Lebensmittel für 10-Jahres-Altersgruppen

Bei der HAA-Gesamtaufnahme, der PhIP-Aufnahme und der HAA-Aufnahme aus "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" ist eine abnehmende Aufnahme mit dem Alter zu beobachten. Der Unterschied zwischen den Altersgruppen ist aber lediglich für "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" signifikant ( $p < 0,05$ ; *Kruskal-Wallis-Test für unverbundene Stichproben*).

Im Folgenden soll die Gesamt-HAA-Aufnahme noch einmal getrennt nach 10-Jahres-Altersgruppen für Männer und Frauen betrachtet werden.

**Tab. 21:** Median der Gesamt-HAA-Aufnahme berechnet aus der gekürzten Fragebogenversion nach Geschlecht und 10-Jahres-Alterskategorien

Altersgruppe	Männer (n=158)		Frauen (n=186)	
	n*	HAA (ng/Tag)	n	HAA (ng/Tag)
35-44**	26	180	70	196
45-54	75	154	64	91
55-64	57	100	52	70

\*n= Anzahl der Personen, \*\* an EPIC Heidelberg nehmen keine Männer zwischen 35 und 39 Jahren teil

Es wird deutlich, dass die HAA-Zufuhr in den einzelnen Alterklassen unterschiedlich hoch ist. Die höchste HAA-Aufnahme wird bei Männern wie bei Frauen in der untersten Altersklasse von 35-44 Jahre berechnet. Die Unterschiede zwischen den Altersgruppen sind jedoch weder für Frauen noch für Männer signifikant ( $p > 0,05$ ; *Kruskal-Wallis-Test für unverbundene Stichproben*).

Bei beiden Geschlechtern zeichnet sich der Trend ab, dass mit zunehmendem Alter die HAA-Aufnahme abnimmt.

Es wird deutlich, dass die HAA-Aufnahme in den einzelnen Altersgruppen zwischen Männern und Frauen variiert. Diese Unterschiede sind jedoch statistisch ebenfalls nicht signifikant ( $p > 0,05$ ; *Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben*).

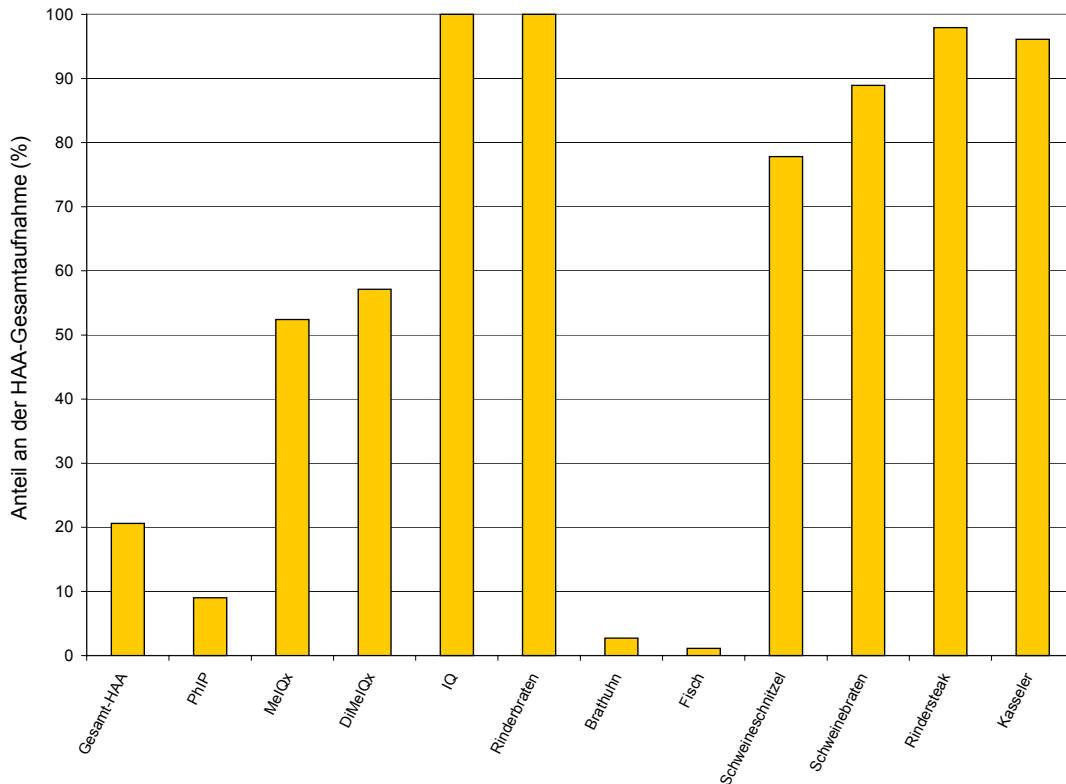
### 3.1.1 Beitrag von Fleisch und Sauce zur HAA-Aufnahme

Neben der unterschiedlichen HAA-Aufnahme in den verschiedenen Untergruppen der Studie ist weiterhin interessant, wie viel durch das Fleisch selbst bzw. durch Sauce, die aus Bratrückstand hergestellt wird, zur HAA-Aufnahme beigetragen wird.

**Tab. 22:** Median der HAA-Aufnahme (ng/d) aus verschiedenen HAAs sowie aus verschiedenen Lebensmitteln aufgeteilt in die Aufnahme aus Bratrückstand/Sauce bzw. Fleisch (n=344)

	Fleisch (ng/Tag)	Sauce (ng/Tag)
<b>Gesamt-HAA</b>	70	12
<b>PhIP</b>	53	2
<b>MeIQx</b>	15	8
<b>DiMeIQx</b>	1	0
<b>IQ</b>	0	0
<b>Rinderbraten, -gulasch, -rouladen</b>	0	4
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes</b>	10	0
<b>Fisch</b>	15	0
<b>Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak</b>	0	0
<b>Schweinebraten, -gulasch</b>	0	1
<b>Rindersteak, -filet, -lende</b>	0	0
<b>Kasseler, Schweinerippchen</b>	0	0

Aus der Darstellung wird deutlich, dass Sauce, die aus Bratensaft/Bratrückstand hergestellt wird, sowie die Weiterverwendung von Bratrückstand an sich, einen nicht unbeträchtlichen Teil zur HAA-Aufnahme beitragen. Wie hoch der jeweilige Beitrag durch Sauce und Bratrückstand ist, geht aus der folgenden Abbildung hervor.



**Abb. 20:** Anteil an der HAA-Aufnahme aus Bratrückstand bzw. daraus hergestellter Sauce für verschiedene HAA und Lebensmittel (n=344)

Der überwiegende Teil der HAA-Aufnahme stammt aus dem Fleisch selbst (79,4%). Der Anteil aus Sauce bzw. Bratrückstand schwankt zwischen 1% und 100%, abhängig vom Lebensmittel und dem HAA. Während PhIP überwiegend aus dem Fleisch selbst stammt, werden MeIQx, DiMeIQx und IQ vor allem aus Sauce aufgenommen. Bei "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" sowie bei "Fisch" werden die HAA vor allem über das Bratgut selbst aufgenommen. Bei den übrigen abgefragten Lebensmitteln stammt die HAA-Aufnahme zu über 80% aus Sauce, die aus dem Bratrückstand der Lebensmittel hergestellt wurde oder aus dem Bratrückstand, der auf andere Weise als für Sauce weiterverwendet und verzehrt wurde.

### 3.1.2 Vergleich der alimentären HAA-Aufnahme mit dem Fleischverzehr

In der folgenden Tabelle wird der Zusammenhang der HAA-Aufnahme berechnet aus dem kurzen HAA-Fragebogen mit dem Fleischverzehr dargestellt. Als Zusammenhangsmaß wird der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman angegeben.

Die Korrelationen zwischen der Verzehrsmenge eines Lebensmittels und der HAA-Aufnahme durch dieses Lebensmittel sind alle signifikant ( $p < 0,001$ ) und reichen von  $r_{sp} = 0,16$  ("Kasseler, Schweinerippchen") bis  $r_{sp} = 0,54$  ("Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes").

**Tab. 23:** Median und Spannweite der täglichen Fleischaufnahme und deren Korrelation mit der HAA-Aufnahme (n=344)

Lebensmittelitem	Median des Fleischverzehr (in g/Tag)	Spannweite des Fleischverzehr (in g/Tag)	Spearman r*
Rindersteak, -filet, -lende	1,6	0,0-30,7	0,38
Rinderbraten, -rouladen, -gulasch	5,9	0,0-85,4	0,46
Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak	4,2	0,0-50,7	0,39
Schweinebraten, -gulasch	5,3	0,0-70,1	0,52
Kasseler, Schweinerippchen	1,1	0,0-25,3	0,16
Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes	10,5	0,0-244,4	0,54
Fisch	14,3	0,0-89,0	0,48

\* Spearmanischer Korrelationskoeffizient zwischen der täglichen Verzehrmenge eines Lebensmittels und der HAA-Aufnahme durch dieses Lebensmittel; alle Korrelationen sind signifikant mit  $p < 0,001$

### 3.2 Anwendung von Zubereitungsarten für Fleisch und Fisch

In diesem Abschnitt werden die Angaben bezüglich der Zubereitungsarten im kurzen HAA-Fragebogen ausgewertet. Nicht einbezogen werden die Personen, die jeweils keine Angabe zur Häufigkeit der Verwendung einer Zubereitungsart gemacht haben sowie jene Personen, die erklärten, das gefragte Lebensmittel nicht zu essen. Tab. 24 stellt die Ergebnisse für Männer und Frauen dar, Tab. 25 die Ergebnisse für verschiedene Altersgruppen.

**Tab. 24:** Häufigkeit der Verwendung der Zubereitungsarten im kurzen HAA-Fragebogen getrennt nach Geschlecht (Angaben in Prozent der Teilnehmer)

Lebensmittel	Zubereitungsart	Geschlecht (n) <sup>1</sup>	nie <sup>2</sup>	1/4 der Fälle	1/2 der Fälle	3/4 der Fälle	immer	p-Wert <sup>3</sup>
Rindersteak, -filet, -lende	kurz-gebraten	Männer (126)	21,4	6,3	15,1	19,8	37,3	0,26
		Frauen (127)	18,1	8,7	11,8	15,0	46,5	
Rinderbraten, -rouladen, -gulasch	gebraten	Männer (122)	39,3	14,8	17,2	9,0	19,7	0,06
		Frauen (122)	51,6	13,9	11,5	7,4	15,6	
Rinderbraten, -rouladen, -gulasch	gebraten	Männer (140)	0,7	7,1	6,4	6,4	79,3	0,81
		Frauen (150)	1,3	8,7	6,7	4,7	78,7	
Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak	kurz-gebraten	Männer (136)	36,0	8,8	9,6	15,4	30,1	0,71
		Frauen (153)	29,4	9,8	16,3	17,0	27,5	
Schweinebraten, -gulasch	gebraten	Männer (133)	31,6	12,0	11,3	9,8	35,3	0,52
		Frauen (140)	30,0	15,0	16,4	10,7	27,9	
Schweinebraten, -gulasch	gebraten	Männer (129)	0,8	4,7	7,8	3,9	82,9	0,40
		Frauen (140)	2,9	7,1	5,0	5,7	79,3	
Kasseler, Schweinerippchen	kurz-gebraten	Männer (94)	39,4	6,4	12,8	8,5	33,0	0,00
		Frauen (104)	56,7	14,4	5,8	4,8	18,3	
Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes	kurz-gebraten	Männer (135)	40,0	9,6	14,8	17,8	17,8	0,68
		Frauen (157)	33,1	15,3	19,1	14,6	17,8	
	gebraten	Männer (137)	31,4	13,1	16,8	13,9	24,8	0,48
Frauen (154)		33,1	13,6	16,9	18,2	18,2		
Fisch	gegrillt	Männer (127)	61,4	10,2	18,1	5,5	4,7	0,27
		Frauen (149)	52,3	20,8	12,8	10,1	4,0	
Fisch	gebraten	Männer (145)	5,5	6,9	19,3	17,9	50,3	0,99
		Frauen (157)	7,6	6,4	17,2	17,8	51,0	
Fisch	gegrillt	Männer (136)	59,6	17,6	13,2	5,9	3,7	0,62
		Frauen (145)	62,1	17,9	11,7	4,1	4,1	

<sup>1</sup>n=Anzahl der Personen, die Angaben zur Verwendung der Zubereitungsart für das gefragte Lebensmittel machten;

<sup>2</sup>Anteil der Personen, die angaben, eine bestimmte Zubereitungsart nie zur Zubereitung eines bestimmten Lebensmittel zu verwenden;

<sup>3</sup>p = Ergebnis des Mann-Whitney-U-Test: als signifikant werden Unterschiede angesehen, wenn  $p \leq 0,05$ ;

Statistisch signifikant sind die Unterschiede in den Angaben zur Verwendung der Zubereitungsarten nur in den Gruppe "Kasseler und Schweinerippchen, kurzgebraten", ( $p < 0,05$ , *Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben*). Während 57% der Frauen, die Lebensmittel dieser Gruppe verzehren, angaben, diese nie kurzzubraten, waren es unter den Männer nur etwa 40%. Bei der Männer ist demgegenüber den Anteil derjenigen, die "Kasseler und Schweinerippchen" immer kurzgebraten essen, mit 33% höher als bei den Frauen. Die Antwort 'immer' wurde für das Kurzbraten von "Rindersteak, -filet -und lende" von Männern häufiger als von Frauen angegeben. Dies ist auch beim Braten von "Schweineschnitzel, -kotelett, -filet, -lende, und -steak" sowie von bei "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" der Fall.

Betrachtet man die Angaben zu den Zubereitungsarten für ein Lebensmittel, wird "Rindersteak, -filet und -lende" häufiger kurzgebraten als gebraten verzehrt, während dies bei "Schweineschnitzel, -kotelett, -filet, -lende, und -steak" nicht der Fall ist. Beide Zubereitungsarten wurden etwa gleich häufig angewendet. Bei "Fisch" sowie bei "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" wurde die Zubereitungsart Grillen nur von wenigen Personen verwendet. Bei beiden Lebensmittelgruppen gaben 52% bis 62% der Teilnehmer, die diese Lebensmittel essen, an diese Zubereitungsart nicht zu verwenden.

Die Unterschiede in den Angaben zu den Zubereitungsarten sind bei drei Lebensmittelgruppen signifikant unterschiedlich zwischen den drei Altersgruppen ( $p < 0,05$ , *Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben*; Tab. 25). In der Gruppe "Rinderbraten, -gulasch, -rouladen" wurde von Teilnehmern der mittleren Altersgruppe seltener als von jenen in den beiden anderen angegeben, diese Lebensmittel immer zu braten. Dieselbe Beobachtung kann für "Schweinebraten und -gulasch" gemacht werden. Bei diesen Lebensmitteln erklärte dafür aber ein höherer Anteil der Befragten der mittleren Altersgruppen, dass sie das Braten in etwa drei Viertel der Fälle zur Zubereitung von "Schweinebraten und -gulasch" verwenden. Auch bei der Zubereitung von "Fisch" zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den Altersgruppen. Ein deutlicher höher Anteil von Teilnehmern erklärte in der ältesten Gruppe, "Fisch" immer gebraten zu verzehren. Nicht signifikant, aber doch auffällig ist dementsprechend auch der Unterschied beim Grillen von Fisch. Hier gaben mehr Teilnehmer der ältesten Gruppe an, "Fisch" nie gegrillt zu essen als in den beiden jüngeren Gruppen.

**Tab. 25:** Angaben zur Häufigkeit der Zubereitungsarten im kurzen HAA-Fragebogen getrennt nach 10-Jahres-Altersgruppen (Angaben in Prozent der Teilnehmer)

Lebensmittel	Zubereitungsart	Altersgruppe (n) <sup>1</sup>	nie <sup>2</sup>	1/4 der Fälle	1/2 der Fälle	3/4 der Fälle	immer	p-Wert <sup>3</sup>
<b>Rindersteak, -filet, -lende</b>	kurzgebraten	35-44 (65)	12,3	7,7	20,0	23,1	36,9	0,96
		45-54 (103)	18,4	8,7	14,6	18,4	39,8	
		55-64 (85)	27,1	5,9	7,1	11,8	48,2	
	gebraten	35-44 (67)	38,8	23,9	19,4	9,0	9,0	0,97
		45-54 (95)	45,3	14,7	15,8	7,4	16,8	
		55-64 (82)	51,2	6,1	8,5	8,5	25,6	
<b>Rinderbraten, -rouladen, -gulasch</b>	gebraten	35-44 (80)	0,0	6,3	7,5	0,0	86,3	0,02
		45-54 (118)	1,7	9,3	7,6	11,0	70,3	
		55-64 (92)	1,1	7,6	4,3	3,3	83,7	
<b>Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak</b>	kurzgebraten	35-44 (84)	25,0	9,5	17,9	19,0	28,6	0,23
		45-54 (115)	28,7	11,3	13,9	17,4	28,7	
		55-64 (90)	44,4	6,7	7,8	12,2	28,9	
	gebraten	35-44 (81)	29,6	18,5	18,5	9,9	23,5	0,10
		45-54 (107)	31,8	15,0	15,9	10,3	27,1	
		55-64 (85)	30,6	7,1	7,1	10,6	44,7	
<b>Schweinebraten, -gulasch</b>	gebraten	35-44 (76)	1,3	5,3	5,3	2,6	85,5	0,04
		45-54 (114)	2,6	7,9	7,9	7,9	73,7	
		55-64 (79)	1,3	3,8	5,1	2,5	87,3	
<b>Kasseler, Schweinerippchen</b>	kurzgebraten	35-44 (52)	50,0	13,5	3,8	3,8	28,8	0,44
		45-54 (87)	48,3	12,6	13,8	10,3	14,9	
		55-64 (59)	47,5	5,1	6,8	3,4	37,3	
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes</b>	kurzgebraten	35-44 (87)	29,9	17,2	18,4	17,2	17,2	0,11
		45-54 (117)	34,7	15,3	17,8	16,1	16,1	
		55-64 (88)	30,7	9,1	12,5	14,8	33,0	
	gebraten	35-44 (83)	51,8	22,9	14,5	8,4	2,4	0,11
		45-54 (113)	55,8	15,0	16,8	8,0	4,4	
		55-64 (80)	62,5	10,0	13,8	7,5	6,3	
gegrillt	35-44 (83)	51,8	22,9	14,5	8,4	2,4	0,74	
	45-54 (113)	55,8	15,0	16,8	8,0	4,4		
	55-64 (80)	62,5	10,0	13,8	7,5	6,3		
<b>Fisch</b>	gebraten	35-44 (84)	6,0	8,3	23,8	14,3	47,6	0,03
		45-54 (124)	8,1	7,3	19,4	21,0	44,4	
		55-64 (94)	5,3	4,3	11,7	17,0	61,7	
	gegrillt	35-44 (83)	54,2	20,5	16,9	4,8	3,6	0,11
		45-54 (110)	58,2	19,1	13,6	5,5	3,6	
		55-64 (88)	70,5	13,6	6,8	4,5	4,5	

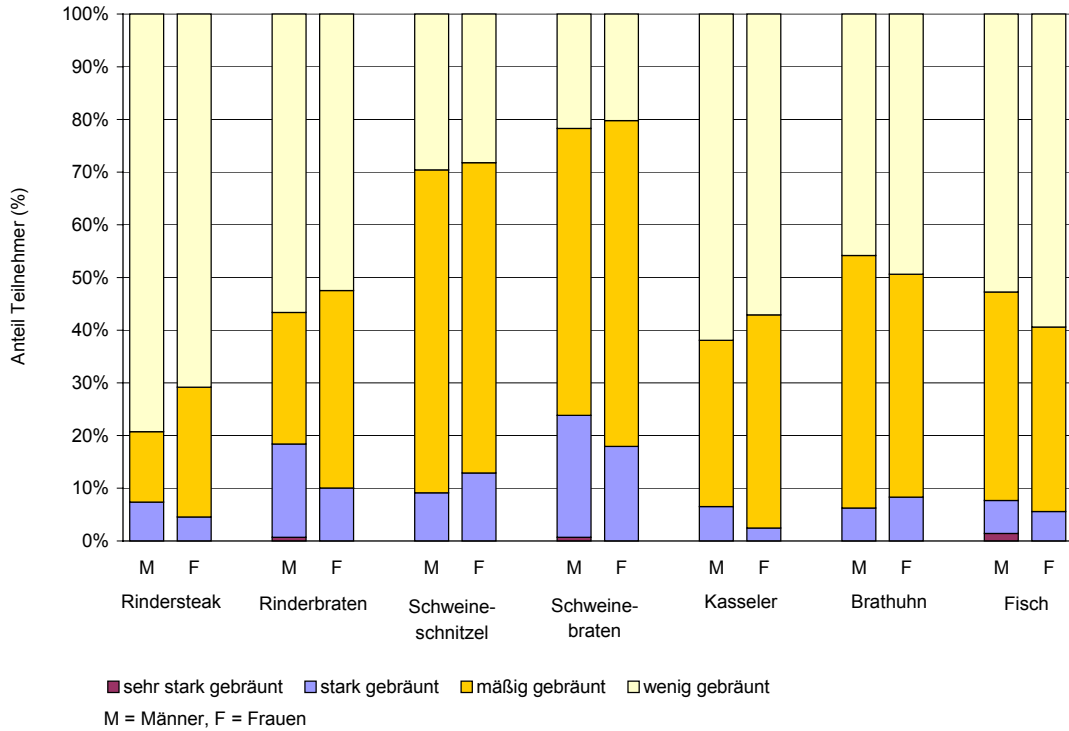
<sup>1</sup> n=Anzahl der Teilnehmer, die diese Frage beantwortet haben

<sup>2</sup> Anteil der Personen, die angaben, eine bestimmte Zubereitungsart nie zur Zubereitung eines bestimmten Lebensmittel zu verwenden;

<sup>3</sup> p = Ergebnis des Mann-Whitney-U-Test: als signifikant werden Unterschiede angesehen, wenn  $p \leq 0,05$ ;

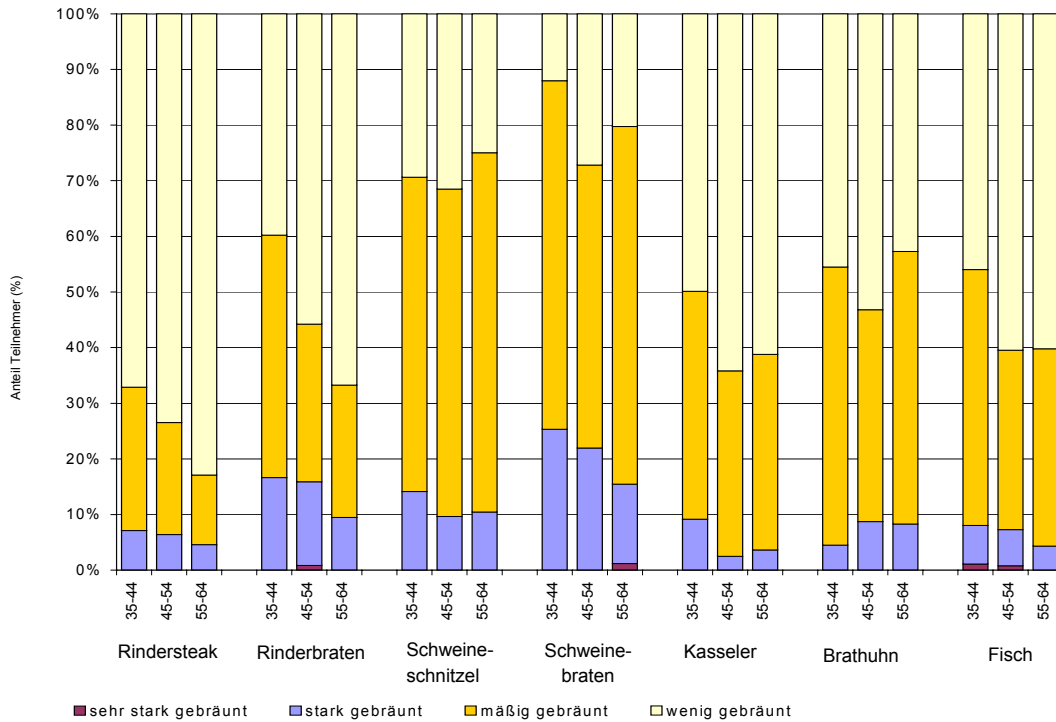
### 3.3 Bräunungsgrad der Lebensmittel

In diesem Abschnitt werden die Angaben zum Bräunungsgrad der Lebensmittel, die im kurzen HAA-Fragebogen gemacht wurden, näher untersucht. Dargestellt wird der Anteil des bevorzugten Bräunungsgrades für jene Personen, die angaben, das gefragte Lebensmittel zu verzehren. Wie auch im vorhergehenden Kapitel wird dabei auf Unterschiede zwischen Männern und Frauen (Abb. 21) und den Altersgruppen (Abb. 22) eingegangen.



**Abb. 21:** Angaben zum bevorzugten Bräunungsgrad im kurzen HAA-Fragebogen differenziert nach Geschlecht.

Die erfragten Lebensmittel werden sowohl von Männern als auch von Frauen überwiegend mäßig oder wenig gebräunt verzehrt. Keine der befragten Frauen verzehrte Fleisch oder Fisch stark gebräunt und der Anteil an Frauen, die stark gebräunte Lebensmittel essen, ist abgesehen von den Gruppen "Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet und -steak" sowie "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" geringer als bei Männern. Signifikant sind die Unterschiede jedoch für keine der erfragten Lebensmittelgruppen (jeweils  $p > 0,05$ , *Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben*).



**Abb. 22:** Angaben zum bevorzugten Bräunungsgrad im kurzen HAA-Fragebogen differenziert nach 10-Jahres-Altersgruppen

Wie in Abb. ersichtlich, zeigen sich bezüglich des Bräunungsgrades, der in den drei Altersgruppen bei den einzelnen Lebensmittelgruppen bevorzugt wird, einige Unterschiede. So nimmt der Anteil der Personen, die "Rindersteak, -filet und -lende" wenig gebräunt essen, mit dem Alter zu. Dieser Trend zeichnet sich auch in der Gruppe "Rinderbraten, -rouladen und -gulasch" ab. Lediglich in der letztgenannten Lebensmittelgruppe sind die Angaben zum Bräunungsgrad in den Altersgruppen signifikant unterschiedlich ( $p < 0,05$ ; *Kruskal-Wallis-Test für unverbundene Stichproben*). Bei anderen Lebensmitteln sind zwar Unterschiede zu sehen, diese sind aber nicht signifikant und es ist kein Trend in eine Richtung zu erkennen.



## IV DISKUSSION

### 1 Datengrundlage zur Berechnung der HAA-Aufnahme

Ziel der vorgestellten Pilotstudie war die Entwicklung eines kurzen Fragebogens zur Erfassung der alimentären Aufnahme an HAA. Zur Berechnung der HAA-Aufnahme aus den Teilnehmerangaben des Fragebogens sind Daten zum HAA-Gehalt in den erfragten Lebensmitteln unter bestimmten Zubereitungsbedingungen notwendig.

Aus logistischen und finanziellen Gründen war es in der vorliegenden Studie nicht möglich, eine eigene Datenbasis zum Gehalt verschiedener HAA in zubereiteten Fleisch- und Fischarten zu erstellen, die im FFQ von EPIC-Heidelberg abgefragt wurden.

Aus diesem Grund wurde auf Analysedaten zurückgegriffen, die in der internationalen Literatur verfügbar sind. Dieses Vorgehen wurde schon in früheren Studien verschiedener Arbeitsgruppen angewandt (Layton et al. 1995, de Stefani et al. 1997a, 1997b, 1998a, 1998b, Thomson et al. 1996). So haben de Stefani et al. (1997a, 1997b) in einigen Fall-Kontroll-Studien zum Einfluss der HAA-Aufnahme auf das Krebsrisiko von Brust, Kolon und der oberen Atemwege die Ergebnisse von bis zu elf verschiedenen Arbeitsgruppen verwendet. Diese hatten jeweils die Analysedaten zum HAA-Gehalt von Lebensmitteln veröffentlicht. Das damit verbundene Problem ist die uneinheitliche Basis, auf der die Werte beruhen. So sind die verwendeten Analysemethoden teilweise unterschiedlich und auch die Vorgehensweise bei der Zubereitung der in den Studien untersuchten Lebensmittel unterscheidet sich voneinander. Aus diesem Grund betrachten de Stefani et al. (1997a, 1997b) ihre Berechnungen nur als ersten Versuch zur Klärung des Zusammenhangs zwischen der HAA-Aufnahme und dem Krebsrisiko.

Die Benutzung möglichst einheitlich gemessener Daten aus nur vier Arbeitsgruppen, wie es in der vorliegenden Arbeit gemacht wurde, hat demgegenüber einige Vorteile. Von jeder Arbeitsgruppe wurden Analysen zum HAA-Gehalt eines Lebensmittels bei verschiedenen Zubereitungsarten und Gartemperaturen gemacht. Das gewährleistet standardisierte Daten für zumindest ein Lebensmittel in verschiedenen Zubereitungen und verschiedenen Bräunungs- bzw. Garegraden.

Eine weitere Schwierigkeit liegt darin, dass es zwar Daten zu verschiedenen Zubereitungsmethoden gibt, diese aber in einzelnen Ländern sehr unterschiedlich definiert und interpretiert werden. So kann „Grillen“ z. B. Grillen im Backofen, auf dem Elektrogrill oder über dem offenen Feuer bedeuten (de Stefani 1998a, WCRF 1997) und auch die Garegrade eines Fleischstückes können sehr unterschiedlich interpretiert werden. In Frankreich beispielsweise bedeutet 'medium', dass das Fleisch innen hellrosa ist, während es in England dann schon ganz durchgebraten ist. Dies alles macht die Vergleichbarkeit von Daten, die in verschiedenen Ländern und Laboren gewonnen wurden, sehr schwierig.

Dass dieser Punkt aber auch schon bei einer einzelnen Person zu Unterschieden in der Einschätzung des Garegrades führen kann, zeigt eine US-amerikanische Studie. Keating et al. (2000) baten in einer Untersuchung die Probanden zunächst in einem Fragebogen den üblicherweise bevorzugten Garegrad für verschiedene Lebensmittel anzugeben. In einem zweiten Schritt haben die Teilnehmer die Lebensmittel im Haushalt in der von ihnen bevorzug-

ten Art zubereitet. Bei 45% der Teilnehmer stimmte die vorher gemachte Angabe zum üblichen Garegrad nicht mit dem Garegrad überein, den das Lebensmittel nach der Zubereitung durch den Teilnehmer hatte. Hieraus können Verzerrungen in der Berechnung des Krebsrisikos durch die HAA-Aufnahme resultieren (Thomson 1999). Der letzte Punkt kann dadurch umgangen werden, dass Bilder zur Erhebung des Garegrades verwendet werden (Byrne et al. 1998) oder wie in den schwedischen Untersuchungen (Augustsson et al. 1997) sowie in der vorliegenden Studie Bilder zum Bräunungsgrad des Lebensmittels. Somit kann den Studienteilnehmern eine Hilfestellung zur Einschätzung ihrer Verzehrsgewohnheiten gegeben und eine möglichst einheitliche Erfassung der HAA-Aufnahme gewährleistet werden. Diese Einschätzung wird durch Ergebnisse einer Untersuchung von Keating et al. (2000) bestätigt. Sie stellten fest, dass der berechnete HAA-Gehalt besser dem analytisch bestimmten HAA-Gehalt in einem Lebensmittel entsprach, wenn der Garegrad des Lebensmittels von der befragten Person mittels eines Bildes bestimmt worden war im Vergleich zur verbalen Beschreibung des Garegrades.

Ein weiteres Problem der Nutzung von Literaturdaten zur Berechnung der HAA-Aufnahme ist, dass für einige „typisch“ deutsche Lebensmittel, wie z. B. Fleischkäse, keine Analysendaten vorliegen. In diesen Fällen wurden Daten ähnlicher Lebensmittel verwendet. Für Fleischkäse wurden beispielsweise die schwedischen Daten von Fallunwurst verwendet. Inwieweit dies einen Unterschied in der HAA-Aufnahme ausmacht, lässt sich nicht oder nur schwer abschätzen, weil sich, auch wenn es Ähnlichkeiten zwischen den Lebensmitteln gibt, die Zusammensetzung in Fett-, Eiweiß- und Kohlehydratgehalt unterscheidet.

Zur Berechnung der HAA-Aufnahme haben die Teilnehmer in der Heidelberger Pilotstudie angegeben, welchen Bräunungsgrad sie bei einem bestimmten Lebensmittel bevorzugen. Die Einschätzung des Bräunungsgrades wurde mit Hilfe von Bildern vorgenommen. Die Lebensmittel, die auf diesen Bildern zu sehen sind, wurden nach dem Fotografieren auf ihren HAA-Gehalt analysiert (Augustsson et al. 1997). Die Angabe eines Teilnehmers in der Heidelberger Studie, dass ein Lebensmittel, wenn er es verzehrt, so aussieht wie auf einem der Bilder, bedeutet aber nicht, dass der HAA-Gehalt auch dem entspricht, der in der schwedischen Untersuchung gemessen wurde. Keating et al. (2000) zeigten, dass sowohl die Beschaffenheit des Fleisches (Dicke des Fleischstückes, Wassergehalt), die Zubereitung (Verwenden von Gewürzen und Marinaden) sowie das Gargeschirr (Töpfe und Pfannen aus verschiedenen Materialien, die die Wärme unterschiedlich weiterleiten) den HAA-Gehalt in einem Lebensmittel beeinflussen. Somit sind die berechneten HAA-Aufnahmen nur Schätzungen. Die berechnete HAA-Aufnahme kann über- oder unterschätzt sein.

Eine Möglichkeit zur Überprüfung, inwieweit die berechnete HAA-Aufnahme auf Basis der vorhandenen Daten mit der tatsächlich mit einer bestimmten Fleischmahlzeit aufgenommenen HAA-Menge übereinstimmt, wäre die Anwendung der Duplikatmethode (Schneider 1997). Hierbei bereitet ein Studienteilnehmer eine Mahlzeit zu, wobei anschließend eine Hälfte dieser Mahlzeit im Labor auf ihren Gehalt an HAA untersucht wird. Diese Methode ist allerdings sehr aufwendig und in einer Studie wie EPIC nur in einer kleinen Stichprobe zu realisieren.

Einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf die berechnete HAA-Aufnahme hat die Verwendung von Daten unterschiedlicher Herkunft. In der vorliegenden Arbeit wurde zur Berechnung der HAA-Aufnahme aus gegrilltem Huhn auf die Daten von Sinha et al. (1995a) zurückgegriffen. In ihren Analysen wurden hohe HAA-Konzentrationen, v. a. hohe Werte an PhIP, gemessen, was auf den starken Bräunungsgrad unter entsprechender Temperatureinwirkung zurückzuführen ist. Bei Verwendung dieser Daten hat die Lebensmittelgruppe "Huhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes, gegrillt" einen starken Einfluss auf die HAA-Aufnahme. Die Daten von Sinha et al. (1995a) wurden verwendet, da es sich um die einzigen systematisch bestimmten Analysen zu gegrilltem Huhn handelt, die unter hausüblichen Bedingungen gewonnen wurden. Jedoch ist die Frage zu stellen, ob US-amerikanische Gewohnheiten zur Zubereitung von Huhn den deutschen entsprechen. Zum Beispiel können Gewohnheiten hinsichtlich des Bräunungsgrades unterschiedlich sein. Aus diesem Grund könnte es angebracht sein, andere Daten zu verwenden. Würden alternativ die schwedischen Werte für kurzgebratenes Huhn verwendet, hätte dies einen nicht unerheblichen Einfluss auf die berechnete Aufnahme. Daten für kurzgebratenes Fleisch auch für die entsprechenden gegrillten Fleischstücke zu verwenden, wurde in schwedischen Arbeiten (Augustsson et al. 1997) sowie in der Arbeitsgruppe von Layton et al. (1995) praktiziert. Auch in der vorliegenden Studie wurde beim Fehlen entsprechender Analysedaten für gegrilltes Fleisch in dieser Weise vorgegangen. Layton et al. (1995) begründeten dies mit der Feststellung, dass beim Kurzbraten und Grillen vergleichbare Mengen an HAA gebildet werden.

Werden in der vorliegenden Arbeit anstatt der US-amerikanischen Daten die schwedischen verwendet, sinkt die HAA-Gesamtaufnahme. Insbesondere geht die Menge an PhIP stark zurück, da in den US-amerikanischen Proben von Sinha et al. (1995a) das Fleisch sehr dunkel gegrillt und hohe PhIP-Konzentrationen gemessen wurden. Werden die schwedischen Daten für kurzgebratenes Huhn auch für gegrilltes verwendet, verringert sich der Median der Gesamtaufnahme an HAA von 89 ng/Tag auf 62 ng/Tag. Der Median der Aufnahme aus „Huhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem“ sinkt von 15ng/Tag auf 7 ng/Tag. Der Beitrag von „Huhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem, gegrillt“ zur Gesamtaufnahme macht statt der berechneten 53,4% nur noch 6,9% aus. Der Anteil von PhIP an der HAA-Gesamtaufnahme beträgt in diesen Berechnungen nur 61,9% anstatt 80,2%, der Anteil der anderen drei HAA erhöht sich entsprechend.

Zur Berechnung der HAA-Menge wird auf Verzehrsmengen des FFQ der Rekrutierung zurückgegriffen, die schon einige Jahre alt sind. Erhoben wurden die Daten zwischen 1994 und 1998, die Daten der Teilnehmer der vorliegenden Validierungsstudie in der zweiten Hälfte 1997. Damit liegt ein Zeitraum von bis zu 18 Monaten zwischen der Erhebung der verzehrten Fleischmenge und der Erhebung der Zubereitungsmethoden. Während dieser Zeit können Personen ihr Ernährungsverhalten geändert haben (Willett 1998, Block & Hartman 1989), so dass zwar die Angaben zur Zubereitung von Fleisch und Fisch aktuell sind, die Angaben zur Verzehrsmenge jedoch nicht mehr. Einige Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass sich Ernährungsgewohnheiten nur langsam verändern und ein Zeitraum von ein bis zwei Jahren noch akzeptabel für eine Validierungsstudie ist (Goldbohm et al. 1995, Järvinen et al. 1993, Møller Jensen et al. 1984).

## 2 Verfahren zur Kürzung des Fragebogens

### 2.1 *Vergleich der varianzbezogenen Verfahren*

Die mit Hilfe von Max\_r für die gekürzte Version des Fragebogens ausgewählten Lebensmittel und Zubereitungsverfahren werden mit den Ergebnissen der schrittweisen logistischen Regressionsanalyse verglichen. Die Lebensmittel, die von beiden Verfahren als die wichtigsten zur Erfassung der interpersonellen Varianz der HAA-Aufnahme einbezogen wurden, waren bei beiden Methoden dieselben. Die Rangfolge, in der sie ausgewählt wurden, war jedoch unterschiedlich. So wurde beispielsweise "Fisch, gegrillt" von Max\_r als neuntes Lebensmittel ausgewählt, von der Regression als zehntes. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt Klein (1998), die mit Hilfe der genannten Verfahren Kurzlisten zur Erfassung verschiedener Antioxidantien entwickelte. Auch bei ihr waren die Ergebnisse der Regressionsanalyse denen von Max\_r sehr ähnlich. Mark et al. (1996) erstellten für sieben Nährstoffe Kurzlisten mit Hilfe der beiden Verfahren. Für drei der sieben Nährstoffe war die Auswahl der wichtigsten zehn Lebensmittel jeweils identisch. Bei den anderen Nährstoffen unterschieden sich die Listen in maximal drei von zehn der ausgewählten Lebensmittel.

Der Vorteil von Max\_r gegenüber der Regressionsanalyse liegt in der Nicht-Verwendung der Regressionskoeffizienten, die bei dem zweitgenannten Verfahren berechnet werden. Bei Max\_r wird der Einfluss der Lebensmittel ohne diese Gewichtungsfaktoren berechnet, was die Berechnung der Nährstoffaufnahme aus einer erstellten Kurzliste vereinfacht. In Fragebögen, die auf der Basis der schrittweisen Regression erstellt wurden, sollten die Regressionskoeffizienten zur Auswertung der Fragebögen und zur Berechnung der Nährstoffaufnahme einbezogen werden. Werden Regressionskoeffizienten nicht einbezogen, führt dies zu einer Verzerrung in der Berechnung der Nährstoffaufnahme, deren Ausmaß nur schwer zu bestimmen ist (Mark et al. 1996).

Weiterhin konnten Mark et al. (1996) zeigen, dass die von Max\_r ausgewählten Lebensmittel gegenüber jenen, die mittels der Regressionsanalyse ausgewählt wurden, besser in der Lage waren, den Effekt eines Nährstoffes auf das Erkrankungsrisiko zu schätzen.

### 2.2 *Vergleich mit der bevölkerungsbezogenen Methode*

Werden die von Max\_r bzw. der schrittweisen logistischen Regression ausgewählten Lebensmittel mit jenen verglichen, die nach den Ergebnissen der längeren Fragebogenversion den größten Beitrag zur HAA-Aufnahme beitragen, zeigt sich, dass zwar die Auswahl der ersten elf Lebensmittel gleich ist, die Reihenfolge der Lebensmittel sich jedoch unterscheidet. Diese Beobachtung wurde auch in einer schwedischen Untersuchung gemacht (Voskuil et al. 1999). In dieser Studie waren die Lebensmittel, die am meisten zur täglichen HAA-Aufnahme beitrugen, nicht mit jenen identisch, die die interpersonelle Varianz am besten erklären konnten.

Diese Beobachtung tritt nicht nur bei HAA auf, sondern ist auch bei anderen Nährstoffen gegeben. Betrachtet man z. B. die Lebensmittel, die den höchsten Beitrag zur  $\beta$ -Carotin-Aufnahme leisten, sind von den zehn wichtigsten Lebensmitteln in der Auswahl von Max\_r

acht vertreten (Klein 1998). Die Reihenfolge der von Max\_r ausgewählten Lebensmittel unterscheidet sich für die acht identischen Lebensmittel. So trägt Gemüsesaft als fünftes Lebensmittel 5,7% zur  $\beta$ -Carotin-Aufnahme bei, aber als wichtigstes Lebensmittel in Max\_r erreicht es einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von  $r=0,30$ . Hiermit bestätigte Klein (1998) die Ergebnisse von Mark et al. (1996). Für sieben Nährstoffe unterschieden sich die zehn wichtigsten Lebensmittel, die von Max\_r bzw. auf Basis der bevölkerungsbezogenen Methoden ermittelt wurden, um bis zu fünf Lebensmittel.

### **2.3 Auswahl der Lebensmittel**

In die gekürzte Version des HAA-Fragebogens wurden in der Heidelberger Pilotstudie alle Lebensmittel einbezogen, die zusammen einen Personenschen Korrelationskoeffizienten von  $r=1,0$  (gerundet) erreichen und damit eine Varianz von 99% erklären. Von Willett (1998) wurde vorgeschlagen, all jene Lebensmittel in einen Kurzfragebogen einzubeziehen, die mindestens 80% der interpersonellen Varianz erklären. Bei dieser Vorgehensweise wären nur drei Kombinationen aus Lebensmittel und Zubereitungsart ausgewählt worden. Die Gefahr eines sehr kurzen Fragebogen besteht in der Fehlklassifikation der Befragten. Klein (1998) zeigte am Beispiel verschiedener Mikronährstoffe, dass mit kürzer werdenden Lebensmitteln die Fehlklassifikation zunimmt. Je kürzer die Lebensmittelliste war, desto größer war der Anteil an Personen, die im Quintilsvergleich in entgegengesetzte Quintile eingeordnet wurden. Da "Brathuhn, Putenschnitzel, und -geschnetzeltes" in der Heidelberger Studie von 45% der Befragten nie gegrillt verzehrt wird, besteht die Möglichkeit, dass die HAA-Aufnahme jener Personen stark unterschätzt wird und diese Personen fehlklassifiziert werden. Um dies zu vermeiden, und um mit Hilfe des gekürzten Fragebogens auch einen Überblick über die Zubereitung von häufig verzehrten Fleischarten und Fisch zu bekommen, wurde eine größere Anzahl von Lebensmitteln in die gekürzte Version des HAA-Fragebogens einbezogen.

In der vorliegenden Pilotstudie wurden die Lebensmittelgruppen "Rindersteak, -filet und -lende", "Rinderbraten, -gulasch und -rouladen", "Schweineschnitzel, -kotelett, -steak, -filet und -lende", "Schweinebraten und -gulasch", "Kasseler und Schweinerippchen", "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" und "Fisch" als die wichtigsten zur Erfassung der alimentären HAA-Aufnahme sowie zur Erklärung der interpersonellen Varianz in der HAA-Aufnahme ermittelt. Damit unterscheidet sich die Auswahl deutlich von anderen Studien, die auch eine Kürzung der Liste an Lebensmitteln zur Ermittlung der HAA-Aufnahme vornahmen (Voskuil et al. 1999, Byrne et al. 1998).

In der Untersuchung von Voskuil und Augustsson (Voskuil et al. 1999) waren die wichtigsten Lebensmittel zur Erklärung der interpersonellen Varianz Schweinekotelett, Speck, Frikadellen, Rinderbraten, Schweinelende, Schweinebauch, Schweinefilet, Brathuhn, Fisch und Hackfleischsauce. Ein Großteil der genannten Lebensmittel ist identisch mit den in der Heidelberger Pilotstudie abgefragten Lebensmitteln. Allerdings tragen hier Frikadellen, Speck und Schweinebauch nur wenig zur HAA-Aufnahme bzw. zur Erklärung der interpersonellen Varianz bei. In der US-amerikanischen Untersuchung umfasste der letztendlich entwickelte Kurzfragebogen Huhn, Fisch, Rinderbraten (Roast Beef), Rindersteak und Sau-

ce zu Rinderbraten und die Zubereitungsarten Braten in der Pfanne, Grillen und Braten im Ofen (Byrne et al. 1998). Die in diesem gekürzten Fragebogen enthaltenen Lebensmittel werden auch in dem hier vorgestellten Instrument erfragt.

#### **2.4 Auswirkung der Kürzung des längeren HAA-Fragebogens**

Betrachtet man die Folgen der Kürzung der Liste an Lebensmitteln und Zubereitungsarten auf die Erfassung der HAA-Aufnahme, wird deutlich, dass die gekürzte Liste die HAA-Gesamtaufnahme zu 89%, die PhIP-Aufnahme zu 79%, die MeIQx-Aufnahme zu 92% und die DiMeIQx-Aufnahme zu 50% erfasst. Der Spearman Rangkorrelationskoeffizient reicht von  $r=0,95$  bis  $r=0,99$ . Zwischen 88% und 91% der Teilnehmer werden durch die vollständige bzw. die gekürzte Liste an Lebensmitteln und Zubereitungsarten in das gleiche Quintil eingeteilt. Der gewichtete Kappa-Koeffizient reicht von  $\kappa=0,91$  bis  $0,94$ , was für eine sehr gute Übereinstimmung spricht (Feinstein 1985).

Es wurden bisher nur zwei weitere Studien veröffentlicht, die sich ebenfalls mit der Erstellung von kurzen Fragebögen zur Erfassung der HAA-Aufnahme befassen (Voskuil et al. 1999, Byrne et al. 1998). Beide werden im Folgenden kurz beschrieben.

In einer Fall-Kontroll-Studie über den Zusammenhang zwischen Fleisch- und Fischzubereitung, HAA-Aufnahme und Krebshäufigkeit wurden die Folgen der Kürzung eines HAA-Fragebogens auf die Validität des Fragebogens untersucht (Voskuil et al. 1999) Insgesamt 1056 Krebsfälle und 548 Kontrollen füllten einen ausführlichen FFQ aus, in dem 27 in der Pfanne gebratene, 16 im Ofen gebratene, elf gekochte und vier gegrillte Fleischgerichte sowie sieben Fischgerichte, zwei Eierspeisen, eine typisch schwedische Wurst (Blood Pudding) und vier Sorten von Saucen erfasst wurden. Für diese Lebensmittel wurden der Bräunungsgrad erfasst und die HAA-Aufnahme berechnet. Mittels schrittweiser Regression wurden die Lebensmittel nach ihrer Wichtigkeit für die HAA-Aufnahme bewertet.

In der Untersuchung von Byrne et al. (1998) aus den USA wurden in drei großen US-amerikanischen Kohortenstudien Zufallsstichproben mit je 250 Personen gezogen. Die 216 bis 231 letztendlich pro Kohorte teilnehmenden Personen füllten einen vierseitigen Fragebogen aus, der die Verzehrshäufigkeit sowie den Bräunungsgrad von acht Lebensmitteln in verschiedenen Zubereitungsarten erfragte. Auch hier wurden die HAA-Aufnahme der Lebensmittel in verschiedenen Zubereitungsarten berechnet und die Wichtigkeit der einzelnen Kombinationen mittels schrittweiser linearer Regression ermittelt. Dies wurde für jede der drei Gruppen getrennt durchgeführt.

Die Ergebnisse der in Heidelberg durchgeführten Studie, die einige Absätze weiter oben erwähnt wurden, sind vergleichbar mit jenen von Voskuil et al. (1999), die mit 15 Lebensmitteln einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von  $r=0,98$  und mit zehn Lebensmitteln von  $r=0,96$  im Vergleich mit der HAA-Gesamtaufnahme erreichten. Auch sie teilen die Studienteilnehmer auf der Basis der HAA-Aufnahme aus allen Lebensmitteln und einer gekürzten Liste in Quintile ein und vergleichen die Einteilung. Werden in die gekürzte Liste

zehn Lebensmittel einbezogen, fallen 86% der Teilnehmer in dasselbe Quintil, bei 15 Lebensmitteln sind es 91%. Der Kappa-Koeffizient beträgt  $\kappa=0,82$  bzw.  $0,89$ . Die Übereinstimmung kann als sehr gut bezeichnet werden (Feinstein 1985). In der hier vorgestellten Untersuchung ist die Gleichklassifikation für die HAA-Gesamtaufnahme gleich gut, für die einzelnen HAA ist sie etwas geringer.

Bei Voskuil et al. (1999) erreicht das Lebensmittel, das die interpersonelle Varianz am besten erklärt (gebratenes Kotelett), einen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten von  $r=0,7$  mit der Gesamtaufnahme an HAA. Dieses Lebensmittel erklärt 49% der interpersonellen Varianz. Mit fünf Lebensmitteln werden mehr als 90% der interpersonellen Varianz erklärt, während dieselben fünf Lebensmittel nur 45% zur HAA-Gesamtaufnahme beitragen. In der vorliegenden Heidelberger Pilotstudie werden mit "Rinderbraten, -rouladen und -gulasch, gebraten" 58% der Varianz erklärt, mit drei Lebensmittelgruppen werden mehr als 90% der Varianz erklärt. Diese Lebensmittel tragen jedoch nur 60,1% zur Gesamt-Aufnahme an HAA bei. Ähnliche Resultate, allerdings getrennt für PhIP, MeIQx und DiMeIQx, nicht für Gesamt-HAA, gibt es auch in der Untersuchung von Byrne et al. (1998).

### 3 Validierung des HAA-Fragebogens

#### 3.1 *Validierung des HAA-Fragebogens mit einem anderen Erhebungsinstrument*

Mit Hilfe der Validierung eines Fragebogens sollen Aussagen zu systematischen Abweichungen von der Wirklichkeit gemacht werden. Die Validität eines Fragebogens sagt folglich etwas darüber, ob ein Instrument den ihm zugeordneten Zweck erfüllt (Willett 1998, Block & Hartman 1989, Block 1982).

Bei der Validierung von Methoden, die verschiedene Aspekte der menschlichen Ernährung erfassen sollen, gibt es das Problem des fehlenden sog. Gold-Standards. Dies bedeutet, dass kein Erhebungsinstrument existiert, das die Ernährung ohne Abweichungen von der Realität wiedergeben kann. Da alle Verfahren spezifische Nachteile haben, wird in der Ernährungsepidemiologie der Begriff der relativen Validität verwendet, was bedeutet, dass ein neues Verfahren gegen ein etablierteres, für genauer befundenes Verfahren validiert wird (Block & Hartman 1989).

Bisher existiert keine praktikable Möglichkeit zur exakten Validierung eines Erhebungsinstrumentes für die HAA-Aufnahme. Eine Möglichkeit zur Validierung der Fragebögen bietet die Duplikatmethode, bei der die Mahlzeit einer Person auf zwei Portionen verteilt wird (Schneider 1997). Eine dieser beiden Portionen kann dann im Labor auf den HAA-Gehalt hin untersucht werden. Problematisch ist daran, dass die Analyse sehr aufwendig ist und über mehrere Tage hinweg für eine größere Anzahl von Personen der HAA-Gehalt aller Mahlzeiten ermittelt werden müsste. Der damit verbundene finanzielle Aufwand und die erforderliche hohe Kooperationsbereitschaft der Teilnehmer macht diese Methode aber zu einem ungeeigneten Instrument.

Die Erhebung eines Ernährungsprotokolles ist in diesem Zusammenhang auch nicht geeignet, da die Datenbasis zur Berechnung der HAA-Aufnahme zu klein ist. Mit einem Ernährungsprotokoll werden die verzehrten Lebensmittel sehr genau erfasst, der HAA-Gehalt wurde jedoch nur für einige Lebensmittel ermittelt. Demzufolge liegen für einen Teil der in einem Protokoll genannten Lebensmittel keine Daten vor, es müssten Annahmen über den HAA-Gehalt getroffen werden und der HAA-Gehalt von Lebensmitteln eingesetzt werden, die den genannten von ihrer Zusammensetzung am nächsten kommen. Dies führt möglicherweise zur Über- oder Unterschätzung der HAA-Aufnahme, wenn der angenommene HAA-Gehalt eines Lebensmittels nicht dem tatsächlichen entspricht. Zum zweiten sollten die Ernährungsprotokolle über ein Jahr verteilt erhoben werden, um jahreszeitlich unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten wie häufiges Grillen im Sommer ausreichend zu erfassen. Damit sind die Anforderungen an die Kooperationsbereitschaft der Teilnehmer sehr hoch. Es besteht die Gefahr, dass ein geringerer Fleischkonsum als tatsächlich vorhanden angegeben wird oder es könnte dazu kommen, dass in der Zeit der Führung des Ernährungsprotokolles weniger Fleisch als üblich verzehrt wird. Folglich ist eine Unterschätzung der HAA-Aufnahme durch ein Ernährungsprotokoll nicht auszuschließen.

Aus den genannten Gründen wurde in der vorliegenden Studie so vorgegangen, dass zunächst ein ausführlicher Fragebogen erstellt wurde, der eine große Anzahl von Fleischarten



und Fisch, die für die HAA-Aufnahme relevant sind oder sein könnten, in verschiedenen Zubereitungsformen abfragt. Dieser Fragebogen wurde an eine Anzahl von EPIC-Teilnehmern verschickt und diente zur Berechnung der HAA-Aufnahme. Aus den Ergebnissen, die diese längere Fragebogenversion lieferte, wurde eine gekürzte Fragebogenversion erstellt, in der nur die für die HAA-Aufnahme relevanten Lebensmittel und Zubereitungsarten abgefragt werden. Die Ergebnisse der längeren und gekürzten Version wurden dann miteinander verglichen.

Strenggenommen handelt es sich dabei nicht um eine Validierung im eigentlichen Sinne, da die längere Version des HAA-Fragebogens ein nicht validiertes Instrument ist. Es wird aber angenommen, dass dieses Instrument die HAA-Aufnahme genauer erfassen kann als eine gekürzte Version, da es eine größere Zahl von Lebensmitteln und Zubereitungsarten abfragt. Auch Byrne et al. (1998) gingen in ihrer Untersuchung davon aus, dass ein längerer Fragebogen die HAA-Aufnahme genauer erfasst. Auch sie haben dann die Ergebnisse des längeren Fragebogens genutzt, um ein kürzere Version zu erstellen.

### **3.1.1 Alimentäre HAA-Aufnahme**

Bei dem Vergleich der beiden Fragebogenversionen wird deutlich, dass sich die HAA-Aufnahme in den meisten Fällen nicht signifikant voneinander unterscheidet.

Der Median der Gesamt-HAA-Aufnahme wie auch der der Aufnahme an PhIP und MeIQx sowie die HAA-Aufnahme aus einigen Lebensmitteln sind im kurzen Fragebogen höher als im langen. Betrachtet man dazu aber auch die Spannweiten der Aufnahme, zeigt sich bei dem kurzen Fragebogen in fast allen Fällen eine deutlich geringere Spannweite. Besonders deutlich ist das bei der Gesamt-HAA-Aufnahme, bei der PhIP-Aufnahme sowie der HAA-Aufnahme aus "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem".

Eine Erklärung hierfür ist in der Veränderung der Liste der Zubereitungsarten, die pro Lebensmittel im gekürzten Fragebogen abgefragt werden, zu suchen. Werden weniger Zubereitungsarten abgefragt, verändert sich die Häufigkeitsangabe der Probanden, d. h., wenn weniger zur Auswahl steht, wird diese Zubereitungsart als häufiger verwendet angegeben (weil die Probanden vielleicht nicht an andere Möglichkeiten der Zubereitung denken). Da die im kurzen Fragebogen zur Auswahl gestellten Lebensmittel und Zubereitungsmethoden in der Regel solche sind, die zu einer hohen HAA-Bildung führen, kann die berechnete HAA-Aufnahme im kurzen Fragebogen höher sein als im langen. Andererseits ist die Spannweite in fast allen Fällen im längeren Fragebogen größer als im kürzeren, die 95%-Perzentile liegt in den meisten Fällen jedoch in den beiden Fragebogenversionen nah beieinander.

Die Korrelationen reichen überwiegend von  $r=0,44$  bis  $r=0,60$  für alle Teilnehmer. Lediglich der Korrelationskoeffizient zwischen der HAA-Aufnahme aus "Kasseler und Schweinerippchen" aus dem langen und dem gekürzten Fragebogen ist mit  $r=0,27$  sehr gering. Die sehr niedrige Korrelationen für "Kasseler und Schweinerippchen" ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass im längeren Fragebogen drei Zubereitungsarten abgefragt wurden und im kürzeren nur noch eine. Es gibt keine anderen Studien, in denen zwei Fragebögen zur Erfassung der HAA-Aufnahme miteinander verglichen wurden. Aus diesem Grund werden

zur Beurteilung der Güte der Korrelationen andere Validierungsstudien aus dem Ernährungsbereich herangezogen. In einer Untersuchung von Beresford et al. (1992) korrelierte die Aufnahme an Fett berechnet aus einem FFQ und einem acht Lebensmittel umfassenden Screener zu 44%, die Korrelation zwischen der Aufnahme an gesättigten Fetten berechnet aus einem FFQ und einem zwölf Lebensmittel umfassenden Kurzfragebogen betrug in einer Studie von Kinlay et al. (1991)  $r=0,61$ . Bei Anwendung eines US-amerikanischen Fett-Screeners in einer britischen Studie werden Korrelationen von  $r=0,41-0,75$  im Vergleich mit einem längeren Fragebogen erreicht (Glasgow et al. 1997). In einer deutschen Studie wurde bei dem Vergleich eines elf Lebensmittel erfragenden Screeners mit dem EPIC-Ernährungsfragebogen für Cholesterin ein Spearman Rangkorrelationskoeffizient von  $r=0,52$  berechnet (Rohrmann et al. 2000).

Die Korrelationen der zitierten Studien sind vergleichbar mit jenen, die in der Heidelberger Pilotstudie gefunden wurden. Kritisch zu bemerken ist jedoch, dass es sich bei der hier durchgeführten Studie nicht im eigentlichen Sinne um eine Validierungsstudie handelt, worauf schon zu Beginn dieses Kapitels eingegangen wurde. Weiterhin birgt der Vergleich eines kurzen Fragebogens mit einem längeren einige Probleme. Zur Validierung eines Erhebungsinstrumentes sollten nach Willett (1998) die Fehlerquellen voneinander unabhängig sein. Beim Vergleich zweier unterschiedlich langer Fragebögen ist jedoch problematisch, dass sich die beiden Instrumente in ihrer Struktur ähnlich sind und die gleichen Fehlerquellen aufweisen können. Dies führt möglicherweise zu einer Überschätzung der Validität (Block & Hartman 1989).

Mögliche Fehlerquellen bei Ernährungsfragebögen sind die Auswahl der Lebensmittel im Fragebogen, die Interpretation der Fragen, das Erinnerungsvermögen der Probanden und in einigen Fällen auch die Einschätzung der Portionsgrößen.

Im Quintilsvergleich werden 29,1% bis 40,4% der Teilnehmer in dasselbe Quintil, weitere 32,5% bis 38,1% in ein angrenzendes Quintil eingeteilt. Die Einordnung in entgegengesetzte Quintile beträgt lediglich 1,2% bis 3,5%. Diese Ergebnisse liegen im Rahmen anderer Validierungsstudien, in denen ein kurzer Fragebogen mit einem längeren verglichen wurde. Bingham et al. (1994) geben als Richtwert an, dass weniger als 10% der Teilnehmer in entgegengesetzte Quartile eingeordnet werden sollten und mindestens 30% in dasselbe Quartil. In einer Studie von Dobson et al. (1993) wurden im Vergleich zwischen einem 13 Lebensmittel umfassenden Fettscreener und einem FFQ 38% der Probanden demselben Quartil zuordnet, 2% wurden grob fehlklassifiziert. Im Vergleich eines elf Lebensmittel umfassenden Cholesterinscreeners mit den Ergebnissen des EPIC-Ernährungsfragebogens waren es 39,8% der Teilnehmer, die gleich klassifiziert wurden, und 2%, die in entgegengesetzte Quartile eingeordnet wurden (Rohrmann et al. 2000).

Diese Ergebnisse sprechen für eine gute Validität der kurzen Fragebogenversion. Die berechneten Mediane aus dem längeren Fragebogen, basierend auf der Quintileinteilung durch die gekürzte Version, zeigen in fast allen Fällen deutlich, dass die kurze Version in der Lage ist, zwischen Personen mit unterschiedlich hoher HAA-Aufnahme zu unterscheiden. Lediglich bei der HAA-Gesamtaufnahme sind der Median der Quintile 3 und 4 nahezu identisch und der Fragebogen somit nicht in der Lage einen Unterschied zu erkennen. Je-

doch kann davon ausgegangen werden, dass es möglich ist, zwischen Personen mit einer hohen, mittleren bzw. geringen HAA-Aufnahme zu unterscheiden.

Die Ergebnisse des Vergleiches der Mittelwerte nach Bland und Altman (1986) bestätigen die guten Ergebnisse des Quintilsvergleiches und die recht hohen Korrelationen nur bedingt. Nur bei einem Lebensmittel fallen mehr als 95% der Teilnehmer in den 95%-Bereich der Übereinstimmung, allerdings sind es in den meisten anderen Fällen mehr als 90% der Befragten, lediglich bei der IQ-Aufnahme sowie der HAA-Aufnahme aus "Fisch" liegen mehr als 10% der Teilnehmer außerhalb des Bereiches.

### **3.1.2 Zubereitungsarten**

Aus den Angaben zur Zubereitung der abgefragten Lebensmittel in der langen Fragebogenversion wird deutlich, dass es in der Stichprobe eine häufigere Verwendung von Kurzbraten und Braten gibt. Grillen dagegen wird nur selten zur Zubereitung von Lebensmitteln verwendet. Lediglich zur Zubereitung von Bratwurst wird Grillen von etwa 40% der befragten Personen in der Hälfte der Fälle oder häufiger verwendet. Bei den anderen Fleischarten bzw. bei Fisch gaben mehr als 40% der Teilnehmer an, diese Zubereitungsart nie zu verwenden. Aus diesem Grund wurde Grillen nur selten als wichtige Zubereitungsart, die zur interpersonellen Varianz in der HAA-Aufnahme beiträgt, erkannt und nur in zwei Fällen, für "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" sowie "Fisch", in den Kurzfragebogen aufgenommen. Zwar gaben nicht sehr viele Personen an, Grillen zur Zubereitung von Fisch zu verwenden, im Falle der Verwendung ist die HAA-Aufnahme durch dieses Lebensmittel jedoch hoch und trägt damit einen großen Teil zur Erklärung der interpersonellen Varianz bei. Aus eben diesem Grund wurde Grillen auch für "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" in die gekürzte Fassung des HAA-Fragebogens aufgenommen.

Der Anteil der Teilnehmer, die übereinstimmende Angaben bezüglich der Häufigkeit der Verwendung einzelner Zubereitungsarten für bestimmte Lebensmittel gemacht haben, reicht von 36,7% bis 69,2%. Der gewichtete Kappa-Koeffizient für die Übereinstimmung zwischen dem langen und dem kurzen HAA-Fragebogen bezüglich der Verwendung der Zubereitungsarten reicht von  $\kappa=0,25$  bis  $\kappa=0,56$ . Die Übereinstimmung kann damit als mittelmäßig bis gut bezeichnet werden (Feinstein 1985).

Bei dem Vergleich der Angaben zu den Zubereitungsarten zwischen der längeren und der gekürzten Fragebogenversion fallen einige Unterschiede ins Auge. So ist sehr deutlich zu sehen, dass der Anteil der übereinstimmenden Antworten zwischen dem längeren und dem kurzen HAA-Fragebogen sehr unterschiedlich je nach Lebensmittel und Zubereitungsart ist. Während bei den Lebensmittelgruppen "Rinderbraten, -rouladen und -gulasch" sowie "Schweinebraten und -gulasch" fast 70% der Probanden übereinstimmende Antworten geben, sind es bei den anderen Lebensmittelgruppen bis auf zwei Ausnahmen weniger als die Hälfte der Probanden.

Die hohe Übereinstimmung bei "Rinderbraten, -rouladen, und -gulasch" und "Schweinebraten und -gulasch" lässt zunächst vermuten, dass eine hohe Übereinstimmung dann gegeben ist, wenn die Anzahl der Zubereitungsarten, die für eine Lebensmittelgruppe angeboten

werden, zwischen dem langen und dem kurzen Fragebogen nicht verändert wird. Allerdings ist die Übereinstimmung bei der Frage nach der Häufigkeit von Kurzbraten von Kasseler und Schweinerippchen mit 57% recht hoch, obwohl die Zahl der Zubereitungsarten im kurzen Fragebogen statt drei nur noch eins beträgt. Hierbei sollte aber in Betracht gezogen werden, dass ein großer Anteil der Teilnehmer "Kasseler und Schweinerippchen" nie kurzbraten. Der Anteil von Personen, die angaben, die beiden Lebensmittel nie kurzzubraten, war zwar im kurzen Fragebogen geringer als im längeren, betrug aber immer noch etwa 48%, so dass ein großer Teil der Übereinstimmung hierdurch erklärt werden kann.

Dieselbe Beobachtung trifft auf das Grillen von "Fisch" zu. Auch hier ist die Übereinstimmung mit 67% hoch, während zum Braten nur rund 37% der Teilnehmer übereinstimmende Antworten gegeben haben. Diese Veränderung kann darauf zurückzuführen sein, dass die Zubereitungsart Kurzbraten nicht mehr zur Auswahl stand. Einige Personen, die in der ersten Befragung angaben, die Zubereitungsart Braten nie oder in einem Viertel der Fälle zu verwenden, erklärten in der zweiten Befragung eine häufigere Anwendung des Bratens zur Zubereitung von Fisch. Dies geht aus Abb. 16 hervor.

In der Lebensmittelgruppe "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" sind einige Veränderungen bei den Antworten zur Verwendung der Zubereitungsarten zu sehen, obwohl in beiden Fragebogenversionen dieselben Zubereitungsarten abgefragt wurden. Am konsistentesten ist das Antwortverhalten beim Grillen, was wahrscheinlich wieder auf den hohen Anteil von Personen, die Grillen nie zur Zubereitung von "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" verwenden, zurückzuführen ist. Während die Häufigkeit des Kurzbratens im zweiten Fragebogen zunimmt, geht der Anteil des Bratens zurück. Insgesamt ist die Anzahl der übereinstimmenden Antworten bei Braten am geringsten, verglichen mit Kurzbraten und Grillen. Da im Fragebogen fünf Häufigkeitskategorien angeboten wurden, ist es wahrscheinlich, dass einige Teilnehmer in den beiden Fragebögen leicht unterschiedliche Angaben zur Häufigkeit der Verwendung einzelner Zubereitungsarten machen. Es kann vermutet werden, dass der Wechsel im Antwortverhalten vor allem in angrenzenden Kategorien stattfindet, was dadurch bestätigt wird, dass 22% der Probanden bei den Angaben zur Verwendung des Bratens im Vergleich zwischen den beiden Fragebögen in angrenzende Kategorien fallen (Daten nicht gezeigt), so dass insgesamt fast 60% der Teilnehmer gleiche oder ähnliche Angaben in den beiden Fragebögen machten.

Im Zusammenhang mit der Zubereitungsart Kurzbraten ist eine mögliche Fehlerquelle zu sehen, die zu einer Überschätzung der HAA-Aufnahme führen kann. Unter dem Begriff Kurzbraten kann auch das Kurzbraten von paniertem Fleisch und Fisch, z. B. bei Schnitzel und Kotelett, verstanden werden. Da das Bratgut in diesem Fall durch eine Schicht vor der direkten Hitzeeinwirkung beim Kurzbraten geschützt ist, ist es wahrscheinlich, dass der HAA-Gehalt in diesen Lebensmitteln geringer ist als wenn diese Lebensmittel ohne eine Panade kurzgebraten werden. Aus diesem Grund wäre es sinnvoll, getrennt nach dem Kurzbraten und dem Panieren und Kurzbraten von Fleisch und Fisch zu fragen, um abschätzen zu können, welche Anteile jeweils auf diese beiden Zubereitungsarten entfallen. Eine bisher ungeklärte Frage ist jedoch jene nach dem HAA-Gehalt in panierten Lebensmitteln, da bisher noch keine Daten dazu veröffentlicht wurden. Wenn man jedoch davon ausgeht, dass nur geringe HAA-Mengen entstehen, wäre eine Möglichkeit, den Wert Null für

die HAA-Aufnahme aus Lebensmittel, die paniert und kurzgebraten wurden, einzusetzen. In diesem Fall würde es jedoch möglicherweise zu einer Unterschätzung der HAA-Aufnahme kommen.

### **3.1.3 Bräunungsgrad**

Es ist bei allen Lebensmittelgruppen zu beobachten, dass die Teilnehmer in der zweiten Befragung, d. h. in der gekürzten Fragebogenversion, eher einen geringeren Bräunungsgrad angeben als in der ersten Befragung. So nahm bei allen Lebensmitteln bis auf "Schweinebraten und -gulasch" der Anteil der Personen, die angaben, das Fleisch bzw. Fisch stark gebräunt zu verzehren, ab. Dies ist besonders ausgeprägt bei "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem". Hingegen nahm der Anteil der Personen, die Fleisch und Fisch kaum gebräunt verzehren, in allen Fällen zu.

Bei den Angaben zum Bräunungsgrad sind die Veränderungen im Antwortverhalten weniger groß als bei den Angaben zu den Zubereitungsarten. Dies ist jedoch zu erwarten, da sich die Antwortmöglichkeiten in den beiden Fragebogenversionen nicht unterscheiden. Der Anteil der übereinstimmenden Antworten reicht für die meisten Lebensmittelgruppen von 55% bis 61%. Nur für "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" ist der Grad der Übereinstimmung mit 40% geringer, was sich auch im niedrigeren Kappa-Koeffizienten ausdrückt. Bei einem Blick auf Tab. 20 wird der Grund hierfür deutlich. Während im langen Fragebogen lediglich 12% der befragten Personen angaben, diese Lebensmittel wenig gebräunt zu essen, waren es in der kurzen Version fast die Hälfte. Bei diesen Lebensmitteln ist ein sehr starker Wechsel der Angaben festzustellen.

Es kann hier eine Tendenz zu "erwünschten Antworten" vermutet werden. Berichte über den Verzehr von stark gebräuntem Fleisch und einem möglichen Krebsrisiko erscheinen des öfteren in der Presse (z. B. "Hörzu" 7.5.1999) und können das Antwortverhalten der Teilnehmer beeinflussen. Personen, die zu einem bestimmten Thema, z. B. zur Zubereitung von Fleisch und Fisch, befragt werden, werden dadurch unter Umständen angeregt, sich weiter darüber zu informieren. Dies könnte zu einem veränderten Ernährungs- und auch Antwortverhalten in einer nachfolgenden Befragung führen. Weiterhin kann ein "Lerneffekt" nicht ausgeschlossen werden, der zu Veränderungen in den Antworten führen kann. Das zweimalige Ausfüllen eines ähnlichen Fragebogens kann das Verständnis von Fragen verbessern und somit zu anderen Antworten führen (Block et al. 1989).

### **3.1.4 Verwendung des Bratrückstandes**

Beim Braten wird von mehr als 70% der Teilnehmer der Bratrückstand üblicherweise weiter verwendet, beim Kurzbraten jedoch nicht. Dies ist durchaus zu erwarten, denn zum einen entspricht es deutschen Ernährungsgewohnheiten, zu Braten Sauce zu verzehren und diese auch selbst herzustellen, während dies bei kurzgebratenem Fleisch, abgesehen von Filet, seltener der Fall ist.

Der Anteil gleicher Antworten zwischen der längeren und der kürzeren Fragebogenversion ist beim Braten höher als beim Kurzbraten. Dies ist nicht unerwartet, da eine gleichartige Beantwortung einer Frage eher dann zu erwarten ist, wenn ein Verhalten regelmäßig in glei-

cher Weise gemacht wird, wie das Herstellen von Sauce aus dem Bratrückstand von gebratenem Fleisch.

### **3.2 Möglichkeiten der biologischen Validierung des HAA-Fragebogens**

#### **3.2.1 Messung von nicht metabolisierten HAA im Urin**

Auf der Suche nach biologischen Markern zur Erfassung der HAA-Exposition wurde die Ausscheidung von nicht metabolisierten HAA, besonders PhIP und MeIQ<sub>x</sub>, im Urin bestimmt.

In verschiedenen Ernährungsstudien wurde den Teilnehmern ein Essen mit zuvor bestimmten HAA-Gehalt verabreicht. Nach der Mahlzeit wurde für einen bestimmten Zeitraum (meist 8-24 Stunden) der Urin gesammelt und die Menge an verschiedenen HAA gemessen. Es zeigte sich, dass sowohl PhIP als auch MeIQ<sub>x</sub> zu einem gewissen Anteil unmetabolisiert über den Urin ausgeschieden wurden. Zwischen 1,8% und 4,9% des mit der Nahrung aufgenommenen MeIQ<sub>x</sub> unverändert mit dem Urin ausgeschieden wurden (Murray et al. 1989). Lynch et al. (1992) zeigten, dass durchschnittlich 2,1% der aufgenommenen MeIQ<sub>x</sub> (Spannweite 1,2-4,3%) und 1,1% des PhIP (Spannweite 0,6-2,3%) unverändert ausgeschieden werden. Ähnliche Ergebnisse erhielten auch Stillwell et al. (1994) und Reistad et al. (1997). Sie beobachteten, dass über vier Wiederholungen hinweg der Anteil der ausgeschiedenen HAA an der aufgenommenen Menge für jedes Individuum sehr konstant war, die interindividuelle Variabilität aber sehr groß ausfiel.

Auch Ji et al. (1994) konnten interindividuelle Unterschiede in der HAA-Ausscheidung nachweisen. Dabei beobachteten sie abstammungsbedingte, jedoch geschlechtsunabhängige Unterschiede bei Asiaten, Afro-Amerikanern und Weißen nicht-spanischer Herkunft. Diese Unterschiede gibt es innerhalb eines Landes in Europa in nicht so starkem Ausmaß. Besonders wenn eine Validierungsstudie, die Urinausscheidung von HAA als Vergleichsmaß für einen Fragebogen verwendet auf eine ethnische Gruppe beschränkt bliebe (z. B. in Heidelberg Teilnehmer deutscher Abstammung), wären abstammungsbedingte Unterschiede vernachlässigbar.

Die HAA wurden in den ersten acht Stunden nach der Aufnahme ausgeschieden. Nach diesem Zeitraum waren nur noch geringe Mengen im Urin zu finden (Lynch et al. 1992). Damit spiegelt die HAA-Menge im Urin lediglich die Aufnahme aus der letzten Mahlzeit wieder und nicht die Aufnahme über einen längeren Zeitraum. In einer Studie in den USA untersuchten Ji et al. (1994) bei 76 Probanden die Korrelation zwischen der MeIQ<sub>x</sub>-Menge im Urin und der Verzehrshäufigkeit verschiedener Fleischarten, die mit einem FFQ abgefragt wurden. Sie fanden einen positiven Zusammenhang zwischen der Verzehrsmenge an Speck und der Menge an nicht metabolisiertem MeIQ<sub>x</sub> im Urin. Bei denselben Personen fand sich dieser Zusammenhang allerdings nicht für die Verzehrshäufigkeit der verschiedenen Fleischarten und der Ausscheidung von PhIP (Kidd et al. 1999). Da in dem FFQ, der zur Erfassung der Verzehrshäufigkeit eingesetzt wurde, die Zubereitungsarten von Fleisch sowie der bevorzugte Bräunungs- und Garegrad der Lebensmittel nicht abgefragt wurden, könnte das Ergebnis günstiger sein, wenn dies in einem speziellen Fragebogen getan würde.

Problematisch am Versuch nicht metabolisierte HAA als biologische Marker der Aufnahme einzusetzen, ist die Tatsache, dass das Ausmaß ihres Ab- und Umbaus im Organismus und der Anteil der unverändert ausgeschiedenen HAA von der Aktivität der beteiligten Enzyme abhängig ist. Sinha und Mitarbeiter (1995b) wiesen nach, dass Personen mit einer höheren CYP1A2-Aktivität weniger nicht verändertes MeIQx mit dem Urin ausschieden als Personen mit einer geringeren Aktivität dieses Enzyms. Auch Stillwell et al. (1997) bestätigten diesen Zusammenhang und konnten zeigen, dass der Gehalt an unverändertem PhIP im Urin von der Aktivität dieses Enzyms abhängig ist. Sollte also das Ausmaß der HAA-Exkretion über den Urin zur Validierung eines HAA-Fragebogens mit herangezogen werden, sollte auch eine Bestimmung der genetischen Variante von CYP1A2 sowie von NAT1 und NAT2, von denen ebenfalls Polymorphismen bekannt sind, vorgenommen werden. Es ist demzufolge notwendig, in entsprechenden Untersuchungen genetische Tests vorzunehmen, um den Genotypen des Enzyms bei den Teilnehmern zu bestimmen.

Ein weiteres Problem, das schon erwähnt wurde, ist, dass die HAA-Menge im Urin die vor wenigen Stunden aufgenommene Menge widerspiegelt. Da die HAA-Aufnahme abhängig von der verzehrten Menge an Fleisch und Fisch sowie der Zubereitungsart ist, kann sie starken täglichen Schwankungen unterliegen (Sinha & Rothman 1997). Es wäre daher sinnvoll, die HAA-Menge im Urin über einen längeren Zeitraum hinweg mehrmals zu messen. Zu beachten ist dabei, dass diese Messungen möglichst zu verschiedenen Jahreszeiten und an verschiedenen Wochentagen vorgenommen werden, um den Einfluss verschiedener Ernährungsweisen, z. B. Grillen im Sommer oder unterschiedlich hohem Fleischverzehr an einzelnen Wochentagen (Slimani et al. 2000), erfassen zu können.

Denkbar wäre auch die Verwendung von HAA-Metaboliten im Urin als Marker für die Exposition. Problematisch daran ist jedoch die noch größere interindividuelle Varianz der Ausscheidung von Metaboliten als die Varianz in der Ausscheidung der unveränderten HAA. Aufgrund dieser hohen Varianz eignen sich die Metabolite nicht gut als Marker der Exposition (Stillwell et al. 1997). So machte nach oraler Gabe von PhIP N-Hydroxy-PhIP-N<sup>2</sup>-Glucuronid 47-60% der nachgewiesenen Metabolite im Urin aus (Malfatti et al. 1999). Von der oral aufgenommenen Menge an MeIQx wurden 1,4-17,1% in Form von N-Hydroxy-MeIQx-N<sup>2</sup>-Glucuronid über den Urin ausgeschiedenen (Stillwell et al. 1999a, 1999b, Turesky et al. 1998).

### ***3.2.2 Messung von Biomarkern im Blut***

Blutproteine wie Albumin und Hämoglobin sind leicht zu erhalten und relativ langlebig. Damit können sie herangezogen werden, um Aussagen über eine längerfristige, chronische Belastung mit möglicherweise krebserzeugenden Stoffen, die zur Akkumulierung von Protein-Karzinogen-Addukten führen, zu machen (Lynch et al. 1995). HAA binden in aktivierter Form an Blutproteine und bilden Addukte, deren Menge bestimmt werden kann.

Dingley et al. (1998, 1999) zeigten, dass MeIQx sowie PhIP beim Menschen in aktivierter Form an Albumin und Hämoglobin (Hb) binden. Sieben Probanden wurden in Tablettenform unterschiedliche Mengen an radioaktiv markiertem [<sup>14</sup>C]PhIP (Dingley et al. 1999) ver-

abreicht. Nachfolgend wurden die Mengen an Protein-HAA-Addukten mittels der *Accelerator Mass Spectrometry* (AMS), einem sehr sensitiven Verfahren zum Nachweis von DNA-Addukten, gemessen. Innerhalb von 30 Minuten nach der Aufnahme von PhIP konnten Albumin- bzw. Hb-Addukte im Blut nachgewiesen werden. Die Menge der Albumin-Addukte stieg kontinuierlich an und erreichte nach 12-24 Stunden ein Plateau. Die Hb-Addukte erreichten hingegen in den ersten fünf Stunden nach PhIP-Gabe die höchste Konzentration und fielen dann kontinuierlich ab. Nach 24 Stunden betrug die Menge nur noch etwa 50% der maximal gemessenen Konzentration. Somit scheinen Albumin-Addukte die sensitiveren Marker zu sein, da sie zum einen weniger schnell aus dem Blut eliminiert werden und zum anderen auch in größeren Mengen als Hb-Marker gebildet werden (etwa die 50-fache Menge).

Dieselbe Arbeitsgruppe hatte diesen Versuch auch mit der Gabe von [<sup>14</sup>C]MeIQx (Dingley et al. 1998) gemacht. Die Ergebnisse ähnelten jenen, die nach der Gabe von [<sup>14</sup>C]PhIP herausgekommen waren. Zum einen konnte die Bildung von [<sup>14</sup>C]MeIQx-Hb- bzw. -Albumin-Addukten beim Menschen nachgewiesen werden, zum anderen zeigte sich bei den sieben Probanden eine signifikante Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Menge an aufgenommenem [<sup>14</sup>C]MeIQx und der gebildeten Adduktmenge. Auch bei [<sup>14</sup>C]MeIQx zeigte sich, dass eine signifikant größere Menge an Albumin als an Hämoglobin gebunden wird.

Problem der beiden Studien ist das Nachweisverfahren AMS. Wie bereits erwähnt, handelt es sich um eine sehr sensitive Methode, die allerdings nur radioaktiv markierte DNA-Addukte nachweisen kann. Damit ist sie sehr gut für Ernährungsversuche und Tierexperimente geeignet, in denen nur geringe HAA-Mengen verabreicht werden. In epidemiologischen Studien, in denen die mit der Nahrung aufgenommene Menge mit der gemessenen Menge an DNA-Addukten verglichen und keine radioaktiv markierten HAA gegeben werden, ist diese Methode nicht einsetzbar.

In einer kürzlich veröffentlichten Untersuchung (Magagnotti et al. 2000) zur Möglichkeit Proteinaddukte (Hb, Albumin) als Marker der HAA-Aufnahme zu verwenden, stellten sich diese sowohl bei Ratten als auch beim Menschen als geeignet heraus. Im Tierversuch war Ratten eine definierte Menge PhIP über eine Magensonde verabreicht worden. In Blutproben, die 24 Stunden später genommen wurden, konnten PhIP-Albumin- und PhIP-Hämoglobin-Addukte mit gaschromatographischen und massenspektrometrischen Methoden nachgewiesen werden. Die Menge dieser Addukte war stark abhängig von der vorher gegebenen HAA-Menge und korrelierte signifikant mit dieser. In einer Gruppe von 35 gesunden, erwachsenen Personen wurde jeweils eine Blutprobe genommen und die Menge der beiden PhIP-Addukte gemessen. In 18 von 35 Proben konnten Addukte nachgewiesen werden und auch diese Arbeitsgruppe beobachtete, dass Hb-Addukte in geringerer Menge gemessen wurden als Albumin-Addukte. Die Teilnehmer füllten einen Fragebogen zu ihren Ernährungsgewohnheiten aus, um einen Eindruck von ihrem Fleisch- und Fischverzehr zu bekommen. Die HAA-Aufnahme wurde jedoch nicht berechnet. Wurden Vegetarier mit Nichtvegetariern verglichen, fand sich bei 33% der Vegetarier ein nachweisbare Adduktmenge, während es bei den Nichtvegetariern 60% waren. In der Gruppe der Vegetarier konnte im Vergleich zur anderen Gruppe auch eine signifikant geringere Menge beider Addukte nachgewiesen werden. Da in dieser Studie die aufgenommene HAA-Menge nicht quantifiziert wurde, kann kein direkter Zusammenhang zwischen der aufgenommenen



Menge und der Menge an PhIP-Addukten hergestellt werden. Neben der PhIP-Menge in der Nahrung könnten auch genetische Polymorphismen, die zu unterschiedlichen Enzymaktivitäten führen, einen Einfluss auf die gebildete Adduktmenge haben.

### **3.2.3 Messung von DNA-Addukten**

Blutproteine können zwar relativ einfach gewonnen und die gesuchten Addukte darin bestimmt werden, jedoch haben sie den Nachteil, dass das Vorhandensein von Protein-Karzinogen-Addukten nicht mit genetischen Veränderungen und der Krebsentstehung korreliert (Lynch et al. 1995). Aus diesem Grund wird nach einem Biomarker gesucht, der möglicherweise direkter mit der Krebsentstehung in Verbindung gebracht werden kann. Da die DNA Angriffspunkt für genetische Veränderungen ist, die der Karzinogenese vorausgehen, liegt es nahe, DNA-Addukte, die nach der Aktivierung von HAA entstehen können, zu messen und mit der Krebsinzidenz zu vergleichen.

In der schon im vorhergehenden Abschnitt erwähnten Studie von Dingley et al. (1999) konnte auch die Bindung von [<sup>14</sup>C]PhIP an Leukozyten-DNA mittels AMS nachgewiesen und quantifiziert werden. Die höchsten Mengen an DNA-Addukten wurde in den ersten vier Stunden nach der [<sup>14</sup>C]PhIP-Gabe gemessen, danach sank die Menge schnell ab. Daher scheinen Leukozyten-DNA-Addukte ungünstige Biomarker zu sein. Diese Beobachtung wird auch durch eine britische Studie, in der Leukozyten auf das Vorhandensein von [<sup>14</sup>C]PhIP- bzw. [<sup>14</sup>C]MeIQx-DNA-Addukte untersucht wurden, unterstrichen (Garner et al. 1999). Diese Arbeitsgruppe konnte vier bis sechs Stunden nach oraler HAA-Gabe bei einer Gruppe von Probanden keine Leukozyten-DNA-Addukte nachweisen.

Wakabayashi et al. (1997) untersuchten Leber-, Nieren-, Kolon- und Rektumproben von acht Personen auf DNA-Addukte. In zwei der acht Proben, beides Kolonbiopsien, konnten mittels des <sup>32</sup>P-Postlabeling-Verfahrens MeIQx-Addukte nachgewiesen werden. Mauthe et al. (1999) konnten in einem Ernährungsversuch mit freiwilligen Teilnehmern, die 3,5 bis 6 Stunden vor einer Kolonresektion eine definierte Menge an [<sup>14</sup>C]MeIQx (230 µg) oral verabreicht bekamen, [<sup>14</sup>C]MeIQx-DNA-Addukte in den Kolonbiopsien mittels AMS nachweisen. Die gemessene Menge an Addukten zeigte jedoch eine große Spannweite. Bei zwei weiteren Personen, die eine um den Faktor 10 geringere Menge an [<sup>14</sup>C]MeIQx bekamen, wurde eine deutlich geringere Menge an Addukten gemessen (Turteltaub et al. 1999), wodurch die Autoren auf eine gewisse Dosis-Wirkungs-Beziehung schließen.

In Kolon, Zäkum und Ileum konnten Dingley et al. (1999) mittels AMS bei allen fünf Probanden [<sup>14</sup>C]PhIP-DNA-Addukte bis zu 72 Stunden nach der Gabe von [<sup>14</sup>C]PhIP nachgewiesen werden. Bei dem Vergleich zwischen der in diesen Proben gemessenen Menge an [<sup>14</sup>C]PhIP und der Menge an [<sup>14</sup>C]PhIP-DNA-Addukten konnte jedoch kein Zusammenhang festgestellt werden.

Es wird deshalb vermutet, dass die Bildung und die Menge an Addukten zum einen von der HAA-Aufnahme, aber auch von der metabolischen Aktivität, zum Beispiel von der CYP1A2-Aktivität, der individuellen Kapazität zur Entgiftung und dem DNA-Repair, abhängig ist. Diese Einflussfaktoren können in verschiedenen Organen unterschiedlich stark ausgeprägt sein und wirken (Wakabayashi et al. 1997, Dingley et al. 1999). In weiteren Stu-

dien sollte deshalb untersucht werden, ob DNA-Addukte eine signifikante Korrelation mit der aufgenommenen HAA-Menge zeigen und sich als Biomarker für die Exposition eignen.

Obwohl die Bildung von DNA-Addukten von essentieller Bedeutung für die Tumorinduktion ist, gibt es keine direkten Korrelationen zwischen der Menge an Addukten in einem Organ und der Tumorzinzidenz. So wurde in einem Tierexperiment festgestellt, dass Ratten, die ein Jahr lang PhIP als Futterbeimischung erhielten, zwar hohe Addukt mengen in Pankreas, Lunge und Prostata, aber nur geringe im Kolon aufwiesen. Bei diesen Tieren entwickelten sich Tumoren in der Prostata und im Kolon, nicht aber in Pankreas und Lunge (Nagao 1999). Insoweit ist noch nicht bekannt, in wie weit sich hohe Mengen an DNA-Addukten, die bei Menschen in einem Gewebe gefunden werden, auf die Tumorentstehung auswirken.

## 4 Vergleich der Ergebnisse des gekürzten HAA-Fragebogens mit den Ergebnissen anderer Studien

### 4.1 *Alimentäre HAA-Aufnahme*

Die mit Hilfe der gekürzten Fragebogenversion berechnete Gesamt-HAA-Aufnahme beträgt im Median 103 ng/Tag, wobei sich die Aufnahme zwischen Männern und Frauen nicht signifikant unterscheidet. Dieser Wert entspricht den Ergebnissen anderer Studien, die ebenfalls einen speziell zur Erfassung der HAA-Aufnahme entwickelten Fragebogen einsetzten.

In einer schwedischen Studie, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie die HAA-Aufnahme von 553 Kontrollen und 1012 Tumorpatienten in der Region Stockholm erfasste, wurde ein Median der täglichen Aufnahme von 63-96 ng HAA/Tag (arithmetisches Mittel 133-202 ng/Tag) für die Kontrollen bzw. die Fälle berechnet (Augustsson et al. 1999a). Eine Studie derselben Autoren, die ebenfalls im Raum Stockholm 267 Frauen und 277 Männer der Altersgruppe von 50-75 Jahren befragten, ergab eine tägliche mittlere HAA-Aufnahme von 160 ng/Tag (Augustsson et al. 1997).

In einer US-amerikanischen Studie wurde ein HAA-Fragebogen in jeweils einem Subsample von 250 Personen aus drei großen Kohortenstudien eingesetzt (Byrne et al. 1998). Die mittlere Aufnahme betrug zwischen 322 ng und 507 ng Gesamt-HAA/Tag.

Die HAA-Aufnahme lag in der amerikanischen Studie somit höher als in den beiden europäischen. Ein Grund dafür könnte sein, dass Byrne et al. (1998) lediglich das arithmetische Mittel, nicht jedoch den Median berechnet haben. In der hier vorliegenden wie auch in der schwedischen Studie wurden die Mediane als das geeignetere Maß zur Angabe der durchschnittlichen HAA-Aufnahme gewählt, da die Daten stark rechtsschief waren. Es ist zu vermuten, dass dies auch bei den amerikanischen Daten der Fall ist und der Median der HAA-Aufnahme geringer als der Mittelwert ist. Vergleicht man die Grundlagen zur Berechnung der Aufnahme, d. h. die in den Lebensmitteln gemessenen HAA-Gehalte (Sinha et al. 1998 a, 1998c, 1995a), fällt auf, dass in amerikanischen Lebensmitteln in einigen Fällen höhere Werte gemessen wurden als in schwedischen. Dies betrifft v. a. gegrilltes Fleisch. In Schweden wurden für gegrilltes Fleisch keine eigenen Analysen durchgeführt, sondern auf die Daten für kurzgebratenes Fleisch zurückgegriffen (Augustsson et al. 1997). In den USA wurden Analysen für gegrilltes Fleisch gemacht, da es häufig verzehrt und im Fragebogen dementsprechend abgefragt wird. In Schweden wird nur etwa 4% des verzehrten Fleisches gegrillt (Augustsson 1999b), in den USA ist der Anteil höher (Keating & Bogen 2001, Byrne et al. 1998). In den Analysen zum HAA-Gehalt von gegrilltem Fleisch (Sinha et al. 1998a, 1998c, 1995c) wurden sehr hohe Werte im Vergleich zu anderen Zubereitungsarten gemessen. Dies trägt neben dem schon vorher diskutierten eher statistischen Problem zur höheren HAA-Aufnahme in der amerikanischen Studie (Byrne et al. 1998) bei.

Eine weitere Folge der unterschiedlichen Lebensmittel und Zubereitungsarten, die im hier vorliegenden, im schwedischen bzw. im amerikanischen Fragebogen erhoben wurden, ist die unterschiedlich hohe Aufnahme einzelner HAA in den einzelnen Ländern und der Bei-

trag der einzelnen HAA zur Gesamtaufnahme. In Schweden geht nur wenig gegrilltes Fleisch in die Berechnung ein, da es dort weniger abgefragt wird als im hier vorgestellten oder im amerikanischen HAA-Fragebogen (Augustsson et al. 1999a, Byrne et al. 1998). Dies hat besonders einen Einfluss auf die berechnete PhIP-Aufnahme, die in der vorliegenden Studie höher als in der schwedischen ist. Auch in US-Studien ist die PhIP-Aufnahme höher als in schwedischen Studien. So betrug die PhIP-Aufnahme in der Studie in Stockholm im Mittel 91 ng/Tag bei Männern und 52 ng/Tag bei Frauen. Damit trug dieses HAA jeweils 45% zur Gesamt-HAA-Aufnahme bei, genauso viel wie MeIQx. Im Gegensatz dazu betrug der Median der PhIP-Aufnahme in der vorliegenden Untersuchung 63 ng/Tag mit einem Beitrag von 74% zur HAA-Gesamtaufnahme. Noch höher war dieser Anteil in der Studie von Byrne et al. (1998). Die PhIP-Aufnahme wurde mit 286-459 ng/Tag berechnet, PhIP steuert somit etwa 90% zur HAA-Aufnahme bei. Das Lebensmittel, das nach Ergebnissen einer Regressionsanalyse den größten Teil der PhIP-Aufnahme erklärte, war gegrilltes Huhn (78,5% der Varianz der PhIP-Aufnahme wurden durch gegrilltes Huhn erklärt) (Byrne et al. 1998).

Die Ergebnisse der zitierten Studien zeigen zum einen, dass die Ernährungsgewohnheiten in den einzelnen Ländern sehr unterschiedlich sind, und zum anderen, dass es wichtig ist, diese im Fragebogen zu berücksichtigen. Diesen Punkt unterstreicht die Studie von Byrne et al. (1998), in der gezeigt wurde, dass in den drei befragten Kohorten die Verzehrshäufigkeit der abgefragten Lebensmittel und die Zubereitungsarten sehr verschieden sind und damit auch der Beitrag einzelner Lebensmittel zur HAA-Aufnahme unterschiedlich ausfällt. Ein Fragebogen, der in einem Land oder in einer bestimmten Bevölkerungsgruppe entwickelt wurde, kann zwar als Ausgangspunkt für die Entwicklung eines neuen Fragebogens verwendet werden, sollte aber nicht übernommen werden, ohne zu überprüfen, ob er auch in der Lage ist, die Ernährungsweisen der zu untersuchenden Gruppe von Personen zu erfassen (Coates et al. 1995, Thompson & Byers 1994).

Neben den beiden Studien aus Schweden (Augustsson et al. 1999a, 1999b, 1997, Voskuil et al. 1999) und den USA (Byrne et al. 1998) gibt es weitere Untersuchungen, die den Versuch unternahmen, die HAA-Aufnahme zu quantifizieren. Das Problem dieser Studien ist jedoch, dass kein dafür entwickeltes Instrument eingesetzt wurde oder die Datenbasis zur Berechnung der HAA-Aufnahme sehr uneinheitlich war.

Eine der ersten Arbeitsgruppen, die eine Studie zur Abschätzung der HAA-Aufnahme in einer Bevölkerung durchführten, waren Layton et al. (1995). Sie untersuchten die Daten von 3563 Teilnehmern einer US-amerikanischen Querschnittsuntersuchung zur Ernährung und berechneten eine tägliche HAA-Aufnahme von 26 ng/kg Körpergewicht aus den Angaben zur Zubereitung verschiedener Fleisch- und Fischarten. Bei einer 60 kg schweren Person sind dies 1820 ng pro Tag, was um ein Vielfaches höher liegt als die mittlere Aufnahme in der Untersuchung von Byrne et al. (1998). Layton et al. (1995) machten keine eigenen Analysen der Lebensmittel und berechneten die HAA-Aufnahme anhand von Daten, die zu den entsprechenden Lebensmitteln in der Literatur verfügbar waren.

Eine kürzlich veröffentlichte Untersuchung von Keating und Bogen (2001) verwendete ebenfalls die Daten einer US-amerikanischen Querschnittsstudie zur Abschätzung der HAA-Aufnahme in der US-Bevölkerung. Die Angaben von 27.168 Teilnehmern wurden

bezüglich Fleischverzehr und Zubereitungsmethode ausgewertet. Da jedoch keine Angaben zum Garegrad der verzehrten Lebensmittel vorlagen, wurde die Verteilung des bevorzugten Garegrades für jede angegebene Fleischart in der US-Bevölkerung aus der Literatur übernommen. Beispielsweise wurde für die Berechnung der HAA-Aufnahme aus Hamburgern angenommen, dass diese von 9% der Bevölkerung medium, von 53% durchgebraten, von weiteren 30% gut durchgebraten und von 8% fast schwarz gebraten verzehrt werden. Die Autoren der Studie berechneten eine durchschnittliche Aufnahme von 7 ng Gesamt-HAA/Tag/kg Körpergewicht, was bei einer 60 kg schweren Person eine Tagesaufnahme von 420 ng ergibt. Damit entsprechen die Berechnungen in etwa jenen von Byrne et al. (1998). Auch bestätigt die Berechnung von Keating und Bogen (2001), dass PhIP das in den USA mengenmäßig am stärksten aufgenommene HAA ist (4,54 ng/Tag/kg Körpergewicht).

Eine ebenfalls recht hohe Aufnahme berechneten Thomson et al. (1996) in Neuseeland. Sie verwendeten zur Erfassung der Lebensmittelmenge und der Zubereitungsarten einen FFQ und zur Berechnung der HAA-Aufnahme Analysedaten aus verschiedenen Quellen. Die tägliche Aufnahme wurde von ihnen mit 1000 ng/Tag berechnet, wobei PhIP mit 654 ng/Tag den höchsten Anteil hatte. Eine spätere neuseeländische Studie, die die HAA-Aufnahme im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie über den Zusammenhang zwischen Fleischverzehr und Prostatakrebs erfasste, kam zu geringeren Ergebnissen (Norrish et al. 1999). Die Autoren fragten im Rahmen eines ausführlicheren FFQ die Verzehrsmenge von sieben Fleischarten sowie die Zubereitungsarten und den Garegrad ab. Außerdem analysierten sie selbst zubereitete Lebensmittel auf ihren HAA-Gehalt. Die von ihnen berechnete Gesamtaufnahme an HAA betrug im Median 146 ng/Tag, die PhIP-Aufnahme 79 ng/Tag und die Aufnahme an MeIQx 41 ng/Tag.

Eine Studie aus der Schweiz, in der Analysen des HAA-Gehaltes in Lebensmitteln gemacht wurden, schätzte die Aufnahme auf etwa 400 ng/Tag, wobei auch bei ihnen PhIP den größten Beitrag leistete (Zoller et al. 1997).

Die Ergebnisse der beiden älteren Untersuchungen (Thomson et al. 1996, Layton et al. 1995) deuten auf eine Überschätzung der HAA-Aufnahme hin, die wahrscheinlich auf nicht passenden Analysedaten beruht. Beide Studien könnten ihren Berechnungen Daten zugrunde gelegt haben, bei deren Analyse die Lebensmittel nicht haushaltsüblich, z. B. unter sehr hohen Temperaturen, zubereitet wurden (Keating & Bogen 2001, Keating et al. 1999).

In der durchgeführten Heidelberger Pilotstudie wurde für Männer in den meisten Fällen eine höhere HAA-Aufnahme berechnet als für Frauen. Die HAA-Gesamtaufnahme war bei den Frauen um 15% geringer als bei den Männern, der Unterschied aber nicht signifikant. Die geringere Aufnahme bei den Frauen ist wahrscheinlich vor allem auf den geringeren Fleischverzehr zurückzuführen (Median des täglichen Verzehrs der abgefragten Lebensmittel: Männer 86 g, Frauen 70 g). Zum anderen könnte es auch dadurch erklärt werden, dass Männer stärker gebräuntes Fleisch bevorzugen als Frauen. Dafür sprechen einige Ergebnisse zum Bräunungsgrad von Fleisch und Fisch.

Damit sind die berechneten Unterschiede geringer als in der schwedischen Studie (Augustsson et al. 1997). Dort wurde für Frauen eine um 40% niedrigere HAA-Aufnahme ermittelt als für die männlichen Studienteilnehmer. Vergleicht man in der US-amerikanischen

Untersuchung die HAA-Aufnahme der beiden weiblichen Gruppen mit jener der männlichen, beträgt die HAA-Aufnahme der Frauen nur 64-76% der Aufnahme der Männer (Byrne et al. 1998).

Lediglich bei "Fisch" ist die HAA-Aufnahme in der Heidelberger Untersuchung bei den Frauen (nicht signifikant) höher als bei den Männern. In der Untersuchung von Byrne et al. (1998) ist dies nicht der Fall.

Signifikant unterschiedlich zwischen Teilnehmerinnen und Teilnehmern ist in der vorliegenden Untersuchung die HAA-Aufnahme aus "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" sowie "Rindersteak, -filet und -lende". Bei "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" beträgt der Median der HAA-Aufnahme der Frauen nur rund 50% der Aufnahme der Männer. Bei "Rindersteak, -filet und -lende" ist der Unterschied auf den ersten Blick nicht sichtbar, zeigt sich aber bei Betrachtung der Verteilung der Aufnahme (Daten nicht gezeigt).

Untersuchungen zu Unterschieden in der HAA-Aufnahme verschiedener Altersgruppen wurden bisher noch nicht durchgeführt. Bei der HAA-Gesamtaufnahme zeichnet sich in der hier durchgeführten Studie ein Trend zu einer geringeren Aufnahme mit steigendem Alter ab, ebenso bei PhIP und "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem". Einzige Vergleichsmöglichkeit bietet hier die Untersuchung von Byrne et al. (1998), in der zwei Kohorten der Nurses Health Study befragt wurden. Eine umfasst Krankenschwestern, die zwischen 1921 und 1945 geboren wurden, die andere Gruppe umfasst Krankenschwestern, die zwischen 1946 und 1964 geboren wurden. Das Durchschnittsalter beträgt 62 bzw. 41 Jahre. Wird die HAA-Aufnahme dieser beiden Gruppen miteinander verglichen, zeigt sich wie in der Heidelberger Kohorte eine geringere HAA-Gesamtaufnahme in der älteren Gruppe sowie eine geringe Aufnahme an PhIP. Bei MeIQx und DiMeIQx sind die Unterschiede in beiden Studien nicht sehr deutlich (Byrne et al. 1998).

#### *HAA-Aufnahme aus Fleisch bzw. Sauce*

In vielen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die HAA während der Zubereitung mit dem Fleischsaft aus dem Fleisch austreten. Die Konzentration im Fleisch sinkt, während der Gehalt im Bratrückstand steigt (Sinha et al. 1998c, Johansson et al. 1995, Gross & Grüter 1992). Wird dieser Bratrückstand zur Herstellung einer Sauce verwendet, enthält auch diese Sauce eine nicht zu vernachlässigende Menge an HAA. Dies zeigt sich sehr deutlich in den Ergebnissen der Heidelberger Pilotstudie. Obwohl der Median der täglichen Aufnahme an Sauce (für alle Fleisch- und Fischarten) für die Teilnehmer der Pilotstudie mit 5,2 g (Spannweite 0-331,5 g) um ein Vielfaches geringer ist als der tägliche Fleischverzehr mit 72,7 g (Spannweite 0-678,2 g), trägt Sauce einen nicht unerheblichen Teil zur Aufnahme bei, da die Mengen an HAA pro Gramm Bratrückstand/Sauce höher sind als im Bratgut selbst. In der vorliegenden Untersuchung beträgt der Anteil des Saucenverzehrs an der Gesamt-HAA-Aufnahme 20,6%. Je nach HAA und Lebensmittel ist dieser Anteil stark unterschiedlich. Am geringsten ist er bei "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" sowie "Fisch". Grund hierfür ist zum einen, dass bei der Zubereitung wenig Bratrückstand entsteht. Dies gilt besonders für Brathuhn, da die HAA nicht aus dem Fleisch austreten, sondern v. a. in der Haut zu finden sind. Dies wird bestätigt durch die geringen HAA-Werte, die im Bratrückstand im Vergleich mit den Gehalten im Fleisch selbst sowohl von Sinha et

al. (1994) als auch von Skog et al. (1997, 1995) gemessen wurden. Ein weiterer Grund ist die Zubereitung. Im Fragebogen wird für die beiden genannten Lebensmittel auch das Grillen als Zubereitungsart abgefragt. Für diese Zubereitungsart wird die HAA-Aufnahme nicht berechnet, da in der Regel kein Bratrückstand entsteht. Somit trägt hier überwiegend das Grillgut selbst zur HAA-Aufnahme bei, während es bei den übrigen Lebensmitteln zwischen 75% und 100% sind. Bei den einzelnen HAA liegt der Anteil der Sauce an der HAA-Gesamtaufnahme zwischen 6% und 100%.

Durch das sehr allgemeine Abfragen der Verwendung des Bratrückstandes für Braten/Schmoren bzw. Kurzbraten kann es zu einer Überschätzung der Aufnahme durch Saucen kommen. Es wird im Fragebogen nach dem Verzehr von Sauce, die aus Bratrückstand hergestellt wird, sowie der weiteren Verwendung von Bratrückstand gefragt (z. B. zum Eintunken von Brot, Schwenken von Kartoffeln). Wird diese Frage mit „ja“ beantwortet, wird dies als Verzehr von Sauce zu allen Mahlzeiten eines Lebensmittels, die auf eine spezielle Weise (kurzgebraten oder gebraten/geschmort) zubereitet werden, gewertet. Da aber möglicherweise nicht zu allen Mahlzeiten der Bratrückstand zur Saucenherstellung oder auf andere Art und Weise verwendet wird, kann die HAA-Aufnahme durch Sauce bzw. Bratrückstand überschätzt werden. Weiterhin wurde im HAA-Fragebogen der Heidelberger Pilotstudie nicht erfasst, wie viel des Bratrückstandes zur Saucenherstellung verwendet wird, was ebenfalls zu einer Überschätzung der Aufnahme führen kann. Augustsson et al. (1997) erfassten in ihrer Arbeit, ob 25%, 50%, 75% oder 100% des Bratrückstandes zur Herstellung einer Sauce verwendet werden, wodurch die Berechnung genauer wird.

Werden die Ergebnisse der Heidelberger Studie jedoch mit jenen der schwedischen Querschnittsstudie mit 554 Teilnehmern im Raum Stockholm verglichen, zeigt sich, dass in der schwedischen Untersuchung die Sauce insgesamt einen höheren Beitrag zur HAA-Aufnahme leistete als in Heidelberg. Während es in der hier durchgeführten Untersuchung knapp über 20% sind, waren es in Schweden 32-34% (Augustsson et al. 1997). Wie auch in der Heidelberger Studie trug in der schwedischen der Saucenverzehr 100% zur Aufnahme von IQ bei. Bei allen anderen HAA war der Median der Aufnahme aus Sauce in der Stockholmer Gruppe deutlich geringer als der Median der Aufnahme aus dem Fleisch selbst.

In der Studie von Byrne et al. (1998) wurde lediglich nach dem Verzehr von selbstgemachter Sauce zu gebratenem Rindfleisch (Roast Beef) gefragt. In den drei befragten Studiengruppen wurden pro Tag zwischen 1,1 g und 1,7 g Sauce zu gebratenem Rindfleisch gegessen. Der Beitrag von Sauce zur Aufnahme einzelner HAA betrug je nach Kohorte für MeIQx 8%-17,2%, für PhIP 0,4%-0,9% und 9,8%-20% für DiMeIQx. Insgesamt trägt die Sauce nur 1,2%-2,8% zur HAA-Aufnahme bei. Diese Ergebnisse sind konsistent mit jenen der vorliegenden Pilotstudie, in der die Sauce nur einen geringen Teil (9%) zur Aufnahme an PhIP beiträgt, aber einen größeren zur Aufnahme an MeIQx und DiMeIQx (rund 55%). Allerdings ist das Ausmaß des Beitrages in Heidelberg größer. Dies kann dadurch erklärt werden, dass im Fragebogen der Heidelberger Studie nicht nur nach selbst hergestellter Sauce zu Rindfleisch, sondern auch zu anderem Fleisch gefragt wird.

#### *Zusammenhang der alimentären HAA-Aufnahme mit dem Fleischverzehr*

Die HAA-Aufnahme ist signifikant korreliert mit dem Fleischverzehr mit Korrelationskoeffizienten zwischen  $r=0,16$  und  $r=0,54$  und zeigt damit den Einfluss der Fleischmenge auf

die HAA-Aufnahme. Allerdings sind die Zusammenhänge für die einzelnen erfragten Fleischarten bzw. Fisch unterschiedlich stark. Am wenigsten korreliert die HAA-Aufnahme aus "Kasseler und Schweinerippchen" mit dem Verzehr dieses Lebensmittels. Möglicherweise liegt dies an der hohen Varianz im Verzehr dieses Lebensmittels und ihrem recht geringen HAA-Gehalt; das bedeutet, dass Personen, die größere Mengen dieser beiden Lebensmittel verzehren, nicht auch eine größere Menge HAA aufnehmen. Den stärksten Zusammenhang zwischen der HAA-Aufnahme durch ein Lebensmittel und der verzehrten Menge dieses Lebensmittels gibt es bei "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem". Durch den hohen HAA-Gehalt in zubereitetem, besonders gegrilltem Huhn haben Personen, die größere Mengen dieser Lebensmittel essen, auch eine höhere HAA-Aufnahme als jene Personen, die nur wenig Geflügel verzehren.

#### **4.2 Zubereitungsarten**

Von den Teilnehmern der Heidelberger Studie werden "Rindersteak, -filet und -lende" häufiger kurzgebraten als gebraten verzehrt, während dies bei "Schweineschnitzel, -kotelett, -filet, -lende und -steak" nicht der Fall ist. Beide Zubereitungsarten werden hier etwa gleich häufig angewendet. Sowohl bei "Fisch" als auch bei "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltem" wird nur von wenigen Personen die Zubereitungsart Grillen verwendet. Bei beiden Lebensmittelgruppen sagen 41% bis 58% der Teilnehmer, dass sie diese Zubereitungsart nicht verwenden. Trotz der geringen Anwendung tragen die so zubereiteten Lebensmittel einen hohen Teil zur HAA-Aufnahme bzw. der Varianz in der HAA-Aufnahme bei, "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes, gegrillt" ist sogar das Lebensmittel mit dem höchsten Beitrag zur HAA-Gesamtaufnahme. In der US-amerikanischen Studie hingegen erklärten in der Pfanne gebratene Lebensmittel den größten Teil der interpersonellen Varianz der MeIQx- bzw. DiMeIQx-Aufnahme. Aber auch hier ist es gegrilltes Huhn, das die Varianz in der PhIP-Aufnahme am besten erklärt (Byrne et al. 1998). In der schwedischen Untersuchung sind unter den zehn wichtigsten Lebensmitteln zur Erklärung der Varianz in der HAA-Aufnahme keine gegrillten Lebensmittel zu finden (Voskuil et al. 1999).

Damit zeigen sich deutliche Unterschiede der Ergebnisse der Heidelberger Pilotstudie zu den schwedischen und amerikanischen Ergebnissen. Während die Teilnehmer der hier durchgeführten Studie bei der Zubereitung von "Rindersteak, -filet und -lende" das Kurzbraten bevorzugen, war es in der US-amerikanischen Untersuchung in zwei der drei Gruppen das Grillen (Byrne et al. 1998). Unterschiede bestehen z. B. auch bei der Zubereitung von Huhn, denn während in Heidelberg das Grillen die am wenigsten wichtige Zubereitungsart ist und Kurzbraten und Braten etwas gleich häufig verwendet wurden, stellte sich das Grillen in der US-Studie als sehr wichtig heraus (Byrne et al. 1998).

Die Unterschiede in der Verwendung verschiedener Zubereitungsarten zwischen Männern und Frauen sind gering und nur in wenigen Fällen signifikant. Am auffälligsten sind die Unterschiede der Verwendung des Kurzbratens für "Kasseler und Schweinerippchen". Die hier zu beobachtenden Unterschiede ergeben sich vor allem daraus, dass Frauen die Zubereitungsarten weniger häufig als Männer anwandten. Für "Rindersteak, -filet und -lende" gaben



die Männer in der Heidelberger Untersuchung seltener als die befragten Frauen an die Zubereitungsarten Braten nie zu verwenden. Die Antwort, dass diese Zubereitungsart immer oder in etwa drei Viertel der Fälle für diese Lebensmittelgruppe angewendet wurde, kam bei den Frauen dementsprechend seltener vor. Für Rindersteak zeigt sich dies auch in der US-amerikanischen Studie, in der dieses Lebensmittel von Männern häufiger gebraten als von Frauen verzehrt wurde (Byrne et al. 1998).

Bei Betrachtung der Verwendung der Zubereitungsarten nach Altersgruppen gibt es einige Unterschiede in der Heidelberger Untersuchung. Bei der Verwendung des Bratens für "Rinderbraten, -rouladen und -gulasch" sowie "Schweinebraten und -gulasch" gibt es zwischen den Altersgruppen signifikante Unterschiede, die jedoch keinen Trend in eine bestimmte Richtung zeigen. Bei "Fisch" hingegen wird in der älteren Gruppe das Braten bevorzugt und das Grillen im einem höheren Maße nie angewendet als in den beiden jüngeren Altersgruppen. Diese Unterschiede wurden in anderen Untersuchungen nicht beobachtet. Dies liegt zum einen daran, dass die Lebensmittel nicht abgefragt wurden, zum anderen wurden Unterschiede bei anderen Lebensmitteln festgestellt. Beispielsweise wurde in der Studie von Byrne et al. (1998) in der jüngeren Gruppe bevorzugt gegrilltes Huhn verzehrt, während es in der älteren Gruppe eher gebratenes Huhn ist. In der Heidelberger Gruppe sind solche Unterschiede nicht in diesem Ausmaß zu sehen. Dies wurde auch bei Rindersteak beobachtet.

Zusammenfassend kann hier der Schluss gezogen werden, dass sich die Verwendung von Zubereitungsarten für Fleisch und Fisch weniger zwischen Männern und Frauen bzw. verschiedenen Altersgruppen eines Landes oder einer Region unterscheiden, wohl aber Unterschiede zwischen verschiedenen Ländern existieren. Diese Unterschiede werden durch die Analysedaten aus den 24-Stunden-Recalls zur Zubereitung von Fleisch und Fisch bestätigt (Rohrmann et al. 2001, in preparation). Auch hier wird deutlich, wie unterschiedlich die Ernährungsgewohnheiten in einzelnen Ländern und Regionen Europas sind.

### **4.3 Bräunungsgrad**

Der überwiegende Teil der in der vorliegenden Untersuchung befragten Personen bevorzugt den Verzehr von Lebensmitteln, die kaum oder mäßig gebräunt sind (79-95%). Lediglich 5-21% der Teilnehmer bevorzugten stark gebräunte Lebensmittel. Damit unterscheiden sich die Ergebnisse deutlich von jenen der schwedischen und der US-amerikanischen Studien (Augustsson et al. 1997, Byrne et al. 1998). In der schwedischen Untersuchung bevorzugten 84% der Teilnehmer bei sechs gebratenen Gerichten diese mäßig bzw. stark gebräunt (Augustsson et al. 1997). In der US-amerikanischen Studie bevorzugten je nach Lebensmittel und Zubereitungsart zwischen 2% (Huhn und Fisch) und 67% (Speck) der Befragten den stärksten Bräunungsgrad. Vor allem Hamburger, Speck und gebratene Würstchen wurden bevorzugt sehr stark gebräunt verzehrt (Byrne et al. 1998). Vergleicht man den bevorzugten Bräunungsgrad von Speck in der Heidelberger und den amerikanischen Kohorten miteinander, sind es in den US-amerikanischen Gruppen zwischen 24% und 68% der Befragten, die den höchsten Bräunungsgrad bevorzugen, während es in Heidelberg lediglich 9% derjenigen waren, die angaben, "Speck und Schweinebauch" zu essen.

Die Angaben zum bevorzugten Bräunungsgrad unterscheiden sich in der Heidelberger Untersuchung nicht signifikant zwischen Männern und Frauen. In der amerikanischen Studie bestehen bei den Angaben zum bevorzugten Bräunungsgrad von Speck und gebratenen Würstchen größere Unterschiede (Byrne et al. 1998). In den beiden weiblichen Kohorten wurde deutlich häufiger der Verzehr von stark gebräuntem Speck bzw. stark gebräunten Würstchen angegeben als in der männliche Kohorte.

Betrachtet man in der vorliegenden Untersuchung die Angaben zum Bräunungsgrad unterteilt in den drei Altersgruppen, zeigen sich einige Unterschiede. So nimmt der Anteil der Personen, die "Rindersteak, -filet und -lende" wenig gebräunt essen, mit dem Alter zu. Dieser Trend zeichnet sich auch in der Lebensmittelgruppe "Rinderbraten, -rouladen und -gulasch" ab. In der US-amerikanischen Untersuchung sind bei Roast Beef bzw. bei Steak keine großen Unterschiede zwischen den beiden Kohorten der Nurses Health Study festzustellen. Hingegen zeigen sich deutliche Unterschiede bei in der Pfanne bzw. im Ofen gebratenem Speck. In der Gruppe der zwischen 1921 und 1945 geborenen Krankenschwestern bevorzugten mit 60%-68% der Befragten deutlich mehr den stärksten Bräunungsgrad als in der jüngeren Gruppe, wo dieser nur von 24%-44% bevorzugt wurde (Byrne et al. 1998).

Möglicherweise deuten die Ergebnisse auf einen systematischen Fehler bei der Auswahl der Studienteilnehmer (Selection Bias) hin. Im Gegensatz zur schwedischen Untersuchung (Augustsson et al. 1997) geben in der Heidelberger Studie weniger Personen an, dass sie bevorzugt stark gebräuntes Fleisch verzehren. Da im Anschreiben, das dem HAA-Fragebogen beilag, auf die Freiwilligkeit der Teilnahme an dieser Pilotstudie hingewiesen wurde, besteht die Möglichkeit, dass vor allem jene Personen, die am Thema Ernährung sehr interessiert und überdurchschnittlich gesundheitsbewusst sind, teilgenommen haben. Bei diesen Personen handelt es sich häufig um solche Personen, die ein "gesünderes" Ernährungsverhalten haben als der Durchschnitt der Bevölkerung und damit auch ihr Fleisch möglicherweise anders zubereiten. Die mit 77% recht hohe Teilnehmerate dieser Pilotstudie legt diese Vermutung weniger nahe als die mit 37,2% eher mittelmäßige Teilnehmerate an EPIC-Heidelberg allgemein. Auf eine positive Auswahl der EPIC-Teilnehmer deutet unter anderem hin, dass "keine Lust, kein Interesse" die wichtigste Begründung für eine Nichtteilnahme war (Bussas & Becker 2000).

## 5 Welche Relevanz haben die HAA-Aufnahme und die Zubereitung von Fleisch und Fisch für die Krebsentstehung?

Seit Entdeckung der Kanzerogenität von HAA Anfang der 1980er Jahre (Sugimura 1997, Shirai et al. 1995, Adamson et al. 1990) wurden immer wieder epidemiologische Studien durchgeführt, in denen untersucht wurde, ob HAA auch beim Menschen die Entstehung von Tumoren beeinflussen, d. h. das Krebsrisiko erhöhen können. Anfänglich wurde in den Studien die HAA-Aufnahme nur grob über den Bräunungsgrad und die Zubereitungsart der Lebensmittel eingeschätzt (Probst-Hensch et al. 1997), wobei davon ausgegangen wurde, dass ein Lebensmittel um so mehr HAA enthält, je stärker es gebräunt und je höher die Temperatur bei der Zubereitung ist. Weitere Studien wurden durchgeführt, in denen die HAA-Aufnahme anhand von Literaturdaten zum HAA-Gehalt von Lebensmitteln in verschiedener Zubereitung berechnet wurde (de Stefani et al. 1998a, 1998b, 1997a, 1997b). Diese Studien zeigten alle einen signifikanten Zusammenhang zwischen der HAA-Aufnahme und dem Krebsrisiko verschiedener Lokalisationen. Bei diesen Studien ist allerdings zu beachten, dass die HAA-Aufnahme nur sehr grob eingeschätzt wurde und die Daten, die den Studien zugrunde liegen, häufig nicht „praxisnah“ sind. Das bedeutet, dass die Lebensmittel auf eine Art und Weise zubereitet wurden, die nicht haushaltsüblichen Methoden entspricht (Keating & Bogen 2001, Skog et al. 1998).

Die Studien, in denen die HAA-Aufnahme am genauesten erfasst wurde, sind die Studien von Augustsson et al. (1999a, 1997) sowie Sinha et al. (2001, 2000a, 2000b) und Delfino et al. (2000). In diesen Untersuchungen wurden Fragebögen verwendet, die zur Erfassung der HAA-Aufnahme entwickelt wurden.

Eine Studie aus Schweden (Augustsson et al. 1999a) konnte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der HAA-Aufnahme und dem Risiko an Kolon-, Rektum-, Blasen- bzw. Nierenkrebs finden. Nur für Teilnehmer der Studie, deren Aufnahme über 1900 ng/Tag lag, konnte ein erhöhtes Krebsrisiko nachgewiesen werden. Die Anzahl dieser Personen war allerdings sehr klein, so dass das Ergebnis auch auf Zufall beruhen kann.

Ebenso wenig wie Augustsson et al. (1999a) konnten auch Norrish et al. (1999) einen Zusammenhang zwischen der HAA-Aufnahme und der Entstehung von Prostatakrebs finden. In ihrer Kohortenstudie stellten sie zwar ein signifikant erhöhtes Krebsrisiko bei Personen, die durchgebratenes oder sehr gut durchgebratenes Rindersteak bevorzugten, fest, aber es fand sich für keines der untersuchten HAA ein solcher Zusammenhang. In dem Quartil mit der jeweils höchsten HAA-Aufnahme gab es zwar immer ein erhöhtes relatives Risiko, das jedoch nicht signifikant war.

In einer US-amerikanischen Fall-Kontroll-Studie von Delfino et al. (2000), in der ein Fragebogen zur Erhebung der HAA-Aufnahme (in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Sinha) eingesetzt wurde, konnte kein Zusammenhang zwischen der HAA-Aufnahme und dem Brustkrebsrisiko nachgewiesen werden. Auch eine Analyse stratifiziert nach dem Acetyliererstatus zeigte keinen Einfluss der HAA-Aufnahme auf das Brustkrebsrisiko. Eine weitere US-amerikanische Kohortenstudie fand demgegenüber ein signifikant erhöhtes Risiko bei hoher PhIP-Aufnahme (1. im Vergleich zum 5. Quintil der PhIP-Aufnahme) mit einem Odds Ratio (OR) von 1,9 (Sinha et al. 2000b).

Sinha et al. (2000a) untersuchten in einer Fall-Kontroll-Studie in Missouri den Einfluss verschiedener HAA auf die Entstehung von Lungenkrebs. Dabei zeigte sich ein sehr differenziertes Bild für die einzelnen HAA und auch für verschiedene Personengruppen in der Studie. Als einziges HAA hatte MeIQx einen erhöhenden Effekt auf das Lungenkrebsrisiko, während für die anderen kein Effekt nachgewiesen werden konnte. Wurde der Einfluss von MeIQx auf Raucherinnen genauer untersucht, zeigte sich ein signifikant erhöhtes Krebsrisiko durch MeIQx bei Nichtraucherinnen sowie Frauen, die wenig rauchen, nicht jedoch bei starken Raucherinnen.

Neben Studien, die den Einfluss von HAA auf das Krebsrisiko untersuchen, gibt es mittlerweile einige, die den Zusammenhang zwischen der Fleischzubereitung und Krebs untersuchen (vgl. Tab. 1-3).

Die meisten Studien wurden zum Zusammenhang zwischen der Fleischzubereitung und dem Risiko für kolorektale Tumoren durchgeführt. Schiffman und Felton (1990) fanden in einer US-amerikanischen Untersuchung einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Risiko für kolorektale Tumoren und dem Verzehr von gut durchgebratenem Fleisch (OR=3,5). Zwei Jahre vorher hatten Lyon und Mahoney (1988) keinen Zusammenhang gefunden und auch Muskat und Wynder (1994) fanden in ihren Untersuchungen keine Hinweise auf eine Beeinflussung des Risikos für kolorektale Tumoren durch die Zubereitung von Fleisch. In drei neueren Studien wurden dagegen erhöhte Risiken im Zusammenhang mit der Zubereitung von Fleisch berechnet. Von Probst-Hensch und Mitarbeitern (1997) wurde ein erhöhtes Odds Ratio für kolorektale Adenome und den häufigen Verzehr von gut durchgebratenem Fleisch gefunden (OR=1,8), bei Voskuil (1999) fand sich in der Gruppe der nicht-erblichen kolorektalen Tumoren ein erhöhtes Risiko durch den Verzehr von stark gebräuntem Fleisch im Vergleich zu Personen, die ihr Fleisch weniger stark gebräunt verzehren (OR=3,0), und in der Untersuchung von Sinha et al. (1999) fand sich ein Zusammenhang zwischen dem häufigen Verzehr von gebratenem sowie gegrilltem rotem Fleisch und dem Auftreten kolorektaler Adenome (OR=1,8 bzw. 2,2). In einer späteren Auswertung dieser Studie (Sinha et al. 2001) wurde auch ein Zusammenhang mit der Höhe der MeIQx-Aufnahme gefunden; pro 10 ng Zunahme der MeIQx-Aufnahme wurde ein um 5% erhöhtes Risiko für kolorektale Adenome berechnet. PhIP zeigte nach Adjustierung für die Aufnahme von MeIQx und DiMeIQx keinen signifikanten Einfluss auf das Risiko mehr.

Zwei von drei Untersuchungen, die neben der Zubereitungsart des Fleisches auch den Acetyliererstatus in die Auswertungen einbezogen, berechneten erhöhte Odds Ratios zwischen dem Verzehr von gebratenem Fleisch und dem Auftreten kolorektaler Tumoren. In beiden Studien waren die Risiken auch bei nicht nach dem Acetyliererstatus stratifizierter Analyse signifikant erhöht, jedoch waren sie in der Gruppe der schnellen Acetylierer höher im Vergleich zu langsamen Acetylierern (Welfare et al. 1997, Lang et al. 1994). In der Studie von Kampman et al. (1999) fand sich lediglich in der Gruppe der schnellen Acetylierer ein leicht erhöhtes Risiko für kolorektale Tumoren in der höchsten Verzehrskategorie von verarbeiteten Fleischprodukten im Vergleich zu Personen in der untersten Kategorie. Kein Zusammenhang konnte jedoch für die Zubereitung von Fleisch sowie den Garegrad nachgewiesen werden.

Sowohl Deneo-Pellegrini und Mitarbeiter (1996) als auch Sinha und Mitarbeiter (1998b) konnten einen Zusammenhang zwischen dem Verzehr von gebratenem Fleisch und dem Lungenkrebsrisiko nachweisen (OR=1,92 bzw. 1,5).

Bei Brustkrebs finden sich bei Durchsicht der vorhandenen Literatur sehr unterschiedliche Ergebnisse. Während sich bei Knekt et al. (1994) in Finnland und Zheng et al. (1999) in den USA ein erhöhtes Brustkrebsrisiko im Zusammenhang mit der Fleischzubereitung fand, konnten weder Ambrosone und Mitarbeiter (1998) noch die Arbeitsgruppe von Gertig (1999) Hinweise auf einen Einfluss der Fleischzubereitung auf das Brustkrebsrisiko entdecken. Deitz und Mitarbeiter (2000) berechneten für schnelle und intermediäre Acetylierer ein erhöhtes Risiko bei dem bevorzugten Verzehr von durchgebratenem Fleisch im Vergleich zu Personen, die das Fleisch weniger gut durchgebraten verzehren (OR=3,3). Wurden alle Frauen ungeachtet des Acetyliererstatus in die Analyse einbezogen, konnte kein Effekt der Fleischzubereitung auf das Brustkrebsrisiko nachgewiesen werden.

## V AUSBLICK

Nach der Entwicklung des Kurzfragebogens zur Erfassung der HAA-Aufnahme stellt sich die Frage nach dem Einsatz dieses Instrumentes.

Das nächstliegende Projekt ist der Einsatz des HAA-Fragebogens im zweiten Follow-up von EPIC-Heidelberg. Seit Januar 2001 (Start des zweiten Follow-up in Heidelberg) wird der in dieser Arbeit beschriebene HAA-Kurzfragebogen in modifizierter Form zusammen mit einem FFQ eingesetzt. Die Veränderungen wurden vorgenommen, da neuere Studien (Sinha et al. 1999, 1998a, Probst-Hensch et al. 1997) nahe legen, dass bei dem Einfluss von Fleisch auf die Krebsentstehung nicht nur die HAA eine Rolle spielen, sondern auch die Art der Zubereitung einen Effekt hat. So wurden die Zubereitungsarten „Kochen oder Erhitzen“ sowie „Panieren und Braten“ aufgenommen. Dies gibt den Studienteilnehmern die Möglichkeit, aus einer größeren Anzahl von Zubereitungsarten als im vorhergehenden Fragebogen zu wählen. Es wird auf diese Art möglich zwischen Personen zu unterscheiden, die z. B. vermehrt Zubereitungsarten anwenden, die zu hohen Temperaturen führen (Grillen, Kurzbraten) und anderen Personen, die schonendere Zubereitungen bevorzugen (Kochen, Erhitzen). Der Schwerpunkt des Fragebogens liegt damit nicht mehr allein auf den HAA, sondern auch auf der Verschiedenartigkeit der Zubereitungsmethoden. Die Möglichkeit die HAA-Aufnahme zu berechnen bleibt bestehen.

Im zweiten deutschen EPIC-Zentrum Potsdam begann das zweite Follow-up bereits zu Beginn des Jahres 2000, zu einem Zeitpunkt, zu dem die hier vorgestellte Untersuchung noch nicht abgeschlossen war. Es ist jedoch geplant auch in Potsdam eine Erhebung zu der Fragestellung Fleisch- und Fischzubereitung und HAA-Aufnahme zu machen. Zu diesem Zweck soll eine Internetversion des Fragebogens entwickelt werden, die von den Teilnehmern online ausgefüllt werden kann. Dies wird der erste Versuch sein, einen Teil der Erhebungen im Rahmen von EPIC mit Hilfe des Internets umzusetzen.

Die aus diesen Erhebungen resultierenden Ergebnisse sind vor allem im Hinblick auf die Krebsinzidenz interessant. Aus diesem Grund ist es wichtig, dass diese Erhebungen nicht allein auf die deutschen Studienzentren beschränkt bleiben, sondern auch in anderen Teilnehmerländern von EPIC durchgeführt werden. Nur wenn aus Ländern mit unterschiedlichen Ernährungs- und Zubereitungsgewohnheiten und v. a. auch unterschiedlichen Krebsinzidenzen Daten zur Verfügung stehen, können die Zusammenhänge zwischen Fleischzubereitung, HAA-Aufnahme und Krebsrisiko tiefergehend untersucht und Schlussfolgerungen gezogen werden. Aus diesem Grund wurde auf einem im November 1999 in der Abteilung Klinische Epidemiologie stattfindenden Arbeitstreffen, an dem die Vertreter verschiedener EPIC-Zentren teilnahmen, die Entwicklung eines Fragebogens zum Einsatz in der gesamten EPIC-Kohorte diskutiert (siehe Kapitel 6 im Anhang). Nach diesem Treffen wurde, basierend auf einer Auswertung der innerhalb von EPIC durchgeführten 24-Stunden Erinnerungsprotokolle (Rohrman et al. 2001, in Vorbereitung), ein international verwendbarer Fragebogen entwickelt. Dieser Fragebogen erfasst die Zubereitung von Fleisch und

Fisch sowie den Bräunungs- und Garegrad der erfragten Lebensmittel und lässt eine Berechnung der HAA-Aufnahme zu. Der internationale Fragebogen umfasst jene Fleisch- und Fischarten, die in EPIC am häufigsten verzehrt werden und bildet ein Grundgerüst für die Erfassung der Zubereitung von Fleisch und Fisch in EPIC. Für die einzelnen Länder und Studienzentren sollte die Möglichkeit bestehen, den Fragebogen an die herrschenden Ernährungsgewohnheiten anzupassen. Dies kann bedeuten, dass einzelne Lebensmittel herausgenommen oder andere zugefügt werden. Auch einzelne, lokal wichtige Zubereitungsarten sollten dann aufgenommen werden.

Wichtig wäre bei der Durchführung einer Studie, die das Ziel der Erhebung der Zubereitungsmethoden von Fleisch und Fisch sowie der HAA-Aufnahme hat, dass die Datenerhebung möglichst bald erfolgt, um einen ausreichend langen Zeitraum zwischen der Datenerhebung und der Beendigung von EPIC zu haben. Nur so kann gewährleistet werden, dass eine ausreichende Zahl inzidenter Krebsfälle registriert wird. Hier bietet EPIC als erste Kohortenstudie die Möglichkeit, die Zubereitung von Fleisch und Fisch für Regionen mit sehr unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten zu erfassen.

Denkbar ist, wenn eine Erhebung für alle Teilnehmer von EPIC oder einer repräsentativen Stichprobe nicht möglich ist, eine Anwendung des Fragebogens im Rahmen von eingebetteten Fall-Kontroll-Studien, z. B. zu Brust- oder Kolonkrebs. Auch dieses Vorgehen kann zu einer weiteren Klärung der Zusammenhänge zwischen der Nahrungszubereitung und der Krebsentstehung beitragen.

Abgesehen von dem Einsatz des Fragebogens ist eine weitergehende systematische Untersuchung des HAA-Gehaltes in zubereitetem Fleisch und Fisch innerhalb von Europa sinnvoll. Dies sollte innerhalb eines Projektes, in dem die Aufnahme an HAA erfasst werden soll, eingeplant werden. So kann eine Datenbank aufgebaut werden, in der neben schon vorhanden Daten auch Angaben zu landestypischen Lebensmitteln, wie z. B. Leberkäse in Deutschland oder Falunwurst in Schweden, aufgenommen werden. Eine möglichst umfassende, auf standardisiert ermittelten Methoden basierende Datenbank macht die Berechnung der HAA-Aufnahme genauer und trägt dazu bei, ein möglicherweise vorhandenes Krebsrisiko durch die Aufnahme dieser Substanzen zu erkennen und das Ausmaß quantifizieren zu können.

## VI ZUSAMMENFASSUNG

### *Gegenstand und Ziel der Untersuchung*

Heterozyklische aromatische Amine (HAA) werden bei der Zubereitung von Fleisch und Fisch aus Kreatinin, Aminosäuren und Zucker bei Temperaturen über 130°C gebildet. Das quantitative Ausmaß der HAA-Bildung ist dabei abhängig von Temperatur, der Dauer und der Art der Zubereitung. Absehen vom Fleisch selbst werden auch im Bratrückstand teilweise hohe HAA-Gehalte nachgewiesen. In den höchsten Konzentrationen (bis zu 480 ng/g zubereitetem Lebensmittel) ist in Lebensmitteln das HAA *PhIP* zu finden. *MeIQ<sub>x</sub>* wird in Mengen bis zu 23 ng/g nachgewiesen. Die Konzentration weiterer häufig nachgewiesener HAA (*DiMeIQ<sub>x</sub>*, *IQ* und *MeIQ*) liegt meist bei 1 ng/g oder weniger.

Die im Körper aus den HAA gebildeten Metabolite sind in der Lage mit der DNA Bindungen einzugehen und Mutationen auszulösen, die dann tumorinitierend wirken können. Aufgrund der kanzerogenen Wirkung in Tiermodellen wurden epidemiologische Studien über den Zusammenhang zwischen der alimentären HAA-Aufnahme und dem Krebsrisiko durchgeführt. Während in einigen dieser Fall-Kontroll-Studien positive Zusammenhänge zu verschiedenen Tumorarten gefunden wurden, war in anderen Studien kein solcher Zusammenhang nachweisbar.

Die Erfassung der alimentären HAA-Aufnahme gestaltet sich schwierig, da es zur Zeit keine einheitliche Datenbasis gibt, auf die man zur Berechnung zurückgreifen kann. Dies liegt zum einen daran, dass die Analysen von Lebensmitteln bezüglich des HAA-Gehaltes von den verschiedenen Arbeitsgruppen nicht einheitlich vorgenommen wurden. Zum anderen liegt dies aber auch daran, dass in verschiedenen Ländern Fleisch und Fisch auf unterschiedliche Arten zubereitet werden und dies einen starken Einfluss auf den HAA-Gehalt hat.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, innerhalb von EPIC Heidelberg einen kurzen Fragebogen zu entwickeln und zu validieren, der die Aufnahme an HAA sowie die Zubereitungsmethoden der wichtigsten Fleisch- und Fischlebensmittel erfasst.

### *Untersuchungsmethoden*

Zunächst wurde eine erste Version des HAA-Fragebogens entwickelt, der jene Lebensmittel erfasste, die zum einen häufig verzehrt werden sowie jene, die aufgrund ihrer Zubereitung einen großen Anteil an der HAA-Aufnahme haben können. Für die Lebensmittel wurde die Verwendung von zur HAA-Aufnahme relevanten Zubereitungsformen sowie der bevorzugte Bräunungsgrad erfragt. Aus der verzehrten Fleischmenge, der Zubereitungsart sowie dem Bräunungsgrad kann für jeden Teilnehmer die HAA-Aufnahme berechnet werden. Neben der HAA-Aufnahme aus dem Fleisch bzw. Fisch selbst wurde auch die Aufnahme aus Sauce, die aus dem Bratrückstand hergestellt wurde, berechnet.

Diese ersten Fragebogenversion wurde an 500 EPIC-Teilnehmer in Heidelberg verschickt, 385 sandten einen ausgefüllten Fragebogen innerhalb von vier Monaten zurück. Auf Basis der Ergebnisse dieses längeren, ausführlicheren Fragebogens wird in einem zweiten Schritt ein gekürzter Fragebogen erstellt, der in der Lage ist die HAA-Aufnahme wiederzugeben. Dieser umfasst noch sieben Lebensmittel und eine reduzierte Anzahl von Zubereitungsmethoden pro Lebensmittel. Diese gekürzte Version wurde an jene 385 Teilnehmer verschickt,



von denen die Angaben des längeren HAA-Fragebogens vorlagen. Innerhalb von weiteren vier Monaten wurde die gekürzte Version von 344 Teilnehmern zurückgeschickt.

Für diese Teilnehmer wurde die Gesamtaufnahme an HAA sowie der einzelnen HAA aus der langen und der kurzen Fragebogenversion berechnet und miteinander verglichen. Zum Vergleich der beiden Fragebogenversionen wurde der Spearman Rangkorrelationskoeffizient berechnet und ein Quintilsvergleich durchgeführt. Neben der berechneten HAA-Aufnahme wurden auch die Angaben zum Bräunungsgrad und zur Verwendung der Zubereitungsarten zwischen den beiden Fragebogenversionen verglichen.

### *Ergebnisse der Arbeit*

1. Der zunächst 26 Kombinationen aus Lebensmitteln und verschiedenen Zubereitungsarten umfassende HAA-Fragebogen wurde mit Hilfe eines varianzbasierten statistischen Verfahrens, Max\_r, nochmals gekürzt. Die aus dem umfassenderen ersten HAA-Fragebogen entwickelte kurze Version erfasst mit zwölf Kombinationen aus Lebensmitteln und Zubereitungsmethoden 99% der Varianz der HAA-Aufnahme.
2. Die HAA-Aufnahme berechnet aus der kurzen Version des Fragebogens unterscheidet sich für Gesamt-HAA sowie die Einzelsubstanzen nicht signifikant von den Ergebnissen des langem Fragebogens. Der Spearman Rangkorrelationskoeffizient zwischen der HAA-Aufnahme aus der kurzen und der langen Fragebogenversion reicht von 0,46 (PhIP) bis 0,6 (MeIQx). Im Quintilsvergleich werden zwischen 70% und 78% der Teilnehmer je nach HAA in dasselbe oder ein angrenzendes Quintil eingeordnet, die Fehlklassifikation in entgegengesetzte Quintile liegt bei  $\leq 3.5\%$ .
3. Bezüglich der Angaben zur Verwendung der Zubereitungsarten für die erfragten Lebensmittel reicht der Anteil der übereinstimmenden Antworten zwischen der längeren und der gekürzten Fragebogenversion von 37% bis 69%, beim Bräunungsgrad stimmen 40-61% der Antworten überein.
4. Der Median der HAA-Gesamtaufnahme berechnet aus der kurzen Version des HAA-Fragebogens beträgt 103 ng/Tag, die Aufnahme an PhIP, MeIQx und DiMeIQx liegt bei 63, 34 und 2 ng/Tag. Den höchsten Beitrag an der HAA-Aufnahme hatte die Lebensmittelgruppe "Brathuhn, Putenschnitzel und -geschnetzeltes" mit 44%, danach folgten "Fisch" mit 35% und "Rinderbraten, -gulasch und -rouladen" mit 8%. Der Median der HAA-Aufnahme aus diesen Lebensmittels betrug in der gekürzten Fragebogenversion 15, 15 bzw. 4 ng/Tag. Der Anteil an HAA, der durch Sauce aufgenommen wird, beträgt 20,6%.

### *Schlussfolgerungen*

1. Die kurze Version des entwickelten HAA-Fragebogens zeigt im Vergleich zu der umfassenderen Version eine gute Validität. Der entwickelte HAA-Kurzfragebogen erscheint aufgrund der Validierungsergebnisse geeignet, die HAA-Aufnahme zu erfassen.

2. Die berechnete HAA-Aufnahme ist vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Studien, in denen ein Fragebogen zur Erfassung der HAA-Exposition eingesetzt wurde. In schwedischen Studien wurde eine mittlere Aufnahme von 77-160 ng/Tag berechnet, Studien in den USA zeigten etwas höhere Ergebnisse. Werden jedoch einzelne HAA bzw. Lebensmittel betrachtet, zeigen sich deutliche Unterschiede in deren Beitrag zur HAA-Aufnahme. Dies ist auf unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten und Kochmethoden in den verschiedenen Regionen zurückzuführen.
3. Die Daten, die zur Berechnung der HAA-Aufnahme verwendet werden, haben einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf die berechnete Aufnahme. Deshalb sollte beim Vergleich von Berechnungen aus verschiedenen Studien auf die Vergleichbarkeit der Datengrundlage geachtet werden. Dies ist v. a. dann wichtig, wenn keine eigenen Analysen verwendet werden, sondern auf Literaturdaten aus verschiedenen Studien zurückgegriffen wird.
4. Eine Validierung des HAA-Fragebogens ist schwierig. Eine sinnvolle Art der Validierung wäre die Verwendung der Duplikatmethode. Problematisch daran ist jedoch der Laborbedarf für die HAA-Analyse und die damit verbundenen hohen Kosten. Biologische Methoden, besonders die Messung von DNA-Addukten, sind zum einen noch nicht sensitiv genug, zum anderen ist die Frage noch ungeklärt, inwieweit die Bildung von HAA-DNA-Addukten mit der alimentären HAA-Aufnahme korreliert.
5. Der entwickelte Fragebogen wird in leicht abgewandelter Form im 2. Follow-up von EPIC in Heidelberg angewandt. Geplant ist außerdem ein Einsatz des Fragebogens in der Studienregion Potsdam, den die Teilnehmer im Internet ausfüllen können. Darüber hinaus bietet EPIC als erste Kohortenstudie die Möglichkeit, die Zubereitung von Fleisch und Fisch für Regionen mit sehr unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten zu erfassen. Die Anwendung des Fragebogens EPIC-Teilnehmerländern mit unterschiedlichen Arten der Fleisch- und Fischzubereitung bietet die Möglichkeit den Zusammenhang mit der Krebsentstehung tiefergehend zu untersuchen.

## VII SUMMARY

### *Background and aim of the study*

Heterocyclic aromatic amines were formed out of creatinine, sugar, and amino acids when meat and fish are cooked at temperatures higher than 130°C. The quantity of HAA production depends on temperature and duration of cooking as well as the cooking method. Apart from the meat itself, meat drippings and gravy made from these drippings contain considerable amounts of HAA. PhIP is found in cooked, especially in fried, grilled, or barbecued meat and fish in concentrations up to 480 ng/g cooked meat, MeIQx is detected in concentrations up to 23 ng/g, whereas much lower concentrations of DiMeIQx, IQ, and MeIQ are observed (in most cases less than 1 ng/g).

HAA are metabolically activated in the liver. These metabolites are able to react with DNA forming DNA adducts that can be mutagenic and carcinogenic. Since the carcinogenicity of different HCA has been proven in animal studies, epidemiologic studies on the association between alimentary HAA intake and cancer risk have been conducted. While some of these studies demonstrated positive correlations, in others no associations were observed.

Assessing HAA intake is crucial since there are no standardised databases including a large number of different foods analysed for their HAA concentration. One reason is that analyses were not made with standardised methods by different research groups. Another reason is that meat and fish is prepared in different ways all over the world. Thus the HAA concentration differs greatly in the foods consumed.

It was the aim of this pilot study to develop and validate a short questionnaire in EPIC Heidelberg that can assess the alimentary intake of HAA, as well as the most important meat and fish items and cooking methods.

### *Material and methods*

In the first version of the questionnaire, meat and fish items were included that were consumed in high amounts as well as those, that may contribute highly to HAA intake due to their preparation methods. Relevant cooking methods and degree of browning were assessed for all items. In total, 26 combinations of food items and cooking methods were included in this first version of the questionnaire. HAA intake was computed from the amount of the consumed meat and fish items, the cooking method, and the degree of browning. Apart from the HAA intake from meat and fish itself, intake from gravy prepared of pan-residues was calculated. This first version of the questionnaire was sent to 500 randomly selected participants of EPIC Heidelberg, of which 385 sent the questionnaire back within four months. On the basis of their results a shorter questionnaire was developed including only seven food items and a reduced number of cooking methods per item. This short version was sent out to the 385 participants, of which 344 returned it.

The intake of total HAA and of single HAA was calculated from both versions of the questionnaire and compared with each other. Spearman rank correlation coefficient was calculated. The ability of the shorter version to correctly classify people according to their intake was measured by cross-classification of quintiles. Answers concerning degree of browning and use of cooking methods were compared between both versions as well.

*The most important results of the study*

1. The first version of the questionnaire that comprised 26 combinations of food items and cooking methods was shortened by means of a variance based method, Max\_r. The resulting short version of the questionnaire included 12 combinations and assessed 99% of the between-person variation of HAA intake.
2. The intake of HAA neither differs significantly for total HAA nor for single HAA between the long and the short version of the questionnaire. Spearman rank correlation coefficient between the short and the longer version of the questionnaire ranges between 0.46 (PhIP) and 0.6 (MeIQx). When classified by quintiles of intake between 70% and 78% of the participants were assigned to the same or an adjacent quintile by both versions of the questionnaire, classification into extreme quintiles was 3.5% or less.
3. Questioning the use of cooking methods, 37-69% of the participants gave consistent answers in both versions of the questionnaire. With respect to the preferred degree of browning of the consumed meat and fish items 40% up to 61% of the participants responded in the short version in agreement with the longer version.
4. The median intake of total HCA amounted to 103 ng/day as assessed with the short version, the intake of PhIP, MeIQx, and DiMeIQx were 63, 34, and 2 ng/day, respectively. 'Fried chicken and turkey' contributed most to total HAA intake (44%), next important was 'fish' adding 35% to the intake. 'Roast beef, beef roulade, goulash' made a contribution of 8% to the total intake. Median intake from these food groups were 15, 15, and 4 ng/day, respectively. Consumption of gravy added 20.6% to the total intake of HAA.

*Conclusions*

1. The short version of the HAA questionnaire demonstrates a good validity in comparison to the longer version. The developed questionnaire therefore seems to be able to assess the alimentary intake of HAA.
2. The calculated HAA intake is comparable with the results of other studies that used a special questionnaire for the assessment of the HAA intake. In Swedish studies, a median intake of 77-160 ng/day was computed, studies conducted in the USA gave higher outcomes. Looking at the results of single HAA or food items, differences between the countries arise that can be attributed to different nutrition patterns and cooking traditions in these different countries.
3. Data on HAA concentration in foods used to calculate the intake of HAA have a severe influence on the calculated intake. For this reason one should take account of the differences of the data bases when comparing studies on HAA intake. This is especially important when own analysis of HAA concentration in foods are not made, but data from the literature is used.

4. Validating a questionnaire for the assessment of HAA is difficult. The most suitable way would be the double portion method, yet this is not appropriate because of high costs for the analysis in the laboratory. Biological methods, especially the use of DNA-adducts, are still not sensitive enough and, in addition, it is not clear whether the intake of HAA correlates with the amount of DNA-adducts measured.
5. The developed questionnaire is used in the 2<sup>nd</sup> follow-up in EPIC Heidelberg in a slightly revised form. It is also planned to use the questionnaire in the Potsdam study centre as well, where the participants will be able to fill in the questionnaire via internet. EPIC is the first cohort study that offers the opportunity to obtain information on cooking methods of meat and fish in different regions of Europe with a variety of consumption habits. Using the questionnaire at least in some of these countries and regions provides a fairly good chance to gain knowledge on the association between meat and fish preparation, HAA intake and cancer risk.

**VIII LITERATURVERZEICHNIS**

- (1) *Abdulkarim BG, Smith JS.* Heterocyclic Amines in Fresh and Processed Meat Products. *J-Agric-Food-Chem* 46: 4680-87, 1998
- (2) *Adamson RH, Thorgeirsson UP, Snyderwine EG et al.* Carcinogenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in nonhuman primates: induction of tumors in three macaques. *Jpn J Cancer Res* 81:10-14, 1990.
- (3) *Ambrosone CB, Freudenheim JL, Sinha R et al.* Breast Cancer Risk, Meat Consumption and N-Acetyltransferase (NAT2) Genetic Polymorphisms. *Int-J-Cancer* 75: 825-30, 1998
- (4) *Augustsson K, Lindblat J, Övervik E et al.* A population-based dietary interventory of cooked meat and assessment of the daily intake of mutagens. *Fd-Add-Contamin* 16: 215-25, 1999 (b)
- (5) *Augustsson K, Skog K, Jägerstad M et al.* Assessment of the human exposure of heterocyclic amines. *Carcinogenesis* 18: 1931-35, 1997
- (6) *Augustsson K, Skog K, Jägerstad M et al.* Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study. *Lancet* 353: 703-07, 1999 (a)
- (7) *Barrington PJ, Baker RSU, Truswell AS et al.* Mutagenicity of basic fractions derived from lamb and beef cooked by common household methods. *Fd-Chem-Toxicol* 28: 141-46, 1990
- (8) *Bayer C, Korfmann A, Becker N.* Entwicklung eines Fragebogens zur Erhebung der ernährungsbedingten Aufnahme heterozyklischer aromatischer Amine. *Z-Ernährungswiss* 36: 97, 1997
- (9) *Becker N.* Das europäische Vorhaben "European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)". *Forum-DKF* 12: 178-185, 1997
- (10) *Bergmann M, Bussas U, Boeing H.* Follow-Up Procedures in EPIC-Germany - Data Quality Aspects. *Ann-Nutr-Metabol* 43: 225-34; 1999
- (11) *Bingham SA, Gill C, Welch A et al.* Comparison of dietary assessment methods in nutritional epidemiology: weighed records v. 24 h recalls, food-frequency questionnaires and estimated-diet records. *Brit. J. Nutr.* 1994; 72: 619-43.
- (12) *Bjeldanes LF, Morris MM.* Mutagens from the cooking of food. III. Survey by Ames/Salmonella test of mutagen formation in secondary sources of cooked dietary protein. *Fd-Chem-Toxicol* 20: 365-69, 1982
- (13) *Bland JM, Altman DG.* Statistical Methods for Assessing Agreement between Two Methods of Clinical Measurement. *Lancet (I)*: 307-10, 1986
- (14) *Block G, Clifford C, Naughton MD et al.* A Brief Dietary Screen for High Fat Intake. *J-Nutr-Educ* 21: 199-207, 1989
- (15) *Block G, Dresser CM, Hartman AM et al.* Nutrient Sources in the American Diet: Quantitative Data from the NHANES II Survey. II. Macronutrients and Fats. *Am-J-Epidemiol* 122: 27-40, 1985
- (16) *Block G, Hartman AM.* Issues in reproducibility and validity of dietary studies. *Am-J-Clin-Nutr* 50: 1133-38, 1989
- (17) *Block G, Hartmann AM, Dresser CM et al.* A Data-Based Approach to Diet Questionnaire Design and Testing. *Am-J-Epidemiol* 124: 453-69, 1986
- (18) *Block G.* A Review of Validations of Dietary Assessment Methods. *Am-J-Epidemiol* 115: 492-505, 1982
- (19) *Boeing H, Korfmann A, Bergmann MM.* Recruitment Procedures of EPIC-Germany. *Ann-Nutr-Metab* 43: 205-15 1999 (a)
- (20) *Boeing H, Wabrendorf J, Becker N.* EPIC-Germany – A Source for Studies into Diet and Risk of Chronic Diseases. *Ann-Nutr-Metab* 43: 195-204, 1999 (b)
- (21) *Bohlscheid-Thomas S, Hötting I, Boeing H et al.* Reproducibility and Relative Validity of Energy and Macronutrient Intake of a Food Frequency Questionnaire Developed for the German Part of the EPIC Project. *Int-J-Epidemiol* 1 (Suppl 1): S71-S81, 1997
- (22) *Boobis AR, Lynch AM, Murray S et al.* CYP1A2-catalyzed Conversion of Dietary Heterocyclic Amines to Their Proximate Carcinogens Is Their Major Route of Metabolism in Humans. *Cancer-Res* 54: 89-94, 1994
- (23) *Bortz J.* Statistik für Sozialwissenschaftler. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 5. vollst. überarb. Aufl., 1999.

- (24) Brandstetter BR, Korfmann A, Bergmann MM. Dietary Habits in the German EPIC Cohorts: Food Group Intake Estimated With Food Frequency Questionnaire. *Ann-Nutr-Metab.* 43: 246-57, 1999
- (25) Bussas U, Becker N. Nichtteilnehmer und deren Ausfallgründe in EPIC Heidelberg. 8. Jahrestagung der DAE, Hamburg 18./19.9.2000
- (26) Byers T, Marshall J, Fiedler R *et al.* Assessing nutrient intake with an abbreviated dietary interview. *Am-J-Epidemiol* 122: 41-50, 1985
- (27) Byrne C, Sinha R, Platz EA *et al.* Predictors of Dietary Heterocyclic Amines in Three Prospective Cohorts. *Cancer-Epidemiol-Biom-Prev* 7: 523-29, 1998
- (28) Coates RJ, Serdula MK, Byers T *et al.* A Brief, Telephone-Administered Food Frequency Questionnaire Can Be Useful for Surveillance of Dietary Fat Intakes. *J-Nutr* 1995; 125: 1473-83.
- (29) Connor SL, Gustafson JR, Sexton G *et al.* The Diet Habit Survey: A new methods of dietary assessment that relates to plasma cholesterol changes. *J-Am-Diet-Assoc* 92: 41-47, 1992
- (30) Cummings SR, Block G, McHenry K *et al.* Evaluation of two food frequency methods of measuring dietary calcium intake. *Am-J-Epidemiol* 126: 796-802, 1987
- (31) Curtis AE, Musgrave KO, Klimis-Tavantzis D. A food frequency questionnaire that rapidly and accurately assesses intake of fat, saturated fat, cholesterol, and energy. *J-Am-Diet-Assoc* 92: 1517-19, 1992
- (32) Davies DS, Gooderham NJ, Murray S *et al.* Systematic exposure to dietary heterocyclic amines in man. *Proc-Int-Symp-Princess-Takamatsu-Cancer-Res-Fund* 23: 190-96, 1995
- (33) De Stefani E, Boffetta P, Mendilaharsu M *et al.* Dietary Nitrosamines, Heterocyclic Amines, and Risk of Gastric Cancer: A Case-Control Study in Uruguay. *Nutr-Cancer* 30: 158-62, 1998 (b)
- (34) De Stefani E, Deneo-Pellegrini H, Mendilaharsu M *et al.* Meat intake, heterocyclic amines and risk of colorectal cancer: a case-control study in Uruguay. *Int-J-Oncol* 10: 573-80, 1997 (a)
- (35) De Stefani E, Ronco A, Mendilaharsu M *et al.* Case-Control Study on the Role of Heterocyclic Amines in the Etiology of Upper Aerodigestive Cancers in Uruguay. *Nutr-Cancer* 32: 43-48, 1998 (a)
- (36) De Stefani E, Ronco A, Mendilaharsu M *et al.* Meat Intake, Heterocyclic Amines, and Risk of Breast Cancer. A Case-Control Study in Uruguay. *Cancer-Epidemiol-Biom-Prev* 6: 573-81, 1997 (b)
- (37) Deitz AC, Zheng W, Left MA *et al.* N-Acetyltransferase-2 Genetic Polymorphism, Well-Done Meat Intake, and Breast Cancer Risk among Postmenopausal Women. *Cancer-Epidemiol-Biom-Prev* 9: 905-10, 2000
- (38) Delfino RJ, Sinha R, Smith C *et al.* Breast cancer, heterocyclic aromatic amines from meat and N-acetyltransferase 2 genotype. *Carcinogenesis* 21: 607-15, 2000
- (39) Deneo-Pellegrini H, De Stefani E, Ronco A *et al.* Meat consumption and risk of lung cancer; a case-control study from Uruguay. *Lung-Cancer* 14: 195-205, 1996
- (40) Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE). Ernährungsbericht 1992. Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 1992
- (41) Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE). Ernährungsbericht 1996. Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 1996
- (42) Dingley KH, Curtis KD, Nowell S *et al.* DNA and Protein Formation in the Colon and Blood of Humans after Exposure to a Dietary-relevant Dose of 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Cancer-Epidem-Biom-Prev* 8: 507-12, 1999
- (43) Dingley KH, Freeman SPHT, Nelson DO *et al.* Covalent Binding of 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline to Albumin and Hemoglobin at Environmental Relevant Doses – Comparison of Human Subjects and F344 Rats. *Drug-Metabol-Dispos* 26: 825-28, 1998
- (44) Dobson AJ, Bljlevens R, Alexander HM *et al.* Short fat questionnaire: a self-administered measure of fat-intake behaviour. *Aust-J-Public-Health* 1993; 17: 144-49.
- (45) Doolittle DJ, Rahn CA, Burger GT *et al.* Effect of cooking methods on the mutagenicity of food and on urinary mutagenicity of human consumers. *Fd-Chem-Toxicol* 27: 657-66, 1989
- (46) Dowdy A, Buch B, Retzlaff B. The NWLRC Fat Intake Scale: Further Validation and Utility with Cholesterol-Lowering Diets. *J-Am-Diet-Assoc* 90: A-120, 1990
- (47) Dreon DM, John EM, DiCiccio Y *et al.* Use of NHANES Data to Assign Nutrient Densities to Food Groups in a Multicentric Diet History Questionnaire. *Nutr-Cancer* 20: 223-30, 1993

- (48) *Feinstein*. Clinical Epidemiology: The Architecture of Clinical Research. Philadelphia: WB Saunders, 1985
- (49) *Felton JS, Fultz E, Dolbear FA et al*. Effect of microwave pretreating on heterocyclic aromatic amine mutagens/carcinogens in fried beef patties. *Fd-Chem-Toxicol* 32: 897-903, 1994
- (50) *Forman D*. Meat and cancer: a relation in search of a mechanism (editorial). *Lancet* 353: 686f, 1999
- (51) *Garner RC, Lightfoot TJ, Cupid BC et al*. Comparative biotransformation studies of MeIQx and PhIP in animal models and humans. *Cancer-Lett* 143: 161-65, 1999
- (52) *Gerhardsson de Verdier M, Hagman U, Peters et al*. Meat, cooking methods and colorectal cancer: A case-referent study in Stockholm. *Int-J-Cancer* 49:520-25, 1991
- (53) *Gertig DM, Hankinson SE, Hough H et al*. N-Acetyl-Transferase 2 Genotypes, Meat Intake and Breast Cancer Risk. *Int-J-Cancer* 80: 13-17, 1999
- (54) *Goldbohm RA, van't Veer P, van den Brandt PA et al*. Reproducibility of a food frequency questionnaire and stability of dietary habits determined from five annually repeated measurements. *Europ-J-Clin-Nutr* 49: 420-29, 1995
- (55) *Gooderham NJ, Murray S, Lynch AM et al*. Food-derived heterocyclic aromatic mutagens: variable metabolism and significance to humans. *Drug-Metabol-Dispos* 29: 529-43, 2001
- (56) *Gray-Donald K, O'Loughlin J, Richard L et al*. Validation of a short telephone administered questionnaire to evaluate dietary interventions in low income communities in Montreal, Canada. *J-Epidemiol-Community-Health* 51: 326-31, 1997
- (57) *Gross GA*. Simple methods for quantifying mutagenic heterocyclic aromatic amines in food products. *Carcinogenesis* 13: 2313-18, 1990
- (58) *Gross GA, Grüter A*. Quantification of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products. *J-Chromatog* 592: 271-78, 1992
- (59) *Guthrie HA, Scheer JC*. Validity of a dietary score for assessing nutrient adequacy. *J-Am-Diet-Assoc* 78: 240-45, 1981
- (60) *Heller RF, Tunstall Pedoe HD, Rose G*. A Simple Method of Assessing the Effect of Dietary Advice to Reduce Plasma Cholesterol. *Prev-Med* 10: 364-70, 1981
- (61) *Hopkins PN, Williams RR, Knida H et al*. Predictive value of a short dietary questionnaire for changes in serum lipids in high-risk Utah families. *Am-J-Clin-Nutr* 50: 292-300, 1989
- (62) *International Agency for Research on Cancer (IARC)*. European Prospective Study on Nutrition, Cancer and Health: Report of On-Going Activities No.3. IARC, Lyon, March 1990
- (63) *International Agency for Research on Cancer (IARC)*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic amines and mycotoxins. Vol 56. IARC, Lyon 1993
- (64) *International Agency for Research on Cancer (IARC)*. European Prospective Study on Nutrition, Cancer and Health: The Guidelines for collection of end-point data in the EPIC study. IARC, Lyon, 1998.
- (65) *Jägerstad M, Laser Reuterswärd A, Öste R et al*. Creatine and Maillard Reaction Products as Precursors of Mutagenic Compounds Formed in Fried Beef. *ACS symposium series No. 215*: 507-19, 1983
- (66) *Jain MG, Harrison L, Howe GR et al*. Evaluation of a self-administered dietary questionnaire for use in a cohort study. *Am-J-Clin-Nutr* 36: 931-35, 1998
- (67) *Järvinen R, Seppänen R, Knekt P*. Short-Term and Long-Term Reproducibility of Dietary History Interview Data. *Int-J-Epidemiol* 22: 520-27, 1993
- (68) *Jedrychowski W, Boeing H, Popiela T et al*. Dietary practices in households as risk factors for stomach cancer: a familial study in Poland. *Europ-J-Cancer-Prev* 1: 297-304, 1992
- (69) *Ji H, Yu MC, Stillwell WG et al*. Urinary Excretion of 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline in White, Black, and Asian Men in Los Angeles County. *Cancer-Epidem-Biom-Prev* 3: 407-11, 1994
- (70) *Johansson M, Skog K, Jägerstad M* Effects of edible oils and fatty acids on the formation of mutagenic heterocyclic amines in a model system. *Carcinogenesis* 14: 89-94, 1993
- (71) *Johansson MAE, Fredholm L, Bjerne I et al*. Influence of Frying Fat on the Formation of Heterocyclic Amines in Fried Beefburgers and Pan Residues. *Fd-Chem-Toxicol* 33: 993-1004, 1995



- (72) *Johansson MAE, Jägerstad M.* Occurrence of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in meat and fish products, including pan residues, prepared under domestic conditions. *Carcinogenesis* 15: 1511-18, 1984
- (73) *Kampman E, Slattery ML, Bigler J et al.* Meat Consumption, Genetic Susceptibility, and Colon Cancer Risk: A United States Multicenter Case-Control Study. *Cancer-Epidem-Biom-Prev* 8: 15-24, 1999
- (74) *Keating GA, Bogen KT.* Methods for estimating heterocyclic amine concentrations in cooked meats in the US diet. *Fd-Chem-Toxicol* 39: 29-43, 2001
- (75) *Keating GA, Layton DW, Felton JS.* Factors determining dietary intakes of heterocyclic amines in cooked foods. *Mut-Res* 443: 149-56, 1999
- (76) *Keating GA, Sinha R, Layton D et al.* Comparison of heterocyclic amine levels in home-cooked meats with exposure indicators (United States). *Cancer-Causes-Control* 11: 731-39, 2000
- (77) *Kemppainen T, Rosendahl A, Nuutinen O et al.* Validation of a short dietary questionnaire and a qualitative fat index for the assessment of fat intake. *Europ-J-Clin-Nutr* 47: 765-75, 1993
- (78) *Kidd LCR, Stillwell WG, Yu MC et al.* Urinary Excretion of 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) in White, African-American, and Asian-American Men in Los Angeles County. *Cancer-Epidem-Biom-Prev* 8: 439-45, 1999
- (79) *Kinlay S, Elliot H, Heller RF.* Identifying individuals with high fat levels and low P:S ratios, in their diets, for intensive dietary interventions. *J-Intern-Med* 241: 407-14, 1997
- (80) *Kinlay S, Heller RF, Halliday JA.* A Simple Score and Questionnaire to Measure Group Changes in Dietary Fat Intake. *Prev-Med* 20: 378-88, 1991
- (81) *Klein G.* Die Erhebung der Aufnahme von Mikronährstoffen - Ermittlung und Validierung von Schlüssellebensmitteln. Aachen: Shaker, 1998
- (82) *Knapp JA, Hazuda HP, Haffner SM et al.* A saturated fat/cholesterol avoidance scale: Sex and ethnic differences in a biethnic population. *J-Am-Diet-Assoc* 88: 172-77, 1988
- (83) *Knekt P, Steineck G, Järvinen R et al.* Intake of fried meat and risk of cancer: a follow-up study in Finland. *Int-J-Cancer* 59: 756-70, 1994
- (84) *Knize MG, Andresen BD, Healy N et al.* Effects of temperature, patty thickness and fat content on the production of mutagens in fried ground beef. *Fd-Chem-Toxicol* 23: 1035-40; 1985
- (85) *Knize MG, Cunningham PL, Avila JR et al.* Formation of mutagenic activity from amino acids heated at cooking temperatures. *Fd-Chem-Toxicol* 32: 55-60, 1994 (a)
- (86) *Knize MG, Dolbear FA, Carroll KL et al.* Effect of cooking time and temperature on the heterocyclic amine content of fried beef patties. *Fd-Chem-Toxicol* 32: 595-603, 1994 (b)
- (87) *Knize MG, Sinha R, Brown ED et al.* Heterocyclic Amine Content in Restaurant-Cooked Hamburgers, Steaks, Ribs, and Chicken. *J-Agric-Food-Chem* 46: 4648-51, 1998
- (88) *Knize MG, Sinha R, Rothman N et al.* Heterocyclic Amine Content in Fast-Food Meat Products. *Fd-Chem-Toxicol* 33: 545-51, 1995
- (89) *Knize MG, Sinha R, Salmon CP et al.* Formation of heterocyclic amine mutagens/carcinogens during home and commercial cooking of muscle foods. *J-Muscle-Foods* 7: 271-79, 1996
- (90) *Kristal AR, Schattuck AL, Henry HL et al.* Rapid Assessment of Dietary Intake of Fat, Fiber, and Saturated Fat: Validity of an Instrument Suitable for Community Intervention Research and Nutritional Surveillance. *Am-J-Health-Promot* 4: 288-95, 1990
- (91) *Kulp KS, Knize MG, Malfatti MA et al.* Identification of urine metabolites of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine following consumption of a single cooked chicken meal in humans. *Carcinogenesis* 21: 2065-72; 2000
- (92) *Kulldorf M, Sinha R, Chow WH et al.* Comparing odds ratios for nested subjects of dietary components. *Int-J-Epidemiol* 29: 1060-64; 2000
- (93) *Lang NP, Butler MA, Massengill J et al.* Rapid Metabolic Phenotypes for Acetyltransferase and Cytochrome P4501A2 and Putative Exposure to Food-borne Heterocyclic Amines Increase the Risk for Colorectal Cancer or Polyps. *Cancer-Epidem-Biom-Prev* 3: 675-82, 1994
- (94) *Layton DW, Bogen KT, Knize MG et al.* Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: an analysis and implications for research. *Carcinogenesis* 16: 39-52, 1995
- (95) *Lynch AM, Knize MG, Boobis AR et al.* Intra- and Interindividual Variability in Systematic Exposure in Humans to 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline and 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine, Carcinogens Present in Beef. *Cancer-Res* 52: 6216-32, 1992

- (96) *Lynch AM, Murray S, Gooderham NJ et al.* Exposure to and activation of heterocyclic aromatic amines in humans. *Crit-Rev-Oncol/Hematol* 21: 19-31, 1995
- (97) *Lyon JL, Mahoney AW.* Fried Foods and the Risk of Colon Cancer. *Am-J-Epidemiol* 128: 1000-06, 1988
- (98) *Malfatti AM, Kulp KS, Knize MG et al.* The identification of [2-<sup>14</sup>C] 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine metabolites in humans. *Carcinogenesis* 20: 705-13, 1999
- (99) *Magagnotti C, Orsi F, Bagnati R et al.* Effect of diet on serum albumin and hemoglobin adducts of and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) in humans. *Int-J-Cancer* 88: 1-6; 2000
- (100) *Mark SD, Thomas DG, Decarli A.* Measurement of the Exposure to Nutrients: An Approach to the Selection of Informative Foods. *Am-J-Epidemiol* 143: 514-21, 1996
- (101) *Mauthe RJ, Dingley KH, Leveson SH et al.* Comparison of DNA-adduct and tissue-available dose levels of MeIQx in human and rodent colon following administration of a very low dose. *Int-J-Cancer* 80: 539-45, 1999
- (102) *Møller Jensen O, Wabrendorf J, Rosenqvist A et al.* The reliability of questionnaire-derived historical dietary information and temporal stability of food habits in individuals. *Am-J-Epidemiol* 120: 281-90, 1984
- (103) *Murkovic M, Pfannhauser W.* Analysis of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in fried meat. *Fresenius-J-Anal-Chem* 366: 375-78, 2000
- (104) *Murray S, Gooderham NJ, Boobis AR et al.* Detection and measurement of MeIQx in human urine after ingestion of a cooked meat meal. *Carcinogenesis* 10: 763-65, 1989
- (105) *Muscat JE, Wynder EL.* The Consumption of Well-done Red Meat and the Risk of Colorectal Cancer. *Am-J-Public-Health* 84: 856-58, 1994
- (106) *Nagao M.* A new approach to risk estimation of food-borne carcinogens - heterocyclic amines - bases on molecular information. *Mut-Res* 431: 3-12, 1999
- (107) *Nilsson L, Övervik E, Fredholm L et al.* Influence of frying fat on mutagenic activity in lean pork meat. *Mut-Research* 171: 115-21, 1986
- (108) *Norrish AE, Ferguson LR, Knize MG et al.* Heterocyclic Amine Content of Cooked Meat and Risk of Prostate Cancer. *J-Natl-Cancer-Inst* 91: 2038-44, 1999
- (109) *Övervik E, Nilsson L, Fredholm L et al.* Mutagenicity of pan-residues and gravy from fried meat. *Mut-Research* 187: 47-53, 1987
- (110) *Peters JR, Quiter ES, Brekke ML et al.* The Eating Pattern Assessment Tool: A simple instrument for assessing dietary fat and cholesterol intake. *J-Am-Diet-Assoc* 94: 1008-13, 1994
- (111) *Probst-Hensch NM, Sinba R, Longecker MP et al.* Meat preparation and colorectal adenomas in a large sigmoidoscopy-based case-control study in California (United States). *Cancer-Causes-Control* 8: 175-83, 1997
- (112) *Reistad R, Rossland OJ, Latva-Kala KJ et al.* Heterocyclic Aromatic Amines in Human Urine Following a Fried Meat Meal. *Fd-Chem-Toxicol* 35: 945-55, 1997
- (113) *Retzlaff BM, Dowdy AA, Walden CE et al.* The Northwest Lipid Research Clinic Fat Intake Scale: Validation and Utility. *Am-J-Public-Health* 87: 181-85, 1997
- (114) *Riboli E.* Nutrition and cancer: Background and rationale of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Ann-Oncol* 3: 783-91, 1992
- (115) *Riboli E.* The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition: Perspectives for Cancer Prevention. *Cancer-Nutr:Prev-Treat* 4: 117-33, 2000
- (116) *Riboli E, Kaaks R.* The EPIC Project: Rationale and Study Design. *Int-J-Epidemiol* 26 (Suppl. 1): S6-S14, 1997
- (117) *Robbana-Barnat S, Rabache M, Rillaud E et al.* Heterocyclic Amines: Occurrence and Prevention in Cooked Foods. *Environ-Health-Perspect* 104: 280-88, 1996
- (118) *Roe L, Strong C, Whiteside C et al.* Dietary Intervention in Primary Care: Validity of the DINE Method for Diet Assessment. *Family-Prac* 11: 375-81, 1994
- (119) *Rohrmann S, Klein G, Miller AB.* A Short Questionnaire for the Assessment of the Cholesterol Intake - Development and Validation. 4<sup>th</sup> Int. Conf. On Dietary Assessment Methods, Tucson 17.-20.9.2000

- (120) *Robrman S, Klein G, Miller AB.* Validierung eines Kurzfragebogens zur Erfassung von Gesamtfett, gesättigten Fettsäuren, einfach und mehrfach ungesättigten Fettsäuren sowie Cholesterin. *Proc-Germ-Nutr-Soc* 3: P13; 2001
- (121) *Robrman S, Linseisen J, Becker N et al.* Cooking of Meat and Fish in Europe – Results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). in preparation
- (122) *Salmon CP, Knize MG, Panteleakos FN et al.* Minimization of Heterocyclic Amines and Thermal Inactivation of *Escherichia Coli* in Fried Ground Beef. *J-Natl-Cancer-Inst* 92: 1773-78, 2000
- (123) *Schiffman MH, Felton JS.* Re:"Fried Foods and the Risk of Colon Cancer". *Am-J-Epidemiol* 131: 376-78, 1990
- (124) *Schneider R.* Vom Umgang mit Zahlen und Daten. Frankfurt: Umschau Zeitschriftenverlag, 1997
- (125) *Serdula M, Byers T, Coates R et al.* Assessing Consumption of High-Fat Foods: The Effect of Grouping Foods into Single Questions. *Epidemiol* 3: 503-08, 1992
- (126) *Shirai T, Tamano S, Sano M et al.* Carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) in rats: Dose-respose studies. *Princess-Takamatsu-Symp* 23: 232-39, 1995
- (127) *Sinba R, Chow WH, Kulldorff M et al.* Well-done, Grilled Red Meat Increases the Risk of Colorectal Adenomas. *Cancer-Res* 59: 4320-24, 1999
- (128) *Sinba R., Gustafson DR, Kulldorff M et al.* 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine, a Carcinogen in High-Temperature-Cooked Meat, and Breast Cancer Risk. *J-Natl-Cancer-Inst* 92: 1352-54, 2000 (b)
- (129) *Sinba R, Knize MG, Salmon CP et al.* Heterocyclic Amine Content of Pork Products Cooked by Different Methods and by Varying Degrees of Doneness. *Fd-Chem-Toxicol* 36: 289-97, 1998 (a)
- (130) *Sinba R, Kulldorff M, Chow W-H et al.* Dietary Intake of Heterocyclic Amines, Meat-derived Mutagenic Activity, and Risk of Colorectal Adenomas. *Cancer-Epidemiol-Biom-Prev* 10: 559-63, 2001
- (131) *Sinba R, Kulldorff M, Curtin J et al.* Fried, well-done red meat and risk of lung cancer in women (United States). *Cancer-Causes-Control* 9: 621-30, 1998 (b)
- (132) *Sinba R, Kulldorff M, Swanson MCA et al.* Dietary Heterocyclic Amines and the Risk of Lung Cancer among Missouri Women. *Cancer-Res* 60: 3753-57, 2000 (a)
- (133) *Sinba R, Rothman N.* Exposure assessment of heterocyclic amines (HCAs) in epidemiologic studies. *Mut-Res* 376: 195-202, 1997
- (134) *Sinba R, Rothman N, Brown ED et al.* High Concentrations of the Carcinogen 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine [PhIP] Occur in Chicken but Depending on the Cooking Temperature. *Cancer-Res* 55: 4516-19, 1995 (a)
- (135) *Sinba R, Rothman N, Brown ED et al.* Pan-Fried Meat Containing High Levels of Heterocyclic Aromatic Amines but Low Levels of Polycyclic Hydrocarbons Induces P450 1A2 Activity in Humans. *Cancer-Res* 54:6154-59, 1994
- (136) *Sinba R, Rothman N, Mark SD et al.* Lower Levels of urinary 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx) in humans with higher CYP1A2 activity. *Carcinogenesis* 16: 2859-61, 1995 (b)
- (137) *Sinba R, Rothman N, Salmon CP et al.* Heterocyclic Amine Content in Beef Cooked By Different Methods to Varying Degrees of Doneness and Gravy Made from Meat Drippings. *Fd-Chem-Toxicol* 36: 279-87, 1998 (c)
- (138) *Skog K.* Cooking Procedures and Food Mutagens: A Literature Review. *Fd-Chem-Toxicol* 31: 655-75, 1993
- (139) *Skog K, Augustsson K, Steineck G et al.* Polar and Non-polar Heterocyclic Amines in Cooked Fish and Meat Products and their Corresponding Pan Residues. *Fd-Chem-Toxicol* 35: 555-65, 1997
- (140) *Skog K, Johansson MAE, Jägerstad MJ.* Carcinogenic Heterocyclic Amines in Model Systems and Cooked Foods: A Review on Formation, Occurrence and Intake. *Fd-Chem-Toxicol* 36: 879-96, 1998
- (141) *Skog K, Steineck G, Augustsson K et al.* Effect of cooking temperature on the formation of heterocyclic amines in fried meat products and pan residues. *Carcinogenesis* 16: 861-67, 1995
- (142) *Slimani N.* Seasonal and weekday variations observed in the EPIC study and implications for the design of nutritional surveys. 4<sup>th</sup> Int. Conf. on Dietary Assessment Methods, Tucson 2000: H 5.2

- (143) *Slimani N, Debarveng G, Charrondi re RU et al.* Structure of the standardized computerized 24-h recall interview used as reference method in the 22 centers participating in the EPIC project. *Comp-Meth-Progr-Biomed* 58: 251-66, 1999
- (144) *Snyderwine EG.* Some Perspectives of the Nutritional Aspects of Breast Cancer Research. *Cancer* 74: 1070-77, 1994
- (145) *Spingarn NE, Gravie-Gould C, Vuolo LL et al.* Formation of mutagens in cooked foods. IV. Effect of fat content in fried beef patties. *Cancer-Lett* 12: 93-97, 1981
- (146) *Srinath U, Shacklock G, Scott LW et al.* Development of MEDFACTS - A Dietary Assessment Instrument for Evaluating Fat, Saturated Fat, and Cholesterol Intake. *J-Am-Diet-Assoc* 93: A-105, 1993
- (147) *Steineck G, Hagman U, Gerhardsson de Verdier M et al.* Vitamin A Supplements, Fried Foods, Fat and Urothelial Cancer. A Case-Referent Study in Stockholm in 1985-57. *Int-J-Cancer* 45: 1006-11, 1990
- (148) *Stillwell WG, Kidd LCR, Wisbnok JS et al.* Urinary Excretion of Unmetabolized and Phase II Conjugates of 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine and 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline in Humans: Relations to Cytochrome P450 1A2 and N-Acetyltransferase Activity. *Cancer-Res* 75: 3457-64, 1997
- (149) *Stillwell WG, Turesky RJ, Gross GA, et al.* Human Urinary Excretion of Sulfonate and Glucuronide Conjugates of 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx). *Cancer-Epidemiol-Biom-Prev* 3: 399-405, 1994
- (150) *Stillwell WG, Turesky RJ, Sinha R et al.* Biomonitoring of heterocyclic aromatic amine metabolites in human urine. *Cancer-Lett* 143: 145-48, 1999a
- (151) *Stillwell WG, Turesky RJ, Sinha R et al.* N-Oxidative Metabolism of 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx) in Humans: Excretion of N2-Glucuronide Conjugate of 2-Hydroxyamino-MeIQy in Urine. *Cancer-Res* 59: 5154-59, 1999b
- (152) *Stryker WS, Salvini S, Stampfer M et al.* Contributions of specific foods to absolute intake and between-person variation of nutrient consumption. *J-Am-Diet-Assoc* 91: 172-78, 1991.
- (153) *Sugimura T.* Overview of carcinogenic heterocyclic amines. *Mut-Res* 376: 211-19, 1997
- (154) *Taylor SL, Berg CM, Shoptaugh NH et al.* Lack of mutagens in deep-fat fried foods obtained at the retail level. *Fd-Chem-Toxicol* 20: 209-12, 1982
- (155) *Thiebaut HP, Knize MG, Kuznicki PA et al.* Airborne mutagens produced by frying beef, pork and soy-based food. *Fd-Chem-Toxicol* 33: 821-28, 1995
- (156) *Thomas DG, Mark SD.* Max\_r: an optimal method for the selection of subsets of foods for the measurement of specific nutrient exposures. *Comp-Meth-Prog-Biomed.* 54: 151-56, 1997
- (157) *Thompson FE, Byers T.* Dietary Assessment Resource Manual. *J-Nutr.* 124: 2245S-2317S, 1994
- (158) *Thomson B.* Heterocyclic amine levels in cooked meat and the implication for New Zealanders. *Europ-J-Cancer-Prev* 8: 201-06, 1999
- (159) *Thomson BM, Lake RJ, Cressey PF et al.* Estimated cancer risk from heterocyclic aromatic amines in cooked meat - a New Zealand perspective. *Proc-Nutr-Soc-N-Zeal* 21: 106-15, 1996
- (160) *Turesky RJ, Lang NP, Butler MA et al.* Metabolic activation of carcinogenic heterocyclic aromatic amines by human liver and colon. *Carcinogenesis* 12: 1839-45, 1991
- (161) *Turesky RJ, Garner RC, Welti DH et al.* Metabolism of the Food-Borne Mutagen 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline in Humans. *Chem-Res-Toxicol* 11: 217-25, 1998
- (162) *Turteltaub KW, Dingley KH, Curtis KD et al.* Macromolecular adduct formation and metabolism of heterocyclic amines in humans and rodents at low doses. *Cancer-Lett* 143: 149-55, 1999
- (163) *van Assema P, Brug J, Kok G et al.* The reliability and validity of a Dutch questionnaire on fat consumption as means to rank subjects according to individual fat intake. *Europ-J-Cancer-Prev* 1: 375-80, 1992
- (164) *Vineis P, McMichael A.* Interplay between heterocyclic amines in cooked meat and metabolic phenotype in the etiology of colon cancer. *Cancer-Causes-Control* 7: 479-86, 1996
- (165) *Voskuil D.* Diet-Gene Interactions in Sporadic and Hereditary Colorectal Carcinogens. Thesis Landbouwwuniversiteit Wageningen, 1999

- (166) *Voskuil DW, Augustsson K, Dickman PW et al.* Assessing the Human Intake of Heterocyclic Amines: Limited Loss of Information Using Reduced Sets of Questions. *Cancer-Epidem-Biom-Prev* 8: 809-14, 1999
- (167) *Vofß S, Boeing H, Jeckel A et al.* European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) und Gesundheit, Ernährung, Krebs (GEK). *Ernährungs-Umschau* 42: 97-101, 1995
- (168) *Voss S, Charrondierre UR, Slimani N et al.* EPIC-SOFT ein Computerprogramm für 24-Stunden-Erinnerungsprotokolle. *Z-Ernährungswiss* 37: 227-33, 1998
- (169) *Vofß W (Hrsg.)*. Taschenbuch der Statistik. München, Wien: Carl Hanser. 1. Aufl. 2000.
- (170) *Wakabayashi K, Totsuka Y, Fukutome K et al.* Human exposure to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines and co-mutagenic  $\beta$ -carbolines. *Mut-Res* 376: 253-59, 1997
- (171) *Wappler G, Mark SD, Boeing, Wabrendorf J.* The Assessment of Dietary Intake of a Single Nutrient with a Short List of Selected Key Food Items. *Europ-J-Clin-Nutr* 52 (Suppl 2): S62, 1998.
- (172) *Ward MH, Sinha R, Heinemann EF et al.* Risk of adenocarcinoma of the stomach and esophagus with meat cooking method and doneness preference. *Int-J-Cancer* 71: 14-19, 1997
- (173) *Welfare MR, Cooper J, Bassendine MF et al.* Relationship between acetylator status, smoking, diet and colorectal cancer in the North-East of England. *Carcinogenesis* 18: 1351-54, 1997
- (174) *Wild D, Feser W, Michel S et al.* Metabolic activation of heterocyclic aromatic amines catalized by human arylamine N-acetyltransferase isozymes (NAT1 and NAT2) expressed in *Salmonella typhimurium*. *Carcinogenesis* 16: 643-48, 1995
- (175) *Wild D.* Heterozyklische Amine: "Neue" und doch alte unerwünschte Stoffe. *Fleischwirtschaft* 76: 42-45, 1996
- (176) *Wild D.* Verbesserte mikrobiologische Bestimmung heterozyklischer aromatischer Amine in erhitzten Nahrungsmitteln. *Z-Ernährungswiss* 34: 22-26, 1995
- (177) *Willett WC, Sampson L, Meir MJ et al.* Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am-J-Epidemiol* 122: 51-65, 1985.
- (178) *Willett WC.* Nutritional Epidemiology. New York, Oxford: Oxford University Press, 2<sup>nd</sup> ed. 1998
- (179) *World Cancer Research Fund (WCRF).* Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: a global perspective. Washington D.C.: Am. Inst. for Cancer Research, 1997.
- (180) *Zhang X-M, Wakabayashi K, Liu Z-C et al.* Mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines in Chinese cooked foods. *Mut-Res* 201: 181-88, 1988
- (181) *Zheng W, Deitz AC, Campell DR et al.* N-Acetyltransferase 1 Genetic Polymorphism, Cigarette Smoking, Well-Done Meat Intake, and Breast Cancer Risk. *Cancer-Epidem-Biom-Prev* 8: 233-39, 1999
- (182) *Zheng W, Gustafson DR, Sinha R et al.* Well-Done Meat Intake and the Risk of Breast Cancer. *J-Natl-Cancer-Inst* 90: 1724-29, 1998
- (183) *Zoller O, Rhyh P, Zimmerli B.* Heterocyclische aromatische Amine: Belastungssituation in der Schweiz. *Lebensmittelchemie* 51: 18, 1997

**IX ANHANG****1 Erste, längere Version des HAA-Fragebogens**

## Wie füllen Sie den Fragebogen richtig aus?

- Die Angaben beziehen sich auf Ihre **üblichen** Zubereitungs- bzw. Verzehrsgewohnheiten während der **vergangenen 12 Monate**. Manche gegarten Speisen verzehren Sie vielleicht nur in bestimmten Jahreszeiten, z. B. Gegrilltes vorwiegend im Sommer. Geben Sie bitte stets Ihre Gewohnheiten **auf das ganze Jahr** bezogen an. Essen Sie z.B. während des Sommers (Mai bis September) durchschnittlich einmal pro Woche Gegrilltes, entspricht dies auf das ganze Jahr bezogen einer Häufigkeit von 2-3mal pro Monat.
- Wenn Sie sich vegetarisch ernähren, also **weder Fleisch noch Fisch essen**, beantworten Sie bitte **nur Frage 1**. Alle anderen Fragen brauchen Sie nicht zu beantworten.
- Wenn Sie Ihre Fleisch- und Fischmahlzeiten **nicht selbst zubereiten**, befragen Sie zur Beantwortung der entsprechenden Frage bitte die Person, die diese Mahlzeiten für Sie zubereitet.
- Kreuzen Sie bei jeder Frage bitte **nur eine der Antwortmöglichkeiten** an.
- Wenn Sie ein Lebensmittel **nicht verzehren**, geben Sie bitte **"Esse ich nicht"** an. Damit entfallen alle weiteren Angaben, die dieses Lebensmittel betreffen.
- Für die **Häufigkeit** sind verschiedene Kategorien auf dem Fragebogen angegeben. Füllen Sie bitte bei jeder Frage **das jeweils zutreffende Kästchen** aus.
- Zu einigen Lebensmitteln finden Sie in Frage 11 Abbildungen mit verschiedenen **Bräunungsstärken**. Kennzeichnen Sie bitte die Bräunungsstärke, die am ehesten Ihrem üblichen Verzehr entspricht.

### Zunächst einige allgemeine Fragen bezüglich Ihrer Fleisch- und Fischmahlzeiten

#### 1. Essen Sie Fleisch und / oder Fisch?

- Ja  Nein => Ende

#### 2a. Wie oft essen Sie warme Fleisch- und Fischmahlzeiten?

- einmal pro Monat oder weniger  einmal pro Woche  4-6mal pro Woche  
 2-3mal pro Monat  2-3mal pro Woche  einmal pro Tag oder häufiger

#### 2b. Wie oft essen Sie warme Fleisch- und Fischmahlzeiten nicht zu Hause?

- einmal pro Monat oder weniger  einmal pro Woche  4-6mal pro Woche  
 2-3mal pro Monat  2-3mal pro Woche  einmal pro Tag oder häufiger

#### 2c. Wenn Sie nicht zu Hause essen, wo essen Sie dann am häufigsten warme Fleisch- und Fischmahlzeiten?

- Kantine  Privat, z.B. bei Verwandten, Bekannten  
 Fast Food / Schnellimbiss  Restaurant

#### 3. Wenn Sie Fleisch essen, welchen Fettgehalt hat das Fleisch üblicherweise?

- ich esse kein Fleisch  mager (ohne sichtbares Fett)  
 marmoriert (mit feinen Fettadern durchzogen)  
 durchwachsen (Fettschichten sind eingelagert)

**4. Wenn Sie Brathähnchen essen, wie oft essen Sie die Haut mit?**

- ich esse kein Brathähnchen       in einem Viertel der Fälle       in drei Viertel der Fälle  
 ich esse nie die Haut mit       in der Hälfte der Fälle       immer

**5. Wenn Sie Fleisch oder Fisch essen, wie häufig sind diese paniert oder mit Teig umhüllt?**

- nie oder sehr selten       in einem Viertel der Fälle       in drei Viertel der Fälle  
 in der Hälfte der Fälle       immer

**6a. Wie oft essen Sie gegrilltes Fleisch und gegrillten Fisch?**

- einmal pro Monat oder weniger       einmal pro Woche       4-6mal pro Woche  
 2-3mal pro Monat       2-3mal pro Woche       einmal pro Tag oder häufiger

**6b. Wenn Sie gegrilltes Fleisch und gegrillten Fisch essen, wie häufig wird es in oder auf Alufolie gegrillt?**

- nie oder sehr selten       in einem Viertel der Fälle       in drei Viertel der Fälle  
 in der Hälfte der Fälle       immer

**6c. Wenn Sie gegrilltes Fleisch und gegrillten Fisch essen, auf welcher Art von Grill werden die Lebensmittel dann hauptsächlich zubereitet?**

Grillgerät	nie	¼ der Fälle	½ der Fälle	¾ der Fälle	immer
Elektrogrill	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kontaktgrill, z.B. Heizplatten, heißer Stein	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gasgrill	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Holzkohlegrill	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Offenes Feuer	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**7. Wenn Sie Fleisch und Fisch essen, wie häufig marinieren Sie die Lebensmittel vor dem Garen (z.B. beim Grillen oder Braten)?**

- nie oder sehr selten       in einem Viertel der Fälle       in drei Viertel der Fälle  
 in der Hälfte der Fälle       immer

**8a. Wenn Sie Fleisch und Fisch essen, verwenden Sie üblicherweise Fett zur Zubereitung?**

- Nein, ich verwende kein Fett       Ja, pflanzliches Fett (Biskin, Palmin)       Ja, Butter  
 Ja, tierisches Fett (z.B. Schmalz)       Ja, Margarine  
 Ja, Olivenöl       Ja, mal so, mal so  
 Ja, pflanzliches Öl

**8b. Welche Herdeinstellung wählen Sie üblicherweise zum Erhitzen der Pfanne bzw. des Bratfettes?**

- hoch       mittel       niedrig

**8c. Schalten Sie die Wärmezufuhr üblicherweise zurück, nachdem Sie das Lebensmittel in die Pfanne gelegt haben?**

- Ja, sofort       Ja, später       Nein



**9. Wenn Sie die folgenden Lebensmittel verzehren, wie häufig verzehren Sie diese in den angegebenen Zubereitungsformen?**

Wenn Sie einige der Zubereitungsformen für ein Lebensmittel nicht anwenden, kreuzen Sie bitte „nie“ an.

Lebensmittel	Esse ich nicht	Zubereitung	Häufigkeit des Verzehrs in dieser Zubereitungsform				
			nie	¼ der Fälle	½ der Fälle	¾ der Fälle	immer
Rindersteak, -filet, -lende	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Rinderbraten, -rouladen, -gulasch	<input type="checkbox"/>	Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Schweinebraten, -gulasch	<input type="checkbox"/>	Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kasseler, Schweinerippchen	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Schweinebauch, Bauchspeck	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Frikadellen, Hackbraten	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Fleischkäse	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Bratwurst	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Fisch	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**10. Verwenden Sie bei den folgenden Zubereitungsarten üblicherweise den Bratrückstand / die Bratflüssigkeit weiter, z.B. zur Herstellung einer Sauce, zum Eintunken von Brot oder zum Schwenken von Kartoffeln?**

Kurzbraten  Ja  Nein

Braten/Schmoren  Ja  Nein

11. Wenn Sie die folgenden Lebensmittel verzehren, welchen Bräunungsgrad weisen diese üblicherweise auf?



A



B



C



D

- a. Rindersteak, -filet, -lende  A  B  C  D  
 b. Rindergulasch, -braten, -rouladen  A  B  C  D



A



B



C



D

- c. Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak  A  B  C  D  
 d. Schweinebraten, -gulasch  A  B  C  D  
 e. Kasseler, Schweinerippchen  A  B  C  D  
 f. Brathuhn  A  B  C  D  
 g. Fisch  A  B  C  D



A



B



C



D

- h. Schweinebauch, Bauchspeck  A  B  C  D



A



B



C



D

i. Fleischkäse

 A B C D

j. Bratwurst

 A B C D

A



B



C



D

k. Frikadellen, Hackbraten

 A B C D

## 2 **Zweite, gekürzte Version des HAA-Fragebogens**

## Wie füllen Sie den Fragebogen richtig aus?

- Die Angaben beziehen sich auf Ihre **üblichen** Zubereitungs- bzw. Verzehrsgewohnheiten während der **vergangenen 12 Monate**. Manche gegarten Speisen verzehren Sie vielleicht nur in bestimmten Jahreszeiten, z. B. Gegrilltes vorwiegend im Sommer. Geben Sie bitte stets Ihre Gewohnheiten **auf das ganze Jahr** bezogen an. Essen Sie z.B. während des Sommers (Mai bis September) durchschnittlich einmal pro Woche Gegrilltes, entspricht dies auf das ganze Jahr bezogen einer Häufigkeit von 2-3mal pro Monat.
- Wenn Sie sich vegetarisch ernähren, also **weder Fleisch noch Fisch essen**, beantworten Sie bitte **nur Frage 1**. Alle anderen Fragen brauchen Sie nicht zu beantworten.
- Wenn Sie Ihre Fleisch- und Fischmahlzeiten **nicht selbst zubereiten**, befragen Sie zur Beantwortung der entsprechenden Frage bitte die Person, die diese Mahlzeiten für Sie zubereitet.
- Kreuzen Sie bei jeder Frage bitte **nur eine der Antwortmöglichkeiten** an.
- Wenn Sie ein Lebensmittel **nicht verzehren**, geben Sie bitte **"Esse ich nicht"** an. Damit entfallen alle weiteren Angaben, die dieses Lebensmittel betreffen.
- Für die **Häufigkeit** sind verschiedene Kategorien auf dem Fragebogen angegeben. Füllen Sie bitte bei jeder Frage **das jeweils zutreffende Kästchen** aus.
- Zu einigen Lebensmitteln finden Sie in Frage 8 Abbildungen mit verschiedenen **Bräunungsstärken**. Kennzeichnen Sie bitte die Bräunungsstärke, die am ehesten Ihrem üblichen Verzehr entspricht.

### 1. Essen Sie Fleisch und / oder Fisch?

- Ja  Nein => *Ende*

### 2. Wie oft essen Sie warme Fleisch- oder Fischmahlzeiten?

- einmal pro Monat oder weniger  einmal pro Woche  4-6mal pro Woche  
 2-3mal pro Monat  2-3mal pro Woche  einmal pro Tag oder häufiger

### 3. Wenn Sie Fleisch essen, welchen Fettgehalt hat das Fleisch üblicherweise?

- ich esse kein Fleisch  mager (ohne sichtbares Fett)  
 marmoriert (mit feinen Fettadern durchzogen)  
 durchwachsen (Fettschichten sind eingelagert)

### 4. Wenn Sie Brathähnchen essen, wie oft essen Sie die Haut mit?

- ich esse kein Brathähnchen  in einem Viertel der Fälle  in drei Viertel der Fälle  
 ich esse nie die Haut mit  in der Hälfte der Fälle  immer

### 5a. Wie oft essen Sie gegrilltes Fleisch oder gegrillten Fisch?

- einmal pro Monat oder weniger  einmal pro Woche  4-6mal pro Woche  
 2-3mal pro Monat  2-3mal pro Woche  einmal pro Tag oder häufiger

### 5b. Wenn Sie Fleisch oder Fisch gegrillt essen, wie häufig wird es in oder auf Alufolie gegrillt?

- nie oder sehr selten  in einem Viertel der Fälle  in drei Viertel der Fälle  
 in der Hälfte der Fälle  immer

**5c. Wenn Sie gegrilltes Fleisch oder gegrillten Fisch essen, auf welcher Art von Grill werden die Lebensmittel dann hauptsächlich zubereitet?**

Machen Sie bitte in jeder Zeile ein Kreuz. Wenn Sie eine Grillart nicht anwenden, kreuzen Sie bitte "nie" an.

Grillgerät	Nie	¼ der Fälle	½ der Fälle	¾ der Fälle	Immer
Elektrogrill	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gasgrill	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Holzkohlegrill	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**6a. Wenn Sie Fleisch oder Fisch essen, verwenden Sie üblicherweise Fett zur Zubereitung?**

- Nein, ich verwende kein Fett     
 Ja, pflanzliches Fett (Biskin, Palmin)     
 Ja, Butter  
 Ja, pflanzliches Öl     
 Ja, Margarine  
 Ja, Olivenöl     
 Ja, mal so, mal so

**6b. Welche Herdeinstellung wählen Sie üblicherweise zum Erhitzen der Pfanne bzw. des Bratfettes?**

- hoch     
 mittel     
 niedrig

**6c. Schalten Sie die Wärmezufuhr üblicherweise zurück, nachdem Sie das Lebensmittel in die Pfanne gelegt haben?**

- Ja, sofort     
 Ja, später     
 Nein

**7. Wenn Sie die folgenden Lebensmittel verzehren, wie häufig verzehren Sie diese in den angegebenen Zubereitungsformen?**

Machen Sie bitte in jeder Zeile ein Kreuz. Wenn Sie einige der Zubereitungsformen für ein Lebensmittel nicht anwenden, kreuzen Sie bitte „nie“ an.

Lebensmittel	Esse ich nicht	Zubereitung	Häufigkeit des Verzehrs in dieser Zubereitungsform				
			nie	¼ der Fälle	½ der Fälle	¾ der Fälle	Immer
Rindersteak, -filet, -lende	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rinderbraten, -rouladen, -gulasch	<input type="checkbox"/>	Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schweinesteak, -schnittel, -kotelett, -filet, -lende	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schweinebraten, -gulasch	<input type="checkbox"/>	Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kasseler, Schweinerippchen	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Putenschnittel, -geschnetzeltes, Brathuhn	<input type="checkbox"/>	Kurzbraten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fisch	<input type="checkbox"/>	Braten/Schmoren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Grillen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



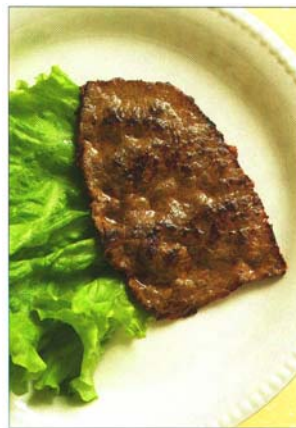
**8. Wenn Sie die folgenden Lebensmittel verzehren, welchen Bräunungsgrad weisen diese dann üblicherweise auf?**



A



B



C



D

- a. Rindersteak, -filet, -lende  A  B  C  D  Esse ich nicht  
 b. Rindergulasch, -braten, -rouladen  A  B  C  D  Esse ich nicht



A



B



C



D

- c. Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak  A  B  C  D  Esse ich nicht  
 d. Schweinbraten, -gulasch  A  B  C  D  Esse ich nicht  
 e. Kasseler, Schweinerippchen  A  B  C  D  Esse ich nicht  
 f. Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes  A  B  C  D  Esse ich nicht  
 g. Fisch  A  B  C  D  Esse ich nicht

**9. Verwenden Sie bei den folgenden Zubereitungsarten üblicherweise den Bratrückstand / die Bratflüssigkeit weiter; z.B. zur Herstellung einer Sauce, zum Eintunken von Brot oder zum Schwenken von Kartoffeln?**

- Kurzbraten  Ja  Nein  
 Braten/Schmoren  Ja  Nein

### 3 Daten, die der Berechnung der HAA-Aufnahme zugrunde liegen

In Tab. 26 werden die Literaturquellen, die der Berechnung der HAA-Aufnahme in dieser Arbeit zugrunde liegen, aufgeführt. Angegeben sind die Lebensmittel, wie sie im HAA-Fragebogen abgefragt wurden, die Zubereitungsart, mit der sie abgefragt wurden, und die Lebensmittel mit der dazugehörigen Literaturquelle, die zur Berechnung der HAA-Aufnahme verwendet wurde. In den Tabellen 27 und 28 sind die Werte zu finden, die zur Berechnung der HAA-Aufnahme verwendet wurden. Sie stammen jeweils aus den in Tab. 26 angegebenen Literaturquellen.

**Tab. 26:** Literaturquellen, die zur Berechnung der HAA-Aufnahme verwendet wurden

Lebensmittel	Zubereitungsart	Fleisch: Quelle	Sauce: Quelle
<b>Rindersteak, -filet, -lende</b>	kurzgebraten	(6) Gound beef, pan-fried *	(6) Gound beef, pan-fried
	gebraten	(3) Roast beef, braised	(3) Roast beef, braised
	gegrillt	(3) Beef steak, grilled	
<b>Rinderbraten, -rouladen, -gulasch</b>	gebraten	(3) Roast beef, braised	(3) Roast beef, braised
<b>Schweineschnitzel, -kotelett, lende, -filet, -steak</b>	kurzgebraten	(6) Pork chops, pan-fried	(6) Pork chops, pan-fried
	gebraten	(5) Pork stewing cubes, stewed	(5) Pork stewing cubes, stewed
	gegrillt	(5) Pork chops, pan-fried	
<b>Schweinebraten, -gulasch</b>	gebraten	(5) Pork stewing cubes, stewed	(5) Pork stewing cubes, stewed
<b>Kasseler, Schweinerippchen</b>	kurzgebraten	(6) Pork chops, pan-fried	(6) Pork chops, pan-fried
	gebraten	(5) Pork stewing cubes, stewed	(5) Pork stewing cubes, stewed
	gegrillt	(6) Pork chops, pan-fried	
<b>Speck, Schweinebauch</b>	kurzgebraten	(6) Pork belly, pan-fried	(6) Pork belly, pan-fried
	gegrillt	(6) Pork belly, pan-fried	
<b>Frikadellen, Hackbraten</b>	kurzgebraten	(6) Meat balls, pan-fried	(6) Meat balls, pan-fried
	gebraten	(6) Meat loaf, braised	(6) Meat loaf, braised
<b>Fleischkäse</b>	kurzgebraten	(5) Falun sausage, pan-fried	(5) Falun sausage, pan-fried
	gebraten	(5) Falun sausage, baked	(5) Falun sausage, baked
	gegrillt	(5) Falun sausage, pan-fried	
<b>Bratwurst</b>	kurzgebraten	(1) Frying sausage, pan-fried	(5) Cocktail sausages, pan-fried
	gegrillt	(1) Frying sausage, pan-fried	
<b>Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes</b>	kurzgebraten	(5) Chicken breast, pan-fried	(5) Chicken breast, pan-fried
	gebraten	(5) Chicken breast, baked	(5) Chicken breast, baked
	gegrillt	(4) Chicken breast, grilled	
<b>Fisch</b>	kurzgebraten	(5) Fish, pan-fried	(5) Fish, pan-fried
	gebraten	(2) Fish, oven-cooked	(5) Fish, pan-fried
	gegrillt	(2) Fish, grilled	

\* zur besseren Identifikation der verwendeten Lebensmittel in der Originalliteratur werden die angegebenen englischen Begriffe und nicht die deutschen Übersetzungen verwendet

Literatur der Quellen, die zur Berechnung der HAA-Aufnahme verwendet wurden:

- (1) *Abdulkarim BG, Smith JS.* Heterocyclic Amines in Fresh and Processed Meat Products. *J-Agric-Food-Chem* 46: 4680-87, 1998
- (2) *Gross GA, Grüter A.* Quantification of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products. *J-Chromatog* 592: 271-78, 1992
- (3) *Sinha R, Knize MG, Salmon CP et al.* Heterocyclic Amine Content of Pork Products Cooked by Different Methods and by Varying Degrees of Doneness. *Fd-Chem-Toxicol* 36: 289-97, 1998
- (4) *Sinha R, Rothman N, Brown ED et al.* High Concentrations of the Carcinogen 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine [PhIP] Occur in Chicken but Depending on the Cooking Temperature. *Cancer-Res* 55: 4516-19, 1995
- (5) *Skog K, Augustsson K, Steineck G et al.* Polar and Non-polar Heterocyclic Amines in Cooked Fish and Meat Products and their Corresponding Pan Residues. *Fd-Chem-Toxicol* 35: 555-65, 1997
- (6) *Skog K, Steineck G, Augustsson K et al.* Effect of cooking temperature on the formation of heterocyclic amines in fried meat products and pan residues. *Carcinogenesis* 16: 861-67, 1995



**Tab. 27:** HAA-Gehalte in Fleisch und Fisch (in ng/g zubereitetem Lebensmittel), die bei unterschiedlichen Temperaturen zubereitet wurden. Den Bildern mit den entsprechenden Bräunungsgraden wurden die HAA-Gehalte, die bei diesen Temperaturen entstehen, zugeordnet. Bild 4 zeigt das Lebensmittel in der am schwächsten gebräunten Version, Bild 1 in der stärksten. Die Werte wurden den in Tab. 26 genannten Literaturquellen entnommen.

Fleischart	IQ Bild4	Mx* Bild4	Di Bild4	Ph Bild4	IQ Bild3	Mx Bild3	Di Bild3	Ph Bild3
Rindersteak, kurzgebraten	0	0	0	0,01	0	0,2	0,02	0,04
Rindersteak, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Rindersteak, gegrillt	0	1,3	0	1,9	0	1,9	0	1,9
Rinderbraten, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Schweineschnitzel, kurzgebraten	0	0	0	0	0	0,2	0,04	0,02
Schweineschnitzel, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Schweineschnitzel, gegrillt	0	0	0	0	0	0,2	0,04	0,02
Schweinebraten, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Kasseler, kurzgebraten	0	0	0	0	0	0,2	0,04	0,02
Kasseler, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Kasseler, gegrillt	0	0	0	0	0	0,2	0,04	0,02
Bauch, kurzgebraten	0	0	0	0,02	0	0	0	0,7
Bauch, gegrillt	0	0	0	0,02	0	0	0	0,7
Frikadellen, kurzgebraten	0	0	0	0	0	0,03	0	0,02
Frikadellen, gebraten	0	0,1	0	0,3	0	0,1	0	0,3
Fleischkäse, kurzgebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Fleischkäse, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Fleischkäse, gegrillt	0	0	0	0	0	0	0	0
Bratwurst, kurzgebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Bratwurst, gegrillt	0	0	0	0	0	0	0	0
Huhn, kurzgebraten	0	0,5	0,2	0,5	0	0,5	0,2	0,5
Huhn, gebraten	0	0	0	0,04	0	0	0	0,04
Huhn, gegrillt	0	0	0	27	0	0	0	27
Fisch, kurzgebraten	0	0	0	0,02	0	0	0	0,05
Fisch, gebraten	0	1	0	0	0	4,6	0	18
Fisch, gegrillt	0	1	0	2	0	1	0	6,2

Fleischart	IQ Bild2	Mx Bild2	Di Bild2	Ph Bild2	IQ Bild1	Mx Bild1	Di Bild1	Ph Bild1
Rindersteak, kurzgebraten	0	1,2	0,4	0,5	0	2,2	0,8	1,1
Rindersteak, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Rindersteak, gegrillt	0	4,1	0	6,5	0	8,2	0	23,2
Rinderbraten, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Schweineschnitzel, kurzgebraten	0	0,2	0,05	0,02	0	2,6	1,1	4,8
Schweineschnitzel, gebraten	0	0,3	0,08	0,1	0	0,7	0,2	0,1
Schweineschnitzel, gegrillt	0	0,2	0,05	0,02	0	2,6	1,1	4,8
Schweinebraten, gebraten	0	0,3	0,08	0,1	0	0,7	0,2	0,1
Kasseler, kurzgebraten	0	0,2	0,05	0,02	0	2,6	1,1	4,8
Kasseler, gebraten	0	0,3	0,08	0,1	0	0,7	0,2	0,1
Kasseler, gegrillt	0	0,2	0,05	0,02	0	2,6	1,1	4,8
Bauch, kurzgebraten	0	0,4	0	0,3	0	2,9	0,7	12,4
Bauch, gegrillt	0	0,4	0	0,3	0	2,9	0,7	12,4
Frikadellen, kurzgebraten	0	0,8	0,3	0,1	0	0,7	0,2	0,1
Frikadellen, gebraten	0	0,1	0	0,3	0	0,1	0	0,3
Fleischkäse, kurzgebraten	0	0	0	0	0	0	0,07	0,1
Fleischkäse, gebraten	0	0	0	0	0	0	0	0
Fleischkäse, gegrillt	0	0	0	0	0	0	0,07	0,1
Bratwurst, kurzgebraten	0	0,3	0	0,4	0	0,7	0	0,3
Bratwurst, gegrillt	0	0,4	0	0,1	0	0,4	0	0,3
Huhn, kurzgebraten	0	0,4	0,5	10	0	0,5	0,2	7,5
Huhn, gebraten	0	0	0	0,3	0	0	0	0,3
Huhn, gegrillt	0	2	1	140	0	9	2	480
Fisch, kurzgebraten	0	0	0	0,4	0	0,9	0	2,2
Fisch, gebraten	0	3,1	0	5,9	0	3,1	0	5,9
Fisch, gegrillt	0	1	0	69	0	1	0	73

\*Mx = MeIQx; Di = DiMeIQx, Ph = PhIP

**Tab. 28:** HAA-Gehalte im Bratrückstand von Fleisch und Fisch (in ng/g Bratrückstand), die bei unterschiedlichen Temperaturen zubereitet wurden. Den Bildern mit den entsprechenden Bräunungsgraden wurden die HAA-Gehalte, die bei diesen Temperaturen entstehen, zugeordnet. Bild 4 zeigt das Lebensmittel in der am schwächsten gebräunten Version, Bild 1 in der stärksten. Die Werte wurden den in Tab. 26 genannten Literaturquellen entnommen.

Fleischart	IQ Bild4	Mx Bild4	Di Bild4	Ph Bild4	IQ Bild3	Mx Bild3	Di Bild3	Ph Bild3
Rindersteak, kurzgebraten	0,1	0,06	0,02	0,08	0,1	1,1	0,2	0,5
Rindersteak, gebraten	0	1,1	0	0	0	1	0	0
Rinderbraten, gebraten	0	1,1	0	0	0	1	0	0
Schweineschnitzel, kurzgebraten	0	0	0	0	0,1	0,8	0,2	0,8
Schweineschnitzel, gebraten	0	0,03	0,01	0,04	0	0,3	0,05	0,2
Schweinebraten, gebraten	0	0,03	0,01	0,04	0	0,3	0,05	0,2
Kasseler, kurzgebraten	0	0	0	0	0,1	0,8	0,2	0,8
Kasseler, gebraten	0	0,03	0,01	0,04	0	0,3	0,05	0,2
Bauch, kurzgebraten	0	0	0	0,04	0,1	0,4	0	0,5
Frikadellen, kurzgebraten	0	0,02	0,02	0,08	0,05	0,06	0,05	0,06
Frikadellen, gebraten	0	0,04	0,03	0	0	0,04	0,03	0
Fleischkäse, kurzgebraten	0,05	0,03	0,04	0,06	0,05	0,04	0,05	0,04
Fleischkäse, gebraten	0	0,01	0,01	0	0	0,01	0,01	0
Wurst, kurzgebraten	0	0	0	0,01	0	0,02	0	0,02
Huhn, kurzgebraten	0	0,08	0	0,02	0	0,6	0,3	0,3
Huhn, gebraten	0	0	0	0,6	0	0	0	0,6
Fisch, kurzgebraten	0	0,01	0	0,01	0	0,1	0,07	0,01
Fisch, gebraten	0	0,01	0	0,01	0	0,1	0,07	0,01

Fleischart	IQ Bild2	Mx Bild2	Di Bild2	Ph Bild2	IQ Bild1	Mx Bild1	Di Bild1	Ph Bild1
Rindersteak, kurzgebraten	0,1	5,8	1,1	7,2	0,1	3,3	0,7	11,2
Rindersteak, gebraten	0	7,1	1,1	4,1	0	7,1	1,1	4,1
Rinderbraten, gebraten	0	7,1	1,1	4,1	0	7,1	1,1	4,1
Schweineschnitzel, kurzgebraten	0,1	1,9	0,3	2,4	0,1	1,8	0,5	3,8
Schweineschnitzel, gebraten	0	1,7	0,3	1,6	0	2,6	0,6	1,8
Schweinebraten, gebraten	0	1,7	0,3	1,6	0	2,6	0,6	1,8
Kasseler, kurzgebraten	0,1	1,9	0,3	2,4	0,1	1,8	0,5	3,8
Kasseler, gebraten	0	1,7	0,3	1,6	0	2,6	0,6	1,8
Bauch, kurzgebraten	0,1	0,9	0	4	0,1	0,8	0,2	3,4
Frikadellen, kurzgebraten	0,05	0,7	0,1	0,3	0,05	0,7	0,1	0,5
Frikadellen, gebraten	0	0,04	0,03	0	0	0,04	0,03	0
Fleischkäse, kurzgebraten	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,4
Fleischkäse, gebraten	0	0,01	0,01	0	0	0,01	0,01	0
Wurst, kurzgebraten	0	0	0	0,01	0	0	0	0,01
Huhn, kurzgebraten	0	0,4	0,06	0,6	0	0,2	0,02	1
Huhn, gebraten	0	0,02	0,01	0,09	0	0,02	0,01	0,09
Fisch, kurzgebraten	0	0,1	0,02	0,05	0	0,2	0	0,01
Fisch, gebraten	0	0,1	0,02	0,05	0	0,2	0	0,01

Mx = MeIQx; Di = DiMeIQx, Ph = PhIP

## 4 Ergebnisausdruck von Max\_r

Im Folgenden ist der Ergebnisausdruck von Max\_r zur Ermittlung der Kombinationen aus Lebensmitteln und Zubereitungsarten, die den höchsten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten zwischen einer kurzen Liste von Kombinationen und der Gesamtliste maximieren, dargestellt. Die einzelnen Kombinationen sind mit Nummern angegeben:

- 1= Rindersteak, -filet, -lende, kurzgebraten
- 2= Rindersteak, -filet, -lende, gebraten
- 3= Rindersteak, -filet, -lende gegrillt
- 4= Rinderbraten, -rouladen, -gulasch, gebraten
- 5= Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, kurzgebraten
- 6= Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, gebraten
- 7= Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, gegrillt
- 8= Schweinebraten, -gulasch, gebraten
- 9= Kasseler, Schweinerippchen, kurzgebraten
- 10= Kasseler, Schweinerippchen, gebraten
- 11= Kasseler, Schweinerippchen, gegrillt
- 12= Speck, Schweinebauch, kurzgebraten
- 13= Speck, Schweinebauch, gegrillt
- 14= Frikadellen, Hackbraten, kurzgebraten
- 15= Frikadellen, Hackbraten, gebraten
- 16= Fleischkäse, kurzgebraten
- 17= Fleischkäse, gebraten
- 18= Fleischkäse, gegrillt
- 19= Bratwurst, kurzgebraten
- 20= Bratwurst, gegrillt
- 21= Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, kurzgebraten
- 22= Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, gebraten
- 23= Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, gegrillt
- 24= Fisch, kurzgebraten
- 25= Fisch, gebraten
- 26= Fisch, gegrillt

"N" gibt die Anzahl der verwendeten Datensätze an, "T" ist die Anzahl der Kombinationen aus Lebensmitteln und Zubereitungsart, die im HAA-Fragebogen erfasst wurden und hier in die Auswertung eingehen. Als Zero-Variable werden jene Lebensmittel bezeichnet, die nicht zur Aufnahme eines Nährstoffes, in diesem Fall zur HAA-Aufnahme, beitragen.

Um die Lebensmittel und Zubereitungsarten zu ermitteln, die am wichtigsten zur Berechnung der HAA-Aufnahme sind, wird nach folgendem Prinzip verfahren:

Zunächst wird von dem Programm Max\_r eine Liste aller Kombinationen aus Lebensmittel und Zubereitungsart erstellt, die zur HAA-Aufnahme beitragen. Dabei werden alle Kombinationen aus Lebensmittel und Zubereitungsart in drei Ranglisten (a, b, c) aufgeführt: "a" ist die Liste nach der Vorwärts-Selektion (schrittweise Regression), "b" ist die Liste der Rückwärts-Selektion und "c" ist die Liste nach der Varianz der einzelnen Kombinationen.

Aus dieser ersten Liste soll durch das Programm eine Teilmenge (*Best Subset*) von Lebensmitteln ( $k$ ) ausgewählt werden, die zusammen einen maximalen Pearsonschen Korrelationskoeffizienten  $r$  erreicht. Bei der Verwendung einer unbegrenzten Zahl von  $k$  Lebensmitteln kommt es zu einer sehr hohen Zahl an Kombinationsmöglichkeiten, für die alle der Korrelationskoeffizient bestimmt werden müsste. Da dieses Verfahren sehr rechen- und zeitintensiv ist, wird eine zeitlich verkürzte Suchstrategie vorgenommen. Hierbei wird schrittweise vorgegangen und die Zahl der Lebensmittel in der Teilmenge  $k$  auf fünf begrenzt. Das Programm testet alle Kombinationsmöglichkeiten der Lebensmittel dieser Liste und ermittelt die Lebensmittelkombination, die den höchsten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten erreicht. Im diesem Schritt wird also dem Programm angegeben, wie viele Kombinationen aus Lebensmittel und Zubereitungsart aus der soeben erstellten Liste übernommen werden sollen (hier:  $k_p=0$ ) und wie groß die zu berechnende Teilmenge sein soll ( $k=5$ ).

Im nun folgenden Schritt wird die vorher erstellte Teilmenge  $k$ , bestehend aus jenen fünf Lebensmitteln, die von allen Kombinationsmöglichkeiten den höchsten Pearsonschen Korrelationskoeffizienten erreicht, erweitert. Es wird die Anweisung gegeben, diese fünf Kombinationen zu behalten ( $k_p=5$ ) und aus den verbleibenden Kombinationen die nächsten fünf besten herauszusuchen. Anschließend wird der Korrelationskoeffizient zwischen allen  $T$  Lebensmitteln und der nun zehn Lebensmittel umfassenden Teilmenge  $k$  berechnet. Dieses Verfahren wird solange fortgesetzt bis der gewünschte Pearsonsche Korrelationskoeffizient von  $r \sim 1,0$  erreicht ist.

Max\_r 3.0; DSNAME=haa3.

N= 353, t <= T= 26

ZERO VARIABLE # 18

VARIABLES RANKED BY: (a) FORWARD SELECTION; (b) BACKWARD SELECTION; (c) VARIANCE

"Best" denoted by *				VARIANCE	Pearson r			R <sup>2</sup> w		
t	(a)	(b)	(c)		(a)	(b)	(c)	(a)	(b)	(c)
1	4	4	4	1173976.0000	0.761	0.761	0.761	30.9	30.9	30.9
2	8	8	8	637725.3750	0.896	0.896	0.896	55.1	55.1	55.1
3	23	23	23	457055.8125	0.980	0.980	0.980	75.0	75.0	75.0
4	25	25	25	35576.9219	0.985	0.985	0.985	76.1	76.1	76.1
5	5	5	1	29190.4805	0.990	0.990	0.989	81.3	81.3	82.4
6	1	1	5	22807.5234	0.993	0.993	0.993	87.9	87.9	87.9
7	22	22	21	13998.7881	0.995	0.995	0.995	90.5	90.5	88.7
8	21	21	22	7398.3735	0.997	0.997	0.997	91.3	91.3	91.3
9	2	2	6	4328.4785	0.998	0.998	0.998	93.7	93.7	93.6
10	26	26	2	4034.6555	0.999	0.999	0.999	94.1	94.1	96.2
11	6	6	26	3960.4023	0.999	0.999	0.999	96.5	96.5	96.5
12	9	9	9	1297.5225	1.000	1.000	1.000	96.7	96.7	96.7
13	16	16	14	420.5666	1.000	1.000	1.000	97.3	97.3	97.2
14	14	14	10	343.3885	1.000	1.000	1.000	97.8	97.8	97.8
15	10	10	16	316.2293	1.000	1.000	1.000	98.4	98.4	98.4
16	12	12	12	194.9916	1.000	1.000	1.000	99.0	99.0	99.0
17	19	19	19	154.3637	1.000	1.000	1.000	99.1	99.1	99.1
18	24	24	24	125.2227	1.000	1.000	1.000	99.4	99.4	99.4
19	3	3	13	76.1659	1.000	1.000	1.000	99.5	99.5	99.5
20	15	15	15	74.2718	1.000	1.000	1.000	99.5	99.5	99.5
21	13	13	3	68.7282	1.000	1.000	1.000	99.6	99.6	99.6
22	17	17	17	43.4568	1.000	1.000	1.000	100.0	100.0	100.0
23	20	20	20	5.2448	1.000	1.000	1.000	100.0	100.0	100.0
24	7	7	7	0.7262	1.000	1.000	1.000	100.0	100.0	100.0
25	11	11	11	0.0206	1.000	1.000	1.000	100.0	100.0	100.0
26	18	18	18	0.0000	1.000	1.000	1.000	100.0	100.0	100.0

kp= 0 t= 26 k= 5

BEST	SUBSET	VARIANCE	Pearson r	R <sup>2</sup> w
1	4	1173976.0000	0.761	30.9
2	8	637725.3750	0.896	55.1
3	23	457055.8125	0.980	75.0
4	25	35576.9219	0.985	76.1
5	5	22807.5234	0.990	81.3

kp= 5 t= 26 k= 10

BEST	SUBSET	VARIANCE	Pearson r	R <sup>2</sup> w
1	4	1173976.0000	0.761	30.9
2	8	637725.3750	0.896	55.1
3	23	457055.8125	0.980	75.0
4	25	35576.9219	0.985	76.1
5	5	22807.5234	0.990	81.3
6	1	29190.4805	0.993	87.9
7	22	7398.3735	0.995	90.5
8	21	13998.7881	0.997	91.3
9	2	4034.6555	0.998	93.7
10	26	3960.4023	0.999	94.1

kp= 10 t= 26 k= 15

BEST	SUBSET	VARIANCE	Pearson r	R <sup>2</sup> w
1	4	1173976.0000	0.761	30.9
2	8	637725.3750	0.896	55.1
3	23	457055.8125	0.980	75.0
4	25	35576.9219	0.985	76.1
5	5	22807.5234	0.990	81.3
6	1	29190.4805	0.993	87.9
7	22	7398.3735	0.995	90.5
8	21	13998.7881	0.997	91.3
9	2	4034.6555	0.998	93.7
10	26	3960.4023	0.999	94.1
11	6	4328.4785	0.999	96.5
12	9	1297.5225	1.000	96.7
13	16	316.2293	1.000	97.3
14	14	420.5666	1.000	97.8
15	10	343.3885	1.000	98.4

## 5 Ergebnisausdruck der schrittweisen multiplen Regression

Im diesem Kapitel sind die Ergebnisse der schrittweisen Regression zur Ermittlung der Kombinationen aus Lebensmittel und Zubereitungsart dargestellt, die die interpersonelle Varianz in der HAA-Aufnahme am besten erklären. Die einzelnen Kombinationen sind mit Abkürzungen angegeben:

haa\_ak= Rindersteak, -filet, -lende, kurzgebraten  
 haa\_ab = Rindersteak, -filet, -lende, gebraten  
 haa\_ag = Rindersteak, -filet, -lende gegrillt  
 haa\_bb = Rinderbraten, -rouladen, -gulasch, gebraten  
 haa\_ck = Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, kurzgebraten  
 haa\_cb = Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, gebraten  
 haa\_cg = Schweineschnitzel, -kotelett, -lende, -filet, -steak, gegrillt  
 haa\_db = Schweinebraten, -gulasch, gebraten  
 haa\_ek = Kasseler, Schweinerippchen, kurzgebraten  
 haa\_eb = Kasseler, Schweinerippchen, gebraten  
 haa\_eg = Kasseler, Schweinerippchen, gegrillt  
 haa\_fk = Speck, Schweinebauch, kurzgebraten  
 haa\_fg = Speck, Schweinebauch, gegrillt  
 haa\_gk = Frikadellen, Hackbraten, kurzgebraten  
 haa\_gb = Frikadellen, Hackbraten, gebraten  
 haa\_hk = Fleischkäse, kurzgebraten  
 haa\_hb = Fleischkäse, gebraten  
 haa\_hg = Fleischkäse, gegrillt  
 haa\_ik = Bratwurst, kurzgebraten  
 haa\_ig = Bratwurst, gegrillt  
 haa\_jk = Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, kurzgebraten  
 haa\_jb = Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, gebraten  
 haa\_jg = Brathuhn, Putenschnitzel, -geschnetzeltes, gegrillt  
 haa\_kk = Fisch, kurzgebraten  
 haa\_kb = Fisch, gebraten  
 haa\_kg = Fisch, gegrillt

Angegeben sind alle Schritte des Auswahlprozesses (Step 1 bis Step 25), abschließend wird noch eine Zusammenfassung (Summary) des Auswahlprozesses gezeigt.

Forward Selection Procedure for Dependent Variable HAA						
<b>Step 1</b>	<b>Variable HAA_BB Entered</b>		<b>R-square = 0.57901865</b>	<b>C(p) = .</b>		
		DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
	Regression	1	774118091.88194	774118091.88194	482.77	0.0001
	Error	351	562830362.91687	1603505.3074555		
	Total	352	1336948454.7988			
	Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
	INTERCEP	475.50742742	70.08458055	73814223.386171	46.03	0.0001
	HAA_BB	1.36868051	0.06229220	774118091.88194	482.77	0.0001
Bounds on condition number:		1,	1			
-----						
<b>Step 2</b>	<b>Variable HAA_DB Entered</b>		<b>R-square = 0.80342362</b>	<b>C(p) = .</b>		
		DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
	Regression	2	1074135972.5577	537067986.27887	715.24	0.0001
	Error	350	262812482.24108	750892.80640307		
	Total	352	1336948454.7988			
	Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
	INTERCEP	359.15372294	48.31163782	41498764.526467	55.27	0.0001
	HAA_BB	1.22854204	0.04319995	607283411.79389	808.75	0.0001
	HAA_DB	1.17160540	0.05861338	300017880.67579	399.55	0.0001
Bounds on condition number:		1.02705,	4.108201			
-----						

**Step 3 Variable HAA\_JG Entered R-square = 0.96086502 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	3	1284627010.1119	428209003.37063	2856.28	0.0001
Error	349	52321444.686926	149918.17961870		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	196.91517963	22.01682063	11992327.594741	79.99	0.0001
HAA_BB	1.16976471	0.01936648	546952755.55361	3648.34	0.0001
HAA_DB	1.04764207	0.02639809	236121298.94375	1575.00	0.0001
HAA_JG	1.15893900	0.03092936	210491037.55415	1404.04	0.0001

Bounds on condition number: 1.043438, 9.311591

**Step 4 Variable HAA\_KB Entered R-square = 0.97109086 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	4	1298298419.3551	324574604.83877	2922.43	0.0001
Error	348	38650035.443738	111063.32024063		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	118.98977762	20.20987116	3850018.9638040	34.67	0.0001
HAA_BB	1.17881696	0.01668893	554123143.56262	4989.25	0.0001
HAA_DB	1.05317711	0.02272665	238507918.58002	2147.49	0.0001
HAA_JG	1.12577537	0.02678858	196143930.15221	1766.05	0.0001
HAA_KB	1.05234860	0.09485021	13671409.243188	123.10	0.0001

Bounds on condition number: 1.043941, 16.53682

**Step 5 Variable HAA\_CK Entered R-square = 0.98131926 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	5	1311973269.4780	262394653.89561	3645.66	0.0001
Error	347	24975185.320762	71974.59746617		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	86.82232782	16.43578490	2008450.8026852	27.90	0.0001
HAA_BB	1.11382500	0.01423823	440454851.30746	6119.59	0.0001
HAA_CK	1.41932209	0.10296966	13674850.122976	190.00	0.0001
HAA_DB	1.00675152	0.01860275	210799488.47190	2928.80	0.0001
HAA_JG	1.13509675	0.02157582	199209611.93519	2767.78	0.0001
HAA_KB	1.06727523	0.07636358	14059165.641743	195.34	0.0001

Bounds on condition number: 1.182657, 27.40557

**Step 6 Variable HAA\_AK Entered R-square = 0.98737689 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	6	1320072003.2792	220012000.54654	4510.67	0.0001
Error	346	16876451.519562	48775.87144382		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	89.01041288	13.53123840	2110627.4269638	43.27	0.0001
HAA_AK	1.06441449	0.08260470	8098733.8011999	166.04	0.0001
HAA_BB	1.02945861	0.01342579	286776234.17815	5879.47	0.0001
HAA_CK	1.26755566	0.08558044	10700155.777888	219.37	0.0001
HAA_DB	1.01461065	0.01532619	213764443.52263	4382.59	0.0001
HAA_JG	1.15533190	0.01783081	204774737.60902	4198.28	0.0001
HAA_KB	1.04755242	0.06288222	13536326.806244	277.52	0.0001

Bounds on condition number: 1.527136, 43.89006

**Step 7 Variable HAA\_JB Entered R-square = 0.99172753 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	7	1325888594.4709	189412656.35299	5908.52	0.0001
Error	345	11059860.327879	32057.56616777		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	60.81945657	11.16769759	950798.14929187	29.66	0.0001
HAA_AK	1.11162089	0.06705966	8808890.9178841	274.78	0.0001
HAA_BB	1.00797719	0.01100056	269154846.08307	8395.99	0.0001
HAA_CK	1.32043998	0.06949147	11574570.781291	361.06	0.0001
HAA_DB	1.01182720	0.01242673	212534401.66157	6629.77	0.0001
HAA_JB	1.66993181	0.12397375	5816591.1916824	181.44	0.0001
HAA_JG	1.07160705	0.01573519	148681714.60070	4637.96	0.0001
HAA_KB	0.99297046	0.05113971	12086115.018318	377.01	0.0001

Bounds on condition number: 1.55992, 61.63324

**Step 8 Variable HAA\_JK Entered R-square = 0.99561554 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	8	1331086662.0663	166385832.75828	9764.37	0.0001
Error	344	5861792.7325547	17040.09515278		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	27.51936378	8.36231453	184542.24367478	10.83	0.0011
HAA_AK	1.09100361	0.04890561	8480219.7715442	497.66	0.0001
HAA_BB	1.01040799	0.00802142	270373160.92155	15866.9	0.0001
HAA_CK	1.24807576	0.05083345	10271993.255868	602.81	0.0001
HAA_DB	1.01863112	0.00906836	215004835.04719	12617.6	0.0001
HAA_JK	1.03362718	0.05918055	5198067.5953247	305.05	0.0001
HAA_JB	1.64571599	0.09039649	5647791.6443073	331.44	0.0001
HAA_JG	1.06252269	0.01148388	145871704.95496	8560.50	0.0001
HAA_KB	1.01608110	0.03730803	12639333.167946	741.74	0.0001

Bounds on condition number: 1.560389, 78.66456

**Step 9 Variable HAA\_KG Entered R-square = 0.99717108 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	9	1333166332.0638	148129592.45153	13433.8	0.0001
Error	343	3782122.7349933	11026.59689502		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	10.54927615	6.83939488	26233.21160465	2.38	0.1239
HAA_AK	1.05653744	0.03942079	7920648.2327421	718.32	0.0001
HAA_BB	1.01151910	0.00645312	270925534.76865	24570.2	0.0001
HAA_CK	1.24357213	0.04089294	10197338.948851	924.79	0.0001
HAA_DB	1.01678016	0.00729605	214151069.32258	19421.3	0.0001
HAA_JK	0.97744130	0.04778169	4614235.9576768	418.46	0.0001
HAA_JB	1.69448576	0.07280372	5973243.3193008	541.71	0.0001
HAA_JG	1.06029186	0.00923933	145214912.91764	13169.5	0.0001
HAA_KB	1.01936339	0.03001241	12720317.102910	1153.60	0.0001
HAA_KG	1.23133251	0.08966003	2079669.9975614	188.60	0.0001

Bounds on condition number: 1.560635, 97.80193

**Step10 Variable HAA\_CB Entered R-square = 0.99834389 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	10	1334734323.3005	133473432.33005	20616.6	0.0001
Error	342	2214131.4983538	6474.06870864		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	3.96037443	5.25772922	3673.27437190	0.57	0.4518
HAA_AK	1.01722744	0.03031143	7291228.1391691	1126.22	0.0001
HAA_BB	1.00635574	0.00495579	266964757.85723	41236.0	0.0001
HAA_CK	1.17020383	0.03168670	8829710.0517264	1363.86	0.0001
HAA_CB	1.15740666	0.07437086	1567991.2366395	242.20	0.0001
HAA_DB	1.01227322	0.00559806	211688756.77887	32697.9	0.0001
HAA_JK	1.02823827	0.03675771	5066031.5210640	782.51	0.0001
HAA_JB	1.39359302	0.05904100	3606964.4271731	557.14	0.0001
HAA_JG	1.05006341	0.00711004	141209671.91653	21811.6	0.0001
HAA_KB	1.00767288	0.02300913	12416977.028430	1917.96	0.0001
HAA_KG	1.17995429	0.06878087	1905339.5816139	294.30	0.0001

Bounds on condition number: 1.567661, 123.8884

-----

**Step11 Variable HAA\_AB Entered R-square = 0.99914196 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	11	1335801304.4420	121436482.22200	36098.0	0.0001
Error	341	1147150.3567945	3364.07729265		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	11.95016627	3.81648938	32982.66508868	9.80	0.0019
HAA_AK	1.04982029	0.02192647	7711846.3036206	2292.41	0.0001
HAA_AB	1.17521517	0.06598907	1066981.1415593	317.17	0.0001
HAA_BB	1.00053164	0.00358732	261690677.25195	77789.7	0.0001
HAA_CK	1.16485989	0.02284330	8747739.6789089	2600.34	0.0001
HAA_CB	1.01894484	0.05417099	1190237.9441412	353.81	0.0001
HAA_DB	1.01325063	0.00403573	212058523.57912	63036.2	0.0001
HAA_JK	1.04064676	0.02650592	5185454.7053678	1541.42	0.0001
HAA_JB	1.08665151	0.04591696	1884084.0234399	560.06	0.0001
HAA_JG	1.01057469	0.00558434	110169009.54408	32748.7	0.0001
HAA_KB	1.00264227	0.01658852	12289743.279064	3653.23	0.0001
HAA_KG	1.10802356	0.04974486	1669042.9116854	496.14	0.0001

Bounds on condition number: 1.838339, 162.263

-----

**Step12 Variable HAA\_EK Entered R-square = 0.99950456 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	12	1336286074.7290	111357172.89409	57159.7	0.0001
Error	340	662380.06977834	1948.17667582		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	10.29180081	2.90622732	24431.60062796	12.54	0.0005
HAA_AK	1.04792652	0.01668634	7683650.9053550	3944.02	0.0001
HAA_AB	1.16005542	0.05022648	1039250.8933909	533.45	0.0001
HAA_BB	1.00253817	0.00273289	262172147.31132	134573	0.0001
HAA_CK	1.11266721	0.01769568	7702366.2580188	3953.63	0.0001
HAA_CB	1.03453233	0.04123563	1226227.6682752	629.42	0.0001
HAA_DB	1.01461332	0.00307238	212461193.91353	109056	0.0001
HAA_EK	1.05435076	0.06683921	484770.28701618	248.83	0.0001
HAA_JK	1.04985264	0.02017929	5273190.5612944	2706.73	0.0001
HAA_JB	1.10393326	0.03495970	1942578.6810142	997.13	0.0001
HAA_JG	1.00688079	0.00425609	109034025.15666	55967.2	0.0001
HAA_KB	1.00698856	0.01262677	12390619.571390	6360.11	0.0001
HAA_KG	1.07416123	0.03791635	1563558.6143774	802.58	0.0001

Bounds on condition number: 1.839012, 190.3228

-----

**Step13 Variable HAA\_GK Entered R-square = 0.99967419 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	13	1336512859.0166	102808681.46282	80010.3	0.0001
Error	339	435595.78220649	1284.94331034		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	6.85242572	2.37440274	10701.97351313	8.33	0.0042
HAA_AK	0.97340538	0.01466662	5659935.4265037	4404.81	0.0001
HAA_AB	1.05898329	0.04149406	836932.28976784	651.34	0.0001
HAA_BB	1.00319618	0.00222002	262385740.08118	204200	0.0001
HAA_CK	1.09752761	0.01441638	7447357.8942027	5795.86	0.0001
HAA_CB	1.06848536	0.03358625	1300463.3015310	1012.08	0.0001
HAA_DB	1.01473574	0.00249520	212509566.82442	165384	0.0001
HAA_EK	1.05983819	0.05428398	489801.08429559	381.18	0.0001
HAA_GK	1.42981189	0.10762531	226784.28757185	176.49	0.0001
HAA_JK	1.01094409	0.01664793	4738249.0090576	3687.52	0.0001
HAA_JB	1.14672055	0.02857406	2069451.9250259	1610.54	0.0001
HAA_JG	1.00925204	0.00346112	109256852.59569	85028.5	0.0001
HAA_KB	0.99813483	0.01027626	12122492.904753	9434.26	0.0001
HAA_KG	1.09128149	0.03082012	1610975.1700407	1253.73	0.0001

Bounds on condition number: 1.902985, 228.6841

-----

**Step14 Variable HAA\_HK Entered R-square = 0.99976576 C(p) = .**



	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	14	1336635290.2562	95473949.304014	103045	0.0001
Error	338	313164.54261136	926.52231542		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	6.77762753	2.01624175	10469.50315878	11.30	0.0009
HAA_AK	0.98250047	0.01247931	5743019.1070242	6198.47	0.0001
HAA_AB	1.06346096	0.03523696	843921.66596813	910.85	0.0001
HAA_BB	1.00271409	0.00188561	262003946.23108	282782	0.0001
HAA_CK	1.05480454	0.01279346	6298307.0338503	6797.79	0.0001
HAA_CB	1.08220431	0.02854482	1331740.5930867	1437.35	0.0001
HAA_DB	1.00746986	0.00221108	192358545.51555	207614	0.0001
HAA_EK	0.94804181	0.04711020	375215.72036162	404.97	0.0001
HAA_GK	1.14697353	0.09464457	136072.79043735	146.86	0.0001
HAA_HK	1.30104359	0.11318104	122431.23959513	132.14	0.0001
HAA_JK	1.01094858	0.01413664	4738291.0553828	5114.06	0.0001
HAA_JB	1.11152702	0.02445614	1913904.2572756	2065.69	0.0001
HAA_JG	1.01147031	0.00294535	109266602.74648	117932	0.0001
HAA_KB	0.99951995	0.00872695	12153843.830255	13117.7	0.0001
HAA_KG	1.01568189	0.02698468	1312613.3195349	1416.71	0.0001

Bounds on condition number: 1.903218, 274.3762

Step15 Variable HAA\_EB Entered R-square = 0.99983238 C(p) = .

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	15	1336724354.6566	89114956.977107	134010	0.0001
Error	337	224100.14220008	664.98558516		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	5.77054507	1.71034460	7569.69990201	11.38	0.0008
HAA_AK	1.00187508	0.01070401	5825676.2130906	8760.61	0.0001
HAA_AB	1.09462000	0.02997339	886885.13873944	1333.69	0.0001
HAA_BB	1.00030566	0.00161096	256395441.48478	385565	0.0001
HAA_CK	1.04510102	0.01087081	6146177.0964776	9242.57	0.0001
HAA_CB	1.07982573	0.02418362	1325797.2008127	1993.72	0.0001
HAA_DB	1.00108060	0.00195286	174747079.31296	262783	0.0001
HAA_EK	0.98387663	0.04003098	401699.32695359	604.07	0.0001
HAA_EB	0.98624419	0.08521941	89064.40041128	133.93	0.0001
HAA_GK	1.10234853	0.08027411	125400.46040394	188.58	0.0001
HAA_HK	1.12482841	0.09708669	89261.74381925	134.23	0.0001
HAA_JK	1.01199634	0.01197669	4747846.4928684	7139.77	0.0001
HAA_JB	1.08035884	0.02089317	1778031.4016862	2673.79	0.0001
HAA_JG	1.00847404	0.00250865	107463289.41457	161602	0.0001
HAA_KB	0.99744296	0.00739552	12096257.721656	18190.3	0.0001
HAA_KG	1.02597681	0.02287831	1337332.4972881	2011.07	0.0001

Bounds on condition number: 1.918699, 318.1678

Step16 Variable HAA\_IK Entered R-square = 0.99988100 C(p) = .

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	16	1336789351.5602	83549334.472512	176443	0.0001
Error	336	159103.23861155	473.52154349		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	3.98293993	1.45131206	3566.36383635	7.53	0.0064
HAA_AK	1.00101313	0.00903285	5815270.6824564	12280.9	0.0001
HAA_AB	1.09569297	0.02529312	888613.03840220	1876.61	0.0001
HAA_BB	1.00013679	0.00135948	256280069.57036	541222	0.0001
HAA_CK	1.03968318	0.00918495	6067199.8935071	12812.9	0.0001
HAA_CB	1.07390021	0.02041354	1310481.6109553	2767.52	0.0001
HAA_DB	1.00091497	0.00164797	174676404.92751	368888	0.0001
HAA_EK	0.96813976	0.03380672	388337.91687970	820.11	0.0001
HAA_EB	0.98789970	0.07191229	89363.31304277	188.72	0.0001
HAA_GK	1.08874927	0.06774901	122289.59987617	258.26	0.0001
HAA_HK	1.11629239	0.08192956	87905.16536058	185.64	0.0001
HAA_IK	1.10056882	0.09393788	64996.90358853	137.26	0.0001
HAA_JK	1.01362990	0.01010745	4762280.3631048	10057.2	0.0001
HAA_JB	1.07990412	0.01763069	1776526.3862597	3751.73	0.0001
HAA_JG	1.00840456	0.00211693	107447639.65590	226912	0.0001
HAA_KB	0.99830449	0.00624112	12115480.482091	25585.9	0.0001
HAA_KG	1.02633550	0.01930582	1338264.3913554	2826.20	0.0001

Bounds on condition number: 1.918725, 355.7008

-----

**Step17 Variable HAA\_FK Entered R-square = 0.99992171 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	17	1336843780.3448	78637869.432047	251673	0.0001
Error	335	104674.45401332	312.46105676		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	6.02697953	1.18906131	8027.62049362	25.69	0.0001
HAA_AK	1.00195624	0.00733793	5825681.1201681	18644.5	0.0001
HAA_AB	0.99868907	0.02182116	654486.40951754	2094.62	0.0001
HAA_BB	0.99995124	0.00110442	256143473.15283	819761	0.0001
HAA_CK	1.04265586	0.00746453	6096388.8816998	19510.9	0.0001
HAA_CB	1.05353222	0.01665402	1250412.9639526	4001.82	0.0001
HAA_DB	1.00154046	0.00133952	174675871.51676	559032	0.0001
HAA_EK	0.98317112	0.02748554	399802.59770200	1279.53	0.0001
HAA_EB	0.97579790	0.05842311	87165.84029802	278.97	0.0001
HAA_FK	1.34147079	0.10164005	54428.78459823	174.19	0.0001
HAA_GK	1.09619976	0.05503689	123955.98052965	396.71	0.0001
HAA_HK	1.06424294	0.06666991	79619.19333077	254.81	0.0001
HAA_IK	1.06608038	0.07635251	60915.69155568	194.95	0.0001
HAA_JK	1.01817140	0.00821771	4796625.2478576	15351.1	0.0001
HAA_JB	1.01630720	0.01511067	1413442.7923879	4523.58	0.0001
HAA_JG	1.00171056	0.00179286	97540766.224109	312169	0.0001
HAA_KB	0.99973589	0.00507096	12144690.775706	38867.9	0.0001
HAA_KG	1.03636813	0.01570095	1361357.4355808	4356.89	0.0001

Bounds on condition number: 2.269322, 426.7186

-----

**Step18 Variable HAA\_KK Entered R-square = 0.99994427 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	18	1336873948.3967	74270774.910926	332944	0.0001
Error	334	74506.40214627	223.07306032		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	4.21777221	1.01665879	3839.39615231	17.21	0.0001
HAA_AK	0.99133132	0.00626706	5581580.8342229	25021.3	0.0001
HAA_AB	1.01431214	0.01848644	671558.19027250	3010.49	0.0001
HAA_BB	1.00004645	0.00093321	256172534.20785	1148380	0.0001
HAA_CK	1.01813259	0.00665027	5228497.2386166	23438.5	0.0001
HAA_CB	1.05120398	0.01407306	1244640.4656718	5579.52	0.0001
HAA_DB	1.00242351	0.00113436	174199929.00515	780910	0.0001
HAA_EK	0.99916418	0.02326430	411472.48927145	1844.56	0.0001
HAA_EB	0.94367008	0.04944124	81265.98318467	364.30	0.0001
HAA_FK	1.16511548	0.08720834	39817.04740503	178.49	0.0001
HAA_GK	1.05867103	0.04661468	115059.81755756	515.79	0.0001
HAA_HK	0.97974956	0.05679866	66374.47821145	297.55	0.0001
HAA_IK	1.04300101	0.06454377	58251.60971335	261.13	0.0001
HAA_JK	1.00796177	0.00699875	4626941.1812045	20741.8	0.0001
HAA_JB	1.02739792	0.01280317	1436445.5100815	6439.35	0.0001
HAA_JG	1.00294467	0.00151857	97303732.548822	436197	0.0001
HAA_KK	0.99860258	0.08587023	30168.05186705	135.24	0.0001
HAA_KB	1.00295453	0.00429358	12172225.425015	54566.1	0.0001
HAA_KG	1.02556228	0.01329885	1326608.4544414	5946.97	0.0001

Bounds on condition number: 2.340083, 484.7891

-----

**Step19 Variable HAA\_AG Entered R-square = 0.99996226 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	19	1336898001.4023	70363052.705384	464407	0.0001
Error	333	50453.39650547	151.51170122		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	2.88670602	0.84450004	1770.32067439	11.68	0.0007
HAA_AK	0.99023102	0.00516565	5567605.8481741	36747.0	0.0001
HAA_AB	1.01279048	0.01523584	669502.69822020	4418.82	0.0001
HAA_AG	1.03035574	0.08177595	24053.00564079	158.75	0.0001
HAA_BB	0.99992619	0.00076915	256071494.11729	1690110	0.0001
HAA_CK	1.01190310	0.00550299	5123021.4046005	33812.7	0.0001
HAA_CB	1.03943407	0.01163569	1209081.6464223	7980.12	0.0001

HAA_DB	1.00206203	0.00093531	173910532.49800	1147836	0.0001
HAA_EK	1.00240781	0.01917470	414073.74005636	2732.95	0.0001
HAA_EB	0.97140931	0.04080580	85863.17166525	566.71	0.0001
HAA_FK	1.14822606	0.07188414	38657.59833820	255.15	0.0001
HAA_GK	1.07806403	0.03844772	119122.60341740	786.23	0.0001
HAA_HK	1.03646366	0.04702581	73600.67887361	485.78	0.0001
HAA_IK	1.05781087	0.05320591	59888.37384680	395.27	0.0001
HAA_JK	1.00950848	0.00576924	4639050.7943902	30618.4	0.0001
HAA_JB	1.02349803	0.01055611	1424335.4093866	9400.83	0.0001
HAA_JG	1.00280310	0.00125156	97268423.113488	641986	0.0001
HAA_KK	0.92139299	0.07103366	25492.21594068	168.25	0.0001
HAA_KB	1.00403650	0.00353954	12191322.054450	80464.6	0.0001
HAA_KG	1.01432866	0.01099628	1289174.2830085	8508.74	0.0001

Bounds on condition number: 2.340897, 533.293

-----

**Step20 Variable HAA\_GB Entered R-square = 0.99997925 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	20	1336920710.3017	66846035.515084	799902	0.0001
Error	332	27744.49711708	83.56776240		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	-0.03151843	0.65169028	0.19547239	0.00	0.9615
HAA_AK	0.99163141	0.00383732	5580628.0869850	66779.7	0.0001
HAA_AB	1.02680144	0.01134709	684293.69118941	8188.49	0.0001
HAA_AG	1.01611683	0.06073875	23388.07144717	279.87	0.0001
HAA_BB	0.99985089	0.00057124	256016549.23926	3063580	0.0001
HAA_CK	1.01274995	0.00408723	5130789.1471404	61396.8	0.0001
HAA_CB	1.02058567	0.00871680	1145574.1636617	13708.3	0.0001
HAA_DB	1.00215244	0.00069465	173931073.01805	2081318	0.0001
HAA_EK	0.99456225	0.01424844	407162.64480621	4872.25	0.0001
HAA_EB	0.95010835	0.03033281	81989.79886360	981.12	0.0001
HAA_FK	1.16627086	0.05339746	39865.42176629	477.04	0.0001
HAA_GK	1.11359447	0.02863523	126383.87950657	1512.35	0.0001
HAA_GB	0.97604834	0.05920967	22708.89938839	271.74	0.0001
HAA_HK	0.96866851	0.03516600	63407.86650608	758.76	0.0001
HAA_IK	1.00719703	0.03963358	53968.59389524	645.81	0.0001
HAA_JK	1.00943483	0.00428465	4638368.8829856	55504.3	0.0001
HAA_JB	1.01383320	0.00786161	1389789.7106065	16630.7	0.0001
HAA_JG	1.00255001	0.00092963	97192817.094975	1163042	0.0001
HAA_KK	0.91439034	0.05275633	25104.57527335	300.41	0.0001
HAA_KB	1.00036566	0.00263813	12016111.702403	143789	0.0001
HAA_KG	1.00519121	0.00818541	1260246.3699996	15080.5	0.0001

Bounds on condition number: 2.341881, 585.3563

-----

**Step21 Variable HAA\_FG Entered R-square = 0.99999691 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	21	1336944328.8493	63664015.659488	5107379	0.0001
Error	331	4125.94955562	12.46510440		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	-0.50432561	0.25192650	49.95399880	4.01	0.0461
HAA_AK	1.00060058	0.00149628	5574285.3432380	447191	0.0001
HAA_AB	1.03456216	0.00438604	693528.92738963	55637.6	0.0001
HAA_AG	1.04596883	0.02346821	24761.30849614	1986.45	0.0001
HAA_BB	1.00013359	0.00022072	255939548.20122	2.053E7	0.0001
HAA_CK	0.99751880	0.00161687	4744500.0806795	380623	0.0001
HAA_CB	1.01613509	0.00336811	1134558.2087376	91018.7	0.0001
HAA_DB	1.00013342	0.00027226	168203216.18683	1.349E7	0.0001
HAA_EK	0.99883701	0.00550383	410539.49557535	32935.1	0.0001
HAA_EB	0.99183395	0.01175412	88755.13419251	7120.29	0.0001
HAA_FK	1.14515760	0.02062858	38413.85279604	3081.71	0.0001
HAA_FG	1.02818543	0.02362070	23618.54756146	1894.77	0.0001
HAA_GK	0.99231893	0.01140488	94366.33874723	7570.44	0.0001
HAA_GB	0.99995084	0.02287423	23821.02183695	1911.02	0.0001
HAA_HK	0.97887194	0.01358364	64731.42877568	5193.01	0.0001
HAA_IK	1.01843687	0.01530924	55164.14442140	4425.49	0.0001
HAA_JK	1.00021987	0.00166828	4480737.8699190	359463	0.0001
HAA_JB	1.01409177	0.00303627	1390493.4128937	111551	0.0001
HAA_JG	1.00268671	0.00035905	97211885.913525	7798722	0.0001
HAA_KK	0.99289925	0.02045493	29370.42794705	2356.21	0.0001
HAA_KB	1.00216966	0.00101973	12039569.611347	965862	0.0001
HAA_KG	1.00238311	0.00316198	1252693.3233849	100496	0.0001

Bounds on condition number: 2.343177, 646.0306

-----

**Step22** Variable HAA\_HB Entered R-square = 0.99999859 C(p) = .

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	22	1336946570.8789	60770298.676315	1.064E7	0.0001
Error	330	1883.91987998	5.70884812		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	0.32258698	0.17552241	19.28310771	3.38	0.0670
HAA_AK	0.99989013	0.00101324	5559404.3190683	973822	0.0001
HAA_AB	0.99828377	0.00348736	467804.01908011	81943.7	0.0001
HAA_AG	1.02996392	0.01590256	23947.41033551	4194.79	0.0001
HAA_BB	0.99996828	0.00014960	255059406.82561	4.468E7	0.0001
HAA_CB	0.99856793	0.00109549	4743381.9461025	830882	0.0001
HAA_DB	1.01610085	0.00227936	1134481.1009482	198723	0.0001
HAA_EK	0.99988662	0.00018467	167355629.82773	2.932E7	0.0001
HAA_FB	0.99719824	0.00372562	408991.88365671	71641.8	0.0001
HAA_GB	0.99835583	0.00796137	89772.54324062	15725.2	0.0001
HAA_HC	0.97405837	0.01641442	20103.30726049	3521.43	0.0001
HAA_ID	1.01300149	0.01600359	22873.56461792	4006.69	0.0001
HAA_JE	0.99793645	0.00772342	95309.22106226	16695.0	0.0001
HAA_KF	1.02314633	0.01552425	24797.20854828	4343.64	0.0001
HAA_LG	1.01212256	0.00934455	66972.65240599	11731.4	0.0001
HAA_MH	0.99420556	0.05016834	2242.02967564	392.73	0.0001
HAA_NI	1.01099489	0.01036728	54289.56886092	9509.72	0.0001
HAA_OJ	1.00136794	0.00113049	4479235.9471755	784613	0.0001
HAA_PK	0.99981657	0.00217739	1203692.4232793	210847	0.0001
HAA_QL	1.00077164	0.00026150	83615678.393183	1.465E7	0.0001
HAA_RM	0.99813856	0.01384534	29670.38595898	5197.26	0.0001
HAA_SN	1.00146903	0.00069100	11991268.692968	2100471	0.0001
HAA_TQ	1.00101867	0.00214097	1247993.3163015	218607	0.0001

Bounds on condition number: 6.743936, 876.3647

-----

**Step23** Variable HAA\_IG Entered R-square = 0.99999980 C(p) = .

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	23	1336948193.9379	58128182.345125	7.331E7	0.0001
Error	329	260.86093543	0.79289038		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	0.16538715	0.06550534	5.05432683	6.37	0.0120
HAA_AK	0.99996989	0.00037762	5560170.1420540	7012533	0.0001
HAA_AB	0.99979240	0.00130008	468910.34418793	591394	0.0001
HAA_AG	1.01065922	0.00594185	22939.22607389	28931.1	0.0001
HAA_BB	0.99997495	0.00005575	255061026.10489	3.217E8	0.0001
HAA_CB	0.99973630	0.00040908	4735541.7842738	5972505	0.0001
HAA_DB	1.00132716	0.00091006	959893.83471653	1210626	0.0001
HAA_EC	0.99993093	0.00006883	167336580.62708	2.11E8	0.0001
HAA_FD	0.99901335	0.00138903	410139.72065285	517272	0.0001
HAA_GE	1.00138745	0.00296777	90272.53880031	113852	0.0001
HAA_HF	0.99660123	0.00613753	20905.89435638	26366.7	0.0001
HAA_ID	1.00465671	0.00596702	22476.77180029	28347.9	0.0001
HAA_JE	0.99931176	0.00287850	95561.44593939	120523	0.0001
HAA_KF	1.00636629	0.00579740	23892.32543603	30133.2	0.0001
HAA_LG	1.00683526	0.00348446	66200.20716728	83492.3	0.0001
HAA_MH	0.99456381	0.01869658	2243.64533985	2829.70	0.0001
HAA_NI	0.99841338	0.00387364	52673.88017111	66432.7	0.0001
HAA_OJ	1.05910543	0.02340877	1623.05894455	2047.02	0.0001
HAA_PK	0.99982843	0.00042268	4436534.1199701	5595394	0.0001
HAA_QL	1.00069207	0.00081169	1205116.1020471	1519903	0.0001
HAA_RM	1.00013228	0.00009847	81789067.860439	1.032E8	0.0001
HAA_SN	0.99465337	0.00516041	29456.98267109	37151.4	0.0001
HAA_TQ	0.99977407	0.00026023	11703044.134528	1.476E7	0.0001
HAA_UV	0.99938463	0.00079871	1241378.8268573	1565637	0.0001

Bounds on condition number: 6.743937, 953.1221

-----

**Step24** Variable HAA\_CG Entered R-square = 1.00000000 C(p) = .

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	24	1336948448.3318	55706185.347160	2.825E9	0.0001
Error	328	6.46697645	0.01971639		
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	0.16538715	0.06550534	5.05432683	6.37	0.0120
HAA_AK	0.99996989	0.00037762	5560170.1420540	7012533	0.0001
HAA_AB	0.99979240	0.00130008	468910.34418793	591394	0.0001
HAA_AG	1.01065922	0.00594185	22939.22607389	28931.1	0.0001
HAA_BB	0.99997495	0.00005575	255061026.10489	3.217E8	0.0001
HAA_CB	0.99973630	0.00040908	4735541.7842738	5972505	0.0001
HAA_DB	1.00132716	0.00091006	959893.83471653	1210626	0.0001
HAA_EC	0.99993093	0.00006883	167336580.62708	2.11E8	0.0001
HAA_FD	0.99901335	0.00138903	410139.72065285	517272	0.0001
HAA_GE	1.00138745	0.00296777	90272.53880031	113852	0.0001
HAA_HF	0.99660123	0.00613753	20905.89435638	26366.7	0.0001
HAA_ID	1.00465671	0.00596702	22476.77180029	28347.9	0.0001
HAA_JE	0.99931176	0.00287850	95561.44593939	120523	0.0001
HAA_KF	1.00636629	0.00579740	23892.32543603	30133.2	0.0001
HAA_LG	1.00683526	0.00348446	66200.20716728	83492.3	0.0001
HAA_MH	0.99456381	0.01869658	2243.64533985	2829.70	0.0001
HAA_NI	0.99841338	0.00387364	52673.88017111	66432.7	0.0001
HAA_OJ	1.05910543	0.02340877	1623.05894455	2047.02	0.0001
HAA_PK	0.99982843	0.00042268	4436534.1199701	5595394	0.0001
HAA_QL	1.00069207	0.00081169	1205116.1020471	1519903	0.0001
HAA_RM	1.00013228	0.00009847	81789067.860439	1.032E8	0.0001
HAA_SN	0.99465337	0.00516041	29456.98267109	37151.4	0.0001
HAA_TQ	0.99977407	0.00026023	11703044.134528	1.476E7	0.0001
HAA_UV	0.99938463	0.00079871	1241378.8268573	1565637	0.0001

Variable	Estimate	Error	Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	0.01479147	0.01041434	0.03977281	2.02	0.1565
HAA_AK	1.00000671	0.00005955	5560414.8211005	2.82E8	0.0001
HAA_AB	0.99994446	0.00020502	469032.98712208	2.379E7	0.0001
HAA_AG	0.99987856	0.00094177	22224.42622759	1127206	0.0001
HAA_BB	0.99999909	0.00000879	254924328.32248	1.29E10	0.0001
HAA_CK	0.99996447	0.00006454	4733114.4631417	2.401E8	0.0001
HAA_CB	0.99988041	0.00014407	949641.89457423	4.817E7	0.0001
HAA_CG	1.05396326	0.00927867	254.39395898	12902.7	0.0001
HAA_DB	0.99999922	0.00001087	166847582.56934	8.462E9	0.0001
HAA_EK	1.00014191	0.00021926	410222.86996566	2.081E7	0.0001
HAA_EB	0.99993541	0.00046817	89943.82466682	4561881	0.0001
HAA_FK	0.99995479	0.00096828	21027.26101475	1066486	0.0001
HAA_FG	1.00041528	0.00094169	22252.34648983	1128622	0.0001
HAA_GK	0.99999962	0.00045395	95676.01899842	4852613	0.0001
HAA_GB	0.99924784	0.00091634	23445.34863163	1189130	0.0001
HAA_HK	0.99963400	0.00055311	64399.31500056	3266283	0.0001
HAA_HB	0.99968817	0.00294863	2266.29445757	114945	0.0001
HAA_IK	1.00001077	0.00061100	52814.57121779	2678714	0.0001
HAA_IG	0.99757181	0.00373089	1409.58210840	71492.9	0.0001
HAA_JK	1.00000091	0.00006667	4435762.7693484	2.25E8	0.0001
HAA_JB	0.99990156	0.00012819	1199666.3584957	6.085E7	0.0001
HAA_JG	1.00002377	0.00001556	81463046.283624	4.132E9	0.0001
HAA_KK	1.00061564	0.00081544	29687.67033688	1505735	0.0001
HAA_KB	0.99999461	0.00004108	11682056.581753	5.925E8	0.0001
HAA_KG	1.00005012	0.00012609	1240348.8225376	6.291E7	0.0001

Bounds on condition number: 6.745516, 1024.278

-----

**Step25 Variable HAA\_EG Entered R-square = 1.00000000 C(p) = .**

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F	Prob>F
Regression	25	1336948454.7988	53477938.191952	.	.
Error	327	0.00000000	0.00000000	.	.
Total	352	1336948454.7988			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II Sum of Squares	F	Prob>F
INTERCEP	0.00000000	0.00000000	0.00000000	.	.
HAA_AK	1.00000000	0.00000000	5560125.3197555	.	.
HAA_AB	1.00000000	0.00000000	468980.15270799	.	.
HAA_AG	1.00000000	0.00000000	22228.69830899	.	.
HAA_BB	1.00000000	0.00000000	254916510.09171	.	.
HAA_CK	1.00000000	0.00000000	4729080.3632217	.	.
HAA_CB	1.00000000	0.00000000	947878.03024126	.	.
HAA_CG	1.00000000	0.00000000	207.60238568	.	.
HAA_DB	1.00000000	0.00000000	166845195.14024	.	.
HAA_EK	1.00000000	0.00000000	409583.36455005	.	.
HAA_EB	1.00000000	0.00000000	89950.22486969	.	.
HAA_EG	1.00000000	0.00000000	6.46697688	.	.
HAA_FK	1.00000000	0.00000000	21029.02280177	.	.
HAA_FG	1.00000000	0.00000000	22220.70070952	.	.
HAA_GK	1.00000000	0.00000000	95676.09206202	.	.
HAA_GB	1.00000000	0.00000000	23432.52398154	.	.
HAA_HK	1.00000000	0.00000000	64360.56293362	.	.
HAA_HB	1.00000000	0.00000000	2267.63119833	.	.
HAA_IK	1.00000000	0.00000000	52813.38345858	.	.
HAA_IG	1.00000000	0.00000000	1414.62571611	.	.
HAA_JK	1.00000000	0.00000000	4435752.1510708	.	.
HAA_JB	1.00000000	0.00000000	1197749.1183251	.	.
HAA_JG	1.00000000	0.00000000	80883536.480948	.	.
HAA_KK	1.00000000	0.00000000	29599.71188793	.	.
HAA_KB	1.00000000	0.00000000	11681570.285604	.	.
HAA_KG	1.00000000	0.00000000	1239627.4341120	.	.

Bounds on condition number: 6.745746, 1098.821

-----

No other variable met the 0.5000 significance level for entry into the model.

## Summary of Forward Selection Procedure for Dependent Variable HAA

Step	Variable Entered	Number In	Partial R**2	Model R**2	C(p)	F	Prob>F
1	HAA_BB	1	0.5790	0.5790	.	482.7662	0.0001
2	HAA_DB	2	0.2244	0.8034	.	399.5482	0.0001
3	HAA_JG	3	0.1574	0.9609	.	1404.0394	0.0001
4	HAA_KB	4	0.0102	0.9711	.	123.0956	0.0001
5	HAA_CK	5	0.0102	0.9813	.	189.9955	0.0001
6	HAA_AK	6	0.0061	0.9874	.	166.0398	0.0001
7	HAA_JB	7	0.0044	0.9917	.	181.4421	0.0001
8	HAA_JK	8	0.0039	0.9956	.	305.0492	0.0001
9	HAA_KG	9	0.0016	0.9972	.	188.6049	0.0001
10	HAA_CB	10	0.0012	0.9983	.	242.1956	0.0001
11	HAA_AB	11	0.0008	0.9991	.	317.1690	0.0001
12	HAA_EK	12	0.0004	0.9995	.	248.8328	0.0001
13	HAA_GK	13	0.0002	0.9997	.	176.4936	0.0001
14	HAA_HK	14	0.0001	0.9998	.	132.1406	0.0001
15	HAA_EB	15	0.0001	0.9998	.	133.9343	0.0001
16	HAA_IK	16	0.0000	0.9999	.	137.2628	0.0001
17	HAA_FK	17	0.0000	0.9999	.	174.1938	0.0001
18	HAA_KK	18	0.0000	0.9999	.	135.2384	0.0001
19	HAA_AG	19	0.0000	1.0000	.	158.7535	0.0001
20	HAA_GB	20	0.0000	1.0000	.	271.7423	0.0001
21	HAA_FG	21	0.0000	1.0000	.	1894.7733	0.0001
22	HAA_HB	22	0.0000	1.0000	.	392.7289	0.0001
23	HAA_IG	23	0.0000	1.0000	.	2047.0156	0.0001
24	HAA_CG	24	0.0000	1.0000	.	12902.6631	0.0001
25	HAA_EG	25	0.0000	1.0000	.	.	.

## 6 Bericht über den Work Workshop "Food Preparation Methods and Cancer Risks" am 18. und 19. November 1999 im Deutschen Krebsforschungszentrum Heidelberg

### Ziele

Mit dem Arbeitstreffen sollten die folgenden Zielsetzungen verfolgt werden:

1. Es sollte den Teilnehmern ein Überblick über den derzeitigen Stand des Wissens vermittelt werden;
2. Es sollte diskutiert werden, in welchem Umfang die Aufnahme zubereitungsbedingt entstandener heterozyklischer aromatischer Amine (HAA) mit der Nahrung durch Fragebögen erfaßt und quantifiziert werden kann;
3. Es sollte festgestellt werden, ob analytische Verfahren zur Verfügung stehen, um beispielsweise auf der Grundlage asservierter Blutproben HAA-spezifische DNA-Addukte zu quantifizieren und mit Krebsrisiken in Verbindung zu bringen;
4. Es sollte schließlich erörtert werden, in wieweit die Rolle der Nahrungsmittelzubereitung bei der Krebsentstehung im Rahmen des europäischen Vorhabens European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) bearbeitet werden kann.

Der Verlauf der Veranstaltung zeigte, dass das Treffen für die künftige Arbeit notwendig war und genau zum richtigen Zeitpunkt erfolgte. Wie im Folgenden zu erläutern sein wird, führten die Diskussionen zu der Schlußfolgerung, dass die Fokussierung auf eine Exposition gegenüber HAA zu eng ist, künftige Arbeiten unter einer erweiterten Fragestellung durchzuführen sind, und dass die Erhebungsinstrumente dementsprechend modifiziert werden müssen.

### Stand des Wissens

Zur Berichterstattung über den Stand des Wissens waren von den Organisatoren vier international namhafte Experten eingeladen worden.

Frau Dr. Rashmi Sinha (NCI, Bethesda) berichtete sowohl von Ergebnissen jüngst durchgeführter epidemiologischer Studien als auch von kontrollierten Ernährungsversuchen.

Verschiedene lokalisationsbezogene Fall-Kontroll-Studien zeigten zwar Zusammenhänge zwischen einem erhöhten Krebsrisiko und der Exposition gegenüber verschiedenen HAAs, doch ergaben sich lokalisationspezifische Unterschiede: So konnte bei einer Fall-Kontroll-Studie zur Ätiologie von Brustkrebs nur ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten Exposition gegenüber PhIP und dem nachfolgenden Krebsrisiko beobachtet werden, während in einer Studie zu Lungenkrebs lediglich eine Assoziation zwischen MeIQx und dem Lungenkrebsrisiko identifiziert werden konnte. Bei einer Darmkrebsstudie zeigten sich wiederum für die beide genannten HAAs erhöhte Risiken. Die Referentin wies darauf hin, dass diese Ergebnisse übereinstimmten mit den Resultaten aus Tierexperimenten.

Die kontrollierten Ernährungsversuche waren unternommen worden, um analytische Zugänge auf der Grundlage gesammelten biologischen Materials zu erproben. Sie ergaben u.a., dass im Urin gemessene Konzentrationen von HAAs für die epidemiologischen Fragestellungen wenig geeignet sind, weil sie infolge kurzer Halbwertszeiten (etwa 12 Stunden) im wesentlichen aktuelle Expositionszustände erfassen, während für die Epidemiologie Indikatoren für längerfristiges Ernährungs- bzw. Expositionsverhalten erforderlich sind. Versuche, in den ebenfalls asservierten Blutproben DNA-Addukte in den Lymphozyten zu quantifizieren und mit der HAA-Exposition in Verbindung zu bringen, schlugen fehl. Entweder besteht ein solcher Zusammenhang nicht oder die verwendete <sup>32</sup>P Postlabelling-Methode ist zu unsensitiv, um einen eventuell bestehenden Zusammenhang nachweisen zu können. Von daher besteht großes Interesse an neuartigen Methoden mit höherer Sensitivität.

Dr. Gunnar Steineck (Karolinska Institut, Stockholm) präsentierte Details seiner vor einigen Monaten in *Lancet* erschienen Ergebnisse aus einer epidemiologischen Fall-Kontroll-Studie zu Fleischzubereitungsme-

thoden und Darmkrebsrisiko. Aus dieser Gruppe waren vor einigen Jahren die ersten soliden epidemiologischen Hinweise auf einen möglichen Zusammenhang zwischen HAA-Expositionen und kolorektalen Tumoren gekommen. Die neuesten Ergebnisse führten nun zu einer substantiellen Relativierung der früheren Befunde, weil auf der Grundlage verfeinerter Expositionsabschätzungen keine konsistenten Zusammenhänge zwischen HAA-Expositionen und Darmkrebsrisiko mehr nachgewiesen werden konnten. Die Exposition war quantifiziert worden durch genaue Ernährungserhebungen mittels Fragebögen, in denen der Bräunungs- und interne Garungsgrad der konsumierten Fleisch- und Wurstwaren mit Hilfe von farbigen Abbildungen objektiviert worden war, wobei der HAA-Gehalt genau der auf den Abbildungen gezeigten Fleischstücke analytisch quantifiziert worden war. Dr. Steineck führte das inkonsistente Ergebnis darauf zurück, dass die Aufnahme von HAAs mit der Nahrung doch recht gering sei. Die zu der Thematik durchgeführten Tierexperimente seien häufig mit bis zu millionenfach höheren HAA-Dosen durchgeführt worden. Sowohl seine eigenen Arbeiten als auch eine Fülle publizierter Studien zeigen allerdings konsistent einen allgemeinen Zusammenhang zwischen einem hohen Fleischkonsum und einem erhöhten Darmkrebsrisiko, aufgrund welcher biologischer Mechanismen auch immer.

Einen Zusammenhang zwischen Fleischkonsum und kolorektalen Tumoren bestätigte auch Dr. Pieter van't Veer (Universität Wageningen). In einer von seiner Arbeitsgruppe durchgeführten Untersuchung wurde für Personen mit einem höheren Fleischkonsum ein erhöhtes Risiko für sporadisch auftretende Adenome gefunden. In dieser Studie wurde weiterhin ein erhöhtes Risiko der genannten Tumore für jene Personen entdeckt, die täglich rotes Fleisch essen im Vergleich mit jenen, die weniger als viermal pro Woche rotes Fleisch essen.

Die Diskussion dieser Beiträge tendierte zu der Interpretation, dass diese Assoziation einen hohen Wahrscheinlichkeitsgrad besitzt, während die Einengung der Erklärungsversuche auf eine Exposition gegenüber HAA offenbar unangemessen ist. Eine Konsequenz daraus wäre, künftige Untersuchungen im Hinblick auf ein besseres Verständnis der Fleischproblematik auf der Grundlage breit angelegter Erhebungen zu den Zubereitungsmethoden durchzuführen. Selbst die Assoziation zwischen Fleischkonsum und Darmkrebsrisiko wurde von einzelnen Teilnehmern jedoch als nicht ganz konsistent angesehen. Es wurde darauf hingewiesen, dass mehrere europäische Studien vorlägen, die einen solchen Zusammenhang nicht identifizieren konnten. Daran anknüpfend stellte sich die ganz grundlegende Frage nach einem möglichen prinzipiellen Unterschied der Expositionssituation in den USA und Europa. Der diesbezüglichen Auswertung der Daten von EPIC kommt aus diesen Gründen eine besondere Bedeutung zu.

### **Erhebung von Zubereitungsmethoden durch Fragebögen**

Ein weiterer Schwerpunkt der Veranstaltung war die Frage, mit welchen Fragebogeninstrumenten eine zubereitungsbedingte Aufnahme von HAAs quantifiziert werden kann. Ein einleitender Vortrag (Dr. Gisela Klein, Universität Mainz) stellte eine Methode zur datengeleiteten Entwicklung eines Kurzfragebogens vor.

Darauf aufbauend führte Sabine Rohrmann (DKFZ Heidelberg) einen am DKFZ entwickelten Kurzfragebogen ein, der spezifisch für Nahrungsmittelzubereitungsmethoden mit Schwerpunkt auf der Quantifizierung der HAA-Aufnahme erstellt wurde. Die Überlegung, für die vorliegende Fragestellung auch das Instrument eines Kurzfragebogens ins Auge zu fassen, besteht darin, dass häufig in epidemiologischen Studien umfangreiche Ernährungserhebungen vorgenommen werden, die zwar die Nahrungsmittelaufnahme quantifizieren, aber die Zubereitungsmethoden entweder außer Acht lassen oder nur sehr ungenau erheben. In einer derartigen Konstellation ist vorstellbar, eine Nacherhebung der Zubereitungsmethoden mit Hilfe eines Kurzfragebogens nachzuschieben, wobei man sich bei der Quantifizierung der aufgenommenen Schadstoffe auf die Mengenangaben im allgemeinen Fragebogen stützt.

Grundsätzlich wurde Übereinstimmung erzielt, dass man auch weiterhin nicht darum herumkommt, eine zubereitungsbedingte Schadstoffaufnahme mit Hilfe von Fragebögen zu identifizieren und zu quantifizieren. Analytische Methoden stehen zur Zeit und auch in absehbarer Zukunft noch nicht zur Verfügung, um zu äquivalenten Aussagen zu gelangen. Aufgrund der oben erläuterten Bilanz, dass es zu wenig Evi-



denz für eine maßgebliche Beteiligung von HAAs bei der Entstehung von Darm- und anderen Krebsarten gibt, ergab sich die Schlußfolgerung, dass eine Fokussierung künftig einzusetzender Fragebögen auf die Quantifizierung der HAA-Aufnahme nicht mehr erfolgen soll. Es ergab sich ein Konsens, dass ein Fragebogen zu entwickeln ist, der unabhängig von Spekulationen über die Rolle spezifischer Schadstoffe (a) die Zubereitungsmethoden möglichst breit erfassen und (b) im Hinblick auch auf eine solitäre Anwendung eine eigenständige quantitative Mengenerfassung beinhalten soll.

### **Verfahren zum Nachweis von DNA-Addukten**

Zunehmend werden in epidemiologischen Studien Proben biologischen Materiales der Studienteilnehmer asserviert. Grund ist die Erwartung, dass in absehbarer Zeit biologische Marker entdeckt und analytische Verfahren entwickelt werden, die eine objektivierbare und präzisere Bearbeitung bestimmter epidemiologischer Fragestellungen ermöglichen als es auf der Grundlage von mit Fragebögen erhobenen Daten möglich ist. Im vorliegenden Zusammenhang sind als Indikatoren für eine Exposition gegenüber zubereitungsbedingt entstandenen HAAs DNA-Addukte im Gespräch. Als Standardverfahren ist die  $^{32}\text{P}$  Postlabelling-Methode bekannt, die bereits versuchsweise angewandt wurde, jedoch zu negativen Resultaten geführt hatte (s.o.) Ein Anstoß für das Arbeitstreffen war der Umstand, dass seit einigen Jahren am DKFZ ein neues Verfahren zum Nachweis von DNA-Addukten entwickelt wird, das den aus der epidemiologischen Praxis resultierenden Anforderungen eher gerecht zu werden verspricht als konventionelle Verfahren.

Dr. Oliver Schmitz (DKFZ Heidelberg) gab einen Überblick über das Prinzip der neuen Methode sowie den Stand ihrer Entwicklung. Das Verfahren besteht darin, dass zunächst fluoreszenz-markierte DNA-Addukte synthetisiert werden, diese mit Hilfe der Kapillar-Gelelektrophorese separiert und schließlich mit Hilfe laserinduzierter Fluoreszenz detektiert werden. Die prinzipielle Tauglichkeit des Verfahrens konnte bereits gezeigt und erste Patente angemeldet werden. Unbefriedigend ist derzeit noch die Sensitivität, die sich erst in der Größenordnung der  $^{32}\text{P}$  Postlabelling-Methode bewegt, d.h. noch weit unterhalb der theoretisch erreichbaren Werte. Die Arbeit der nächsten Monate wird sich darauf konzentrieren hier Verbesserungen zu erzielen.

In der Diskussion wurde Übereinstimmung darüber erzielt, dass das Verfahren für die vorliegende Fragestellung von großer Bedeutung ist. Sobald eine Erhöhung der Sensitivität erreicht ist, soll das biologische Material von Dr. Sinha verwendet werden, um die Methode an standardisiertem Material mit dem  $^{32}\text{P}$  Postlabelling zu vergleichen.

In diesem Zusammenhang entwickelten sich jedoch auch einige grundsätzliche Fragen bezüglich dessen, was mit DNA-Addukten als Markern überhaupt gemessen wird. Will man DNA-Addukte als Indikatoren für interne Expositionen gegenüber bestimmten Schadstoffen verwenden, bieten sich zunächst in erster Linie Hämoglobin-Addukte an, weil hier keine Verzerrung der Ergebnisse durch DNA-Repair auftritt. Diese Addukte repräsentieren Expositionen während der durchschnittlichen Lebenszeit der Erythrozyten. Unglücklicherweise ist jedoch gerade für HAA-spezifische Addukte die Sensitivität der verfügbaren Methoden zu gering. Beim Nachweis von DNA-Addukten in Lymphozyten misst man demgegenüber die Schadensbilanz, die sich aus der Intensität der Exposition und der Fähigkeit des biologischen Systems, die entstandenen Schäden zu reparieren, ergibt. Diese Größe sagt etwas anderes aus, dürfte jedoch ebenfalls von großer Bedeutung sein, weil sie die für mögliche Mutationen relevanten Schädigungen quantifiziert. Eine ganz grundsätzliche Frage ist, wie eng DNA-Addukte in Blutkomponenten (Hämoglobin oder Lymphozyten) korreliert sind mit der Exposition der Epithelzellen des Darmes, die die eigentlichen Zielzellen im Hinblick auf die Darmkrebsentstehung sind. In der Diskussion wurde angemerkt, dass eine derartige Korrelation besteht, doch gab die verfügbare Datenlage Anlass zu dem Vorschlag, diesbezüglich weiterführende eigene Untersuchungen vorzunehmen.

### **Beitrag der European Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)**

EPIC ist eine epidemiologische Langzeitstudie zu Ernährung und Krebs, die Anfang bzw. Mitte der neunziger Jahre in sieben westeuropäischen Ländern begonnen und mittlerweile auf zehn Länder ausgeweitet wurde. Ihr Ziel ist es, durch eine umfassende Erhebung der Ernährungsweise von Personen in

Ländern mit recht unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten und die Entnahme und Asservierung von Blutproben sowie die langfristige Beobachtung der Studienteilnehmer neue Erkenntnisse über den Zusammenhang von Ernährung und Krebs zu gewinnen bzw. zur Klärung bisher widersprüchlicher Befunde beizutragen. Die Rekrutierungsphase wurde Ende 1998 abgeschlossen. Europaweit umfasst die Kohorte 474 610 Personen, unter denen von 376 000 Teilnehmern Blutproben verfügbar sind. Als deutscher Beitrag wurden in Heidelberg und Potsdam Kohorten im Umfang von jeweils etwa 25 000 Personen rekrutiert. Diese gesamte Kohorte soll nun über die nächsten Jahrzehnte, mindestens jedoch bis zum Jahr 2015, weiter beobachtet, routinemäßig die inzidenten Krebsfälle identifiziert und regelmäßig im Sinne von eingebetteten Fall-Kontroll-Studien ausgewertet werden. Hochrechnungen ergaben, dass bereits nach fünf Jahren Follow-up mit etwa 7 600 inzidenten Krebsfällen zu rechnen ist, und nach zwanzig Jahren mit etwa 40 000 Fällen. EPIC ist damit das weltweit größte jemals durchgeführte epidemiologische Projekt zum Thema Ernährung und Krebs.

Zur Erfassung der Ernährung wurde in Deutschland ein Fragebogen eingesetzt, der nach Häufigkeit und Menge des Verzehrs von 148 Lebensmitteln fragt. In diesem Fragebogen wurde auf die Frage nach der Zubereitung von Lebensmitteln verzichtet. In einer Stichprobe von 10% der Gesamtkohorte wurde im Rahmen der sogenannten Kalibrierungsstudie von den Teilnehmern ein 24-Stunden-Erinnerungsprotokoll erhoben. Dieses Kalibrierungsinstrument ist für alle Zentren der Studie einheitlich und erfasst im Gegensatz zum Fragebogen auch die Zubereitungsmethoden einiger Lebensmittelgruppen wie Fleisch und Fisch.

Angesichts des Umfanges der nach einem gemeinsamen Studienprotokoll ausgearbeiteten Ernährungserhebungen war bei der Studienanlage darauf verzichtet worden, Daten zu den Zubereitungsmethoden der Nahrungsmittel von allen Teilnehmern zu erheben. Lediglich in einem teilnehmenden Land (Großbritannien) wurden auf eigene Initiative einige wenige Fragen dieser Art in den Fragebogen aufgenommen. Gleichwohl liegt es nahe bzw. ist zu fordern, dass im Rahmen eines Projektes dieser einmaligen Größe auch Beiträge zu der nicht unwichtigen Frage zu möglichen Krebsrisiken infolge bestimmter Nahrungsmittel-zubereitungsmethoden entstehen sollten.

Auswertungen auf der Grundlage des biologischen Materials mit Hilfe analytischer Methoden sind natürlich ohne weiteres möglich und bedürfen keiner prinzipiellen Erörterung.

Eine grundsätzliche Frage sowohl an die versammelten Experten als auch an die an EPIC beteiligten Teilnehmer des Arbeitstreffens war jedoch, ob es sinnvoll bzw. gegebenenfalls noch machbar erscheint, mit Hilfe von Fragebögen zu ermittelnde Informationen, beispielsweise im Rahmen des Follow-up der Studienteilnehmer, nachzuerheben.

Die Diskussion ergab, dass (a) ein Konsens bestand, den Versuch einer Nacherhebung mit Hilfe eines zu entwickelnden erweiterten Kurzfragebogens (s.o.) zu unternehmen, und (b) eine solche Nacherhebung zumindest in einer relevanten Untergruppe der Gesamtkohorte möglich sein sollte. Eine solche Nacherhebung wird auf jeden Fall in der deutschen Teilkohorte vorgenommen werden.

Hinsichtlich der konkreten Vorgehensweise wurden die folgenden Empfehlungen ausgesprochen: Es sollte zunächst ein erweiterter Kurzfragebogen entwickelt werden, der nicht auf bestimmte als relevant vermutete bei der Zubereitung entstehende Schadstoffe fokussiert ist, sondern breit die Zubereitungsmethoden erfasst. Verzehrsmengenangaben sind in den Fragebogen aufzunehmen, und landesspezifische Besonderheiten bei den Zubereitungsverfahren zu berücksichtigen. Die Entwicklung des Kurzfragebogens könnte gestützt werden auf die Daten zu Nahrungsmittelzubereitungsmethoden der Kalibrierungsstudie. Die entstandenen länderspezifischen Kurzfragebögen sollten dann in kleinen Pilotprojekten von den jeweiligen EPIC-Zentren getestet werden. Nach Abschluss dieser Arbeiten sollte (eventuell im Rahmen eines weiteren Treffens) eine Bestandsaufnahme durchgeführt und entschieden werden, in welcher Weise und mit welcher Finanzierung an dieses Instrument in EPIC eingesetzt werden soll.

### Zusammenfassung

Das Arbeitstreffen führte zu den folgenden Ergebnissen:

1. Es herrscht Übereinstimmung darüber, dass mit großer Wahrscheinlichkeit ein Zusammenhang zwischen einem hohen Konsum an "rotem Fleisch" und einem erhöhten Darmkrebsrisiko besteht, wobei aufgrund vorliegender Inkonsistenzen in den Daten der Zusammenhang noch nicht als gesichert anzusehen ist, und ein möglicher biologischer Mechanismus nach den neuesten Ergebnissen zu der Rolle von HAAs wieder völlig offen ist.
2. Ein erhöhtes Darmkrebsrisiko infolge der Exposition gegenüber bei der Fleischzubereitung entstehenden HAAs konnte in epidemiologischen Studien bisher nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden; wenn ein solches Risiko dennoch bestehen sollte, scheint es zumindest nicht sehr hoch zu sein.
3. Die vorgestellten analytischen Verfahren zu DNA-Addukt-Nachweisen werden als aussichtsreich angesehen, und ihre Anwendung nach Abschluss der derzeit laufenden Entwicklungsarbeiten zunächst in Testprojekten und später in EPIC befürwortet.
4. Auf der Grundlage der Daten der EPIC-Kalibrierungsstudie sollen länderspezifische erweiterte Kurzfragebögen zur breiten Erfassung der Nahrungsmittelzubereitungsmethoden entwickelt und in kleinen Pilotprojekten erprobt werden.
5. Nach Vorliegen dieses Fragebogeninstrumentes soll in einem weiteren Treffen beschlossen werden, in welchem Umfang und auf welchem Wege eine Nacherhebung zum Thema Zubereitungsmethoden in EPIC erfolgen soll.
6. Die Federführung für die skizzierten Arbeiten wurde der Abteilung Klinische Epidemiologie des DKFZ übertragen.

## **DANKSAGUNG**

Während der Arbeit an meiner Doktorarbeit haben mich viele Personen unterstützt, denen ich an dieser Stelle danken möchte:

Herrn PD Dr. Nikolaus Becker für die Stellung des Themas und die Betreuung dieser Arbeit.

Frau Prof. Dr. Monika Neuhäuser-Berthold für die hilfreichen kritischen Anmerkungen und ihre gutachterliche Tätigkeit.

Dr. Gunnar Steineck und Dr. Katarina Augustsson für die Überlassung der Fotos, die im Fragebogen verwendet wurden und ohne die der Fragebogen nicht so schnell einsetzbar gewesen wäre.

Allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern von EPIC Heidelberg, die die Fragebögen ausgefüllt haben und ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Ulrike Bussas, Silke Kropp, Annika Leopold und Dorothee Twardella für ihre Bereitschaft über Fragen und Probleme zu diskutieren und ihre wertvollen Anregungen.

Ursel Eilber und Kati Smit für ihre geduldige Unterstützung bei SAS-Problemen.

Ellen Rohrmann, Kerstin und Holger Weinhold, Claudia Lehmann, Markus Rodej und Ulrike Kobs für ihre Freundschaft und Unterstützung.

Meinem Freund Oliver Gramberg für alles, was er für mich getan hat.

Meinen Eltern, Rosemarie und Gerhard Rohrmann, die mich unterstützt und sich mit mir gefreut haben.