

Justus-Liebig-Universität Gießen

Einfluss von Pasteurisation, Trocknung und Lagerung auf die Carotinoidgehalte von sprüh- und gefriergetrocknetem Eigelbpulver

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Ökotrophologie
(Dr. oec. troph.)

am Fachbereich 09
„Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und Umweltmanagement“
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von
Dipl. oec. troph. Michael Wenzel

Tag der mündlichen Prüfung:	06. Juli 2010
1. Gutachter:	Prof. Dr.-Ing. Elmar Schlich
2. Gutachter:	Prof. Dr. Uwe Wenzel
Prüfer:	Prof. Dr. Holger Zorn
Prüfer:	PD Dr. Ralf Pätzold
Vorsitzender:	Prof. Dr. Steffen Hoy

Kurzfassung

In der vorliegenden Studie erfolgt unter Nutzung der Flüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LCMS)-Analytik eine qualitative und quantitative Bestimmung von Xanthophyllen in nativem, pasteurisiertem und gefrier- bzw. sprühgetrocknetem Eigelb zweier Eier-Chargen eines Eiproduzenten. Die Eigelbpulver jeder Charge werden im Dunklen bei -18 °C und +20 °C für bis zu 6 Monate gelagert.

Die Xanthophylle werden mittels einer zu validierenden Extraktionsmethode aus der Eigelb-Matrix gewonnen, die Analyse der Farbstoffe erfolgt mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) unter Verwendung einer C30-Säule und unter Kopplung an einen Photodiodenarray- und Massendetektor.

Als quantitativ dominierende Xanthophylle stellen sich *all-E*-Canthaxanthin, *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, *9-Z*-Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester heraus. Die Pasteurisation von Eigelb führt mit den gewählten Pasteurisationsparametern zu keinen signifikanten Veränderungen der Xanthophyllgehalte. Im Gegensatz dazu verursacht das Trocknen von Eigelb auf Trockenmassegehalte von 98 % bis 99 % signifikant erhöhte Xanthophyllgehalte, was vermutlich auf eine Denaturierung der Bindungsproteine und eine Destabilisierung der Zellmatrix zurückgeführt werden kann.

Während der 6-monatigen Lagerung nehmen die Gehalte der meisten Xanthophylle im Eigelbpulver signifikant ab. Die synthetischen Xanthophylle Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester zeigen dabei eine deutlich höhere Retentionsrate als die natürlichen Xanthophylle Lutein und Zeaxanthin. Die größten Verluste sind allgemein während der ersten 8 Wochen der Lagerung zu verzeichnen. Des Weiteren zeigen statistische Untersuchungen (einseitige Varianzanalysen, ANOVA), dass sich nach 26 Wochen die Xanthophyllgehalte von bei -18 °C und +20 °C im Dunklen gelagertem Eigelbpulver tendenziell nur unwesentlich voneinander unterscheiden.

Abstract

A liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [LC-(APCI)MS] method is developed to identify and quantify the xanthophylls present in fresh, pasteurized, freeze- and spray-dried egg yolk in two independent batches. The egg yolk powders in each batch are stored in the dark for six months at -18 °C or +20 °C.

Xanthophylls are isolated by solvent extraction without saponification and analyzed by HPLC using a C₃₀ column coupled to a photodiode array and mass detector.

The most abundant xanthophylls are *all-E*-canthaxanthin, *all-E*-lutein, *all-E*-zeaxanthin, *9-Z*-canthaxanthin, and β -apo-8'-carotenoic acid ethyl ester. Pasteurization of the egg yolk causes no critical changes on the xanthophyll content. On the contrary, drying to a dry matter of 98 to 99 % leads to increased xanthophyll contents, induced by a denaturation of binding proteins, and a destabilization of the cell matrix.

During the six months of storage, the contents of all main xanthophylls in the egg yolk powder decrease significantly. The synthetic xanthophylls canthaxanthin and β -apo-8'-carotenoic acid ethyl ester show a higher retention rate, and the greatest losses occur within the first eight weeks. Statistical tests (ANOVA) also prove that after 26 weeks the egg yolk powders stored at -18 °C show only a slightly higher retention of xanthophylls when compared to the powders stored at +20 °C.

Based on the outcome of this study, the retention of total xanthophyll content during six months of lightless storage depends mostly on the distribution of natural and synthetic pigments in the egg yolk and on storage temperature only to a lesser degree.

Furthermore, knowledge about xanthophyll concentrations in dried egg yolks at all stages of storage will help to support estimations of the intake of xanthophylls from foods partly or completely made of processed egg yolk.

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	III	
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VII	
TABELLENVERZEICHNIS	X	
VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN, FORMELZEICHEN UND EINHEITEN	XIV	
1	Einleitung	1
2	Stand des Wissens und der Technik	3
2.1	Hühnereier	3
2.1.1	Aufbau des Hühnereies	3
2.1.2	Klassifizierung von Hühnereiern nach Qualität und Gewicht	5
2.1.3	Inhaltsstoffe des Hühnereies	5
2.1.4	Legehennenhaltung	7
2.1.4.1	Arten der Legehennenhaltung in Deutschland	7
2.1.4.2	Kennzeichnung von Konsumeiern	9
2.1.4.3	Einflussfaktoren auf Distribution und Quantität der Carotinoide im Eigelb	10
2.1.4.4	In der EU für die Fütterung von Legehennen zugelassene Carotinoide	13
2.1.5	Eiererzeugung und Eierkonsum in Deutschland	14
2.2	Eiprodukte	15
2.2.1	Vollei	17
2.2.2	Eigelb	17
2.2.3	Eiklar	18
2.2.4	Isolate aus Eigelb und Eiklar	19
2.2.5	Eischalen	20
2.3	Carotinoide	20
2.3.1	Wirkungen	21

2.3.2	Stoffeigenschaften	24
2.3.2.1	Stabilität	24
2.3.2.2	Chemische Eigenschaften und Nachweis	25
2.3.3	Carotinoidgehalte ausgewählter Lebensmittel	30
2.4	Pasteurisation	31
2.4.1	Pasteurisation von Flüssigei und deren Wirkungen	31
2.4.2	Alternative Formen der Haltbarmachung	33
2.5	Trocknungsverfahren	39
2.5.1	Grundlagen der Sprühtrocknung	42
2.5.2	Grundlagen der Gefriertrocknung	43
2.6	Zielsetzung & Erwartungen	44
3	Material und Methoden	47
3.1	Auswahl der Eier und deren Homogenisation	47
3.2	Bestimmung der Trockenmasse nach § 64 LFGB	47
3.3	Pasteurisation von Flüssigeigelb	48
3.4	Sprüh- und Gefriertrocknung	49
3.4.1	Sprühtrocknung	49
3.4.2	Gefriertrocknung	49
3.5	Lagerung	50
3.5.1	Einvakuumieren der Eigelbpulver	50
3.5.2	Lagerung der Eigelbpulver	51
3.5.3	Probenahme der Eigelbpulver im Rahmen der Lagerversuche	51
3.6	LCMS-Analytik	51
3.6.1	Stamm- und Standardlösungen	51
3.6.2	Probenaufarbeitung	53
3.6.2.1	Extraktion der Xanthophylle aus dem Probenmaterial	53

3.6.2.2	Validierung der Extraktion – Bestimmung der Wiederfindung	57
3.6.3	LCMS-System	58
3.6.4	Eluenten	59
3.6.5	Chromatographische Bedingungen	59
3.7	Statistische Auswertung	60
4	Ergebnisse	61
4.1	Qualitative Bestimmung der Xanthophylle	61
4.1.1	Standardlösungen	61
4.1.2	Eigelbproben	64
4.2	Quantitative Bestimmung der Xanthophylle	65
4.2.1	Bestimmung der Trockenmasse nach § 64 LFGB	65
4.2.2	Validierung der Extraktion – Bestimmung der Wiederfindung	66
4.2.3	Absolute Xanthophyllgehalte	67
4.2.4	Pasteurisation	70
4.2.5	Trocknung	71
4.2.5.1	Sprühtrocknung	71
4.2.5.2	Gefriertrocknung	71
4.2.6	Lagerung	73
4.2.6.1	Lagerung der sprühgetrockneten Eigelbe	73
4.2.6.2	Lagerung der gefriergetrockneten Eigelbe	78
5	Diskussion	83
5.1	Qualitative Bestimmung der Xanthophylle	83
5.2	Quantitative Bestimmung der Xanthophylle	85
5.2.1	Trockenmassen	85
5.2.2	Bestimmung der Wiederfindung von freien Xanthophyllen	86
5.2.3	Xanthophyllgehalte in nativem Flüssigeigelb	86

5.2.4	Xanthophyllgehalte in pasteurisiertem Flüssigeigelb	88
5.2.5	Xanthophyllgehalte in sprühgetrocknetem Flüssigeigelb	90
5.2.6	Xanthophyllgehalte in gefriergetrocknetem Flüssigeigelb	95
5.2.7	Entwicklung der Xanthophyllgehalte während 6-monatiger Lagerung von sprühgetrocknetem Eigelb	100
5.2.8	Entwicklung der Xanthophyllgehalte während 6-monatiger Lagerung von gefriergetrocknetem Eigelb	104
5.2.9	Vergleich der Ergebnisse aus den Lagerungsversuchen von sprüh- und gefriergetrocknetem Eigelb unter Einbezug von Literaturwerten	108
5.3	Empfehlungen für spätere Studien	112
6	Zusammenfassung	114
7	Literatur	116

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 2-1:	Schematischer Aufbau eines Hühnereies (modifiziert nach FREDE 2006)	3
Abb. 2-2:	Haltungsplätze von Legehennen in Deutschland nach Haltungsform (nach STABU 2008 und STABU 2009)	9
Abb. 2-3:	Stempelschema zur Kennzeichnung von Konsumeiern in der EU	10
Abb. 2-4:	Entwicklung des deutschen Eiermarktes in den Jahren 1992-2007 (modifiziert nach LEL 2009)	15
Abb. 2-5:	Überblick Eiprodukte (modifiziert nach vTI 2008)	16
Abb. 2-6:	Strukturformeln der zur Fütterung von Legehennen zugelassenen Xanthophylle	23
Abb. 2-7:	Strukturformeln der am häufigsten in der Natur vorkommenden geometrischen Isomere von Lutein	27
Abb. 2-8:	Absorptionsspektren von <i>all-E</i> -Lutein und <i>13-Z</i> -Lutein	29
Abb. 2-9:	Verlauf der Trocknung bei kapillar-porösem Festgut: Feuchtebelastung des Guts in Abhängigkeit von der Zeit (modifiziert nach SATTLER 2001)	41
Abb. 2-10:	Trocknungsgeschwindigkeit als Funktion der Zeit (GEHRMANN 2009)	41
Abb. 3-1:	Fließschema über die Probenahme der Eigelbpulver-Proben	52
Abb. 3-2:	Farbloser Bodensatz nach dem Zentrifugieren	54
Abb. 3-3:	Fließschema der Probenextraktion	54
Abb. 3-4:	Fließschema der alternativen Probenextraktion ohne Ultraschall- behandlung	55
Abb. 3-5:	Fließschema der alternativen Probenextraktion mit unpolarerem Lösungsmittelgemisch	56
Abb. 4-1:	Kalibriergerade, Gleichung und Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade von Lutein	62
Abb. 4-2:	Kalibriergerade, Gleichung und Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade von Zeaxanthin	62
Abb. 4-3:	Kalibriergerade, Gleichung und Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade von Canthaxanthin	62
Abb. 4-4:	Kalibriergerade, Gleichung und Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade von β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	63

-
- Abb. 4-5: Beispielchromatogramm einer Lutein-Standardlösung mit den Substanzen *all-E*-Lutein (1) und *13-Z*-Lutein (3). Die Detektion erfolgt bei 450 nm. 63
- Abb. 4-6: Beispielchromatogramm einer Zeaxanthin-Standardlösung mit den Substanzen *all-E*-Zeaxanthin (2) und *13-Z*-Zeaxanthin (4). Die Detektion erfolgt bei 450 nm. 63
- Abb. 4-7: Beispielchromatogramm einer Canthaxanthin-Standardlösung mit den Substanzen *9-Z*-Canthaxanthin (5) und *all-E*-Canthaxanthin (6). Die Detektion erfolgt bei 450 nm. 64
- Abb. 4-8: Beispielchromatogramm einer β -Apo-8'-Carotinsäureethylester-Standardlösung mit der Substanz β -Apo-8'-Carotinsäureethylester (8). Die Detektion erfolgt bei 450 nm. 64
- Abb. 4-9: Beispielchromatogramm eines pasteurisierten, sprühgetrockneten Eigelbes. Die Peak-Nummerierungen 1 bis 8 entsprechen denen von Tabelle 4-2, die Peak-Bezeichnungen a, b, c und d repräsentieren nicht identifizierbare Komponenten. Die Detektion erfolgt bei 450 nm. 65
- Abb. 4-10: Einfluss der Pasteurisation auf die absoluten Gehalte von *all-E*-Lutein. Darstellung der Mittelwerte ($n = 9$) und der Standardabweichungen. 70
- Abb. 4-11: Einfluss der Pasteurisation auf die absoluten Gesamtxanthophyllgehalte. Darstellung der Mittelwerte ($n = 9$) und der Standardabweichungen. 70
- Abb. 4-12: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Lutein in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte ($n = 18$) beider Eier-Chargen. 74
- Abb. 4-13: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Zeaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte ($n = 18$) beider Eier-Chargen. 74
- Abb. 4-14: Entwicklung der Gehalte an *13-Z*-Lutein in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte ($n = 18$) beider Eier-Chargen. 74
- Abb. 4-15: Entwicklung der Gehalte an *13-Z*-Zeaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte ($n = 18$) beider Eier-Chargen. 75
- Abb. 4-16: Entwicklung der Gehalte an *9-Z*-Canthaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte ($n = 18$) beider Eier-Chargen. 75
- Abb. 4-17: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Canthaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte ($n = 18$) beider Eier-Chargen. 75

Abb. 4-18:	Entwicklung der Gehalte an Z-Isomer Canthaxanthin in Eigelbpulver nach <u>Sprühtrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	76
Abb. 4-19:	Entwicklung der Gehalte an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in Eigelbpulver nach <u>Sprühtrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	76
Abb. 4-20:	Entwicklung der Gesamtxanthophyllgehalte in Eigelbpulver nach <u>Sprühtrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	76
Abb. 4-21:	Entwicklung der Gehalte an <i>all-E</i> -Lutein in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	78
Abb. 4-22:	Entwicklung der Gehalte an <i>all-E</i> -Zeaxanthin in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	78
Abb. 4-23:	Entwicklung der Gehalte an 13-Z-Lutein in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	79
Abb. 4-24:	Entwicklung der Gehalte an 13-Z-Zeaxanthin in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	79
Abb. 4-25:	Entwicklung der Gehalte an 9-Z-Canthaxanthin in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	79
Abb. 4-26:	Entwicklung der Gehalte an <i>all-E</i> -Canthaxanthin in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	80
Abb. 4-27:	Entwicklung der Gehalte an Z-Isomer Canthaxanthin in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	80
Abb. 4-28:	Entwicklung der Gehalte an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	80
Abb. 4-29:	Entwicklung der Gesamtxanthophyllgehalte in Eigelbpulver nach <u>Gefriertrocknung</u> während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.	81
Abb. 5-1:	Schematische Darstellung des Abbauprozesses von Carotinoiden während der Lagerung nach Reaktionen nullter, erster und zweiter Ordnung	110

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 2-1:	Ausgewählte Parameter von Eiklarproteinen (modifiziert nach FREDE 2006)	4
Tab. 2-2:	Sortierung von Eiern der Klassen „A“ und „A extra“ nach Gewicht (nach EUROPA 2008b)	6
Tab. 2-3:	Mittelwerte ausgewählter Eibestandteile in 100 g essbarer Anteil ohne Schale (nach TERNES 2005, BELITZ 2004, SOUCI 2000)	6
Tab. 2-4:	Carotinoidgehalte von Hühnereiern verschiedener Haltungsformen in $\mu\text{g}/100\text{ g}$ Vollei \pm Standardabweichung (nach MAJCHRZAK 1997)	11
Tab. 2-5:	Carotinoidgehalte von Hühnereiern verschiedener Haltungsformen und Eiproduzenten in $\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eigelb \pm Standardabweichung (nach SCHLATTERER 2006)	11
Tab. 2-6:	Erlaubte Carotinoide zur Verwendung als Futtermittel-Zusatzstoffe für Legehennen und deren Höchstmengen in mg/kg Alleinfuttermittel (nach EUROPA 2004)	13
Tab. 2-7:	Anwendungsgebiete von ausgewählten Eiprodukten (modifiziert nach VTI 2008)	16
Tab. 2-8:	Vergleich der relativen Vitamin A-Aktivität ausgewählter Carotinoide mit der von β -Carotin (modifiziert nach SURAI 2001)	21
Tab. 2-9:	Einfluss des Lösungsmittels auf die Lage der Absorptionsmaxima ausgewählter Isomere von Lutein und Zeaxanthin (nach KHACHIK 1992) und deren Bandenverhältnisse (nach DACHTLER 2001)	30
Tab. 2-10:	Mittelwerte ausgewählter Carotinoide in 100 ml frischem Orangensaft	30
Tab. 2-11:	Prozentuale Zusammensetzung von Trockeneiprodukten (nach KROELL 1989)	42
Tab. 3-1:	Verdünnungsstufen der Standardlösungen [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	52
Tab. 3-2:	Xanthophyllgehalte in homogenisiertem frischen Eigelb nach Extraktion mittels dreier Extraktionsverfahren (entsprechende Fließschemata siehe Abbildungen 3-3, 3-4 und 3-5)	56
Tab. 3-3:	Xanthophyllgehalte in homogenisiertem gefriergetrockneten Eigelb nach Extraktion mittels dreier Extraktionsverfahren (entsprechende Fließschemata siehe Abbildungen 3-3, 3-4 und 3-5)	57

Tab. 4-1:	Mittelwerte (n = 3) der Peakhöhen [AUs] zur Erstellung der Kalibriergeraden von Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	61
Tab. 4-2:	Spektroskopische und LCMS-Daten, welche zur Identifikation von Xanthophyllen in nativem und verarbeitetem Eigelb herangezogen werden	65
Tab. 4-3:	Trockenmassen der aus Eier-Charge 1 erzeugten Eiprodukte [g/100 g]	66
Tab. 4-4:	Trockenmassen der aus Eier-Charge 2 erzeugten Eiprodukte [g/100 g]	66
Tab. 4-5:	Mittelwerte (n = 9) der Konzentrationen $c_1 - c_3$ [$\mu\text{g/l}$] zur Berechnung der Wiederfindungsraten von Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	66
Tab. 4-6:	Xanthophyllgehalte in nativem und <u>sprühgetrocknetem</u> Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$, untere Werte entsprechen der Lagerung bei $+20\text{ }^\circ\text{C}$) der Charge 1, <u>ohne Pasteurisation</u> . Darstellung als Mittelwerte \pm Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	67
Tab. 4-7:	Xanthophyllgehalte in nativem und <u>sprühgetrocknetem</u> Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$, untere Werte entsprechen der Lagerung bei $+20\text{ }^\circ\text{C}$) der Charge 1, <u>mit Pasteurisation</u> . Darstellung als Mittelwerte \pm Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	67
Tab. 4-8:	Xanthophyllgehalte in nativem und <u>gefriergetrocknetem</u> Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$, untere Werte entsprechen der Lagerung bei $+20\text{ }^\circ\text{C}$) der Charge 1, <u>ohne Pasteurisation</u> . Darstellung als Mittelwerte \pm Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	68
Tab. 4-9:	Xanthophyllgehalte in nativem und <u>gefriergetrocknetem</u> Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$, untere Werte entsprechen der Lagerung bei $+20\text{ }^\circ\text{C}$) der Charge 1, <u>mit Pasteurisation</u> . Darstellung als Mittelwerte \pm Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	68
Tab. 4-10:	Xanthophyllgehalte in nativem und <u>sprühgetrocknetem</u> Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$, untere Werte entsprechen der Lagerung bei $+20\text{ }^\circ\text{C}$) der Charge 2, <u>ohne Pasteurisation</u> . Darstellung als Mittelwerte \pm Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	68

Tab. 4-11:	Xanthophyllgehalte in nativem und <u>sprühgetrocknetem</u> Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 2, <u>mit Pasteurisation</u> . Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	69
Tab. 4-12:	Xanthophyllgehalte in nativem und <u>gefriergetrocknetem</u> Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 2, <u>ohne Pasteurisation</u> . Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	69
Tab. 4-13:	Xanthophyllgehalte in nativem und <u>gefriergetrocknetem</u> Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 2, <u>mit Pasteurisation</u> . Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	69
Tab. 4-14:	Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte durch <u>Sprühtrocknung</u> von Eigelb der Charge 1 [%] und Angabe über eine dabei auftretende signifikante Änderung	71
Tab. 4-15:	Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte durch <u>Sprühtrocknung</u> von Eigelb der Charge 2 [%] und Angabe über eine dabei auftretende signifikante Änderung	72
Tab. 4-16:	Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte durch <u>Gefriertrocknung</u> von Eigelb der Charge 1 [%] und Angabe über eine dabei auftretende signifikante Änderung	72
Tab. 4-17:	Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte durch <u>Gefriertrocknung</u> von Eigelb der Charge 2 [%] und Angabe über eine dabei auftretende signifikante Änderung	73
Tab. 4-18:	Gleichungen der Trendlinien der in den Abbildungen 4-12 bis 4-20 gezeigten Verläufe der Xanthophyllgehalte von Eigelbpulver nach Sprühtrocknung und deren Bestimmtheitsmaße	77
Tab. 4-19:	Gleichungen der Trendlinien der in den Abbildungen 4-21 bis 4-29 gezeigten Verläufe der Xanthophyllgehalte von Eigelbpulver nach Gefriertrocknung und deren Bestimmtheitsmaße	82
Tab. 5-1:	Bestimmtheitsmaße der Kalibriergeraden von Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	83
Tab. 5-2:	Vergleich der ermittelten Gehalte an <i>all-E</i> -Lutein, <i>all-E</i> -Zeaxanthin, <i>all-E</i> -Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in nativem Eigelb [$\mu\text{g}/100\text{ g Eigelb}$] von Legehennen aus Bodenhaltung mit Literaturwerten	84

Tab. 5-3:	Vergleich der Mittelwerte der Trockenmassen von nativem und getrocknetem Eigelb mit Literaturwerten [g/100 g]	85
Tab. 5-4:	Absolute Gehalte [$\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eigelb \pm Standardabweichung] von 13-Z-Lutein, 13-Z-Zeaxanthin und 9-Z-Canthaxanthin und deren relative Anteile am jeweiligen Xanthophyllgehalt (<i>all-E + Z</i>) und am Gesamt-xanthophyllgehalt [%]	87
Tab. 5-5:	Absolute Xanthophyllgehalte [$\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eigelb \pm Standardabweichung] der Eier-Chargen 1 und 2 vor und nach der Pasteurisation (jeweils $n = 9$); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.	89
Tab. 5-6:	Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte nach Sprühtrocknung von Eigelb der Chargen 1 und 2 [%]	90
Tab. 5-7:	Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte nach Gefriertrocknung von Eigelb der Chargen 1 und 2 [%]	95
Tab. 5-8:	Vergleich der relativen Veränderungen der jeweiligen Gehalte an Z-Isomeren nach Sprüh- und Gefriertrocknung von Eigelb der Chargen 1 und 2 [%]	99

**VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN, FORMELZEICHEN
UND EINHEITEN**

AMD	Altersbedingte Maculadegeneration
ANOVA	Analysis of Variance
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
AUs	Absorbance Units
BLS	Bundeslebensmittelschlüssel
bzgl.	bezüglich
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DMAPP	Dimethylallylpyrophosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EFSA	European Food Safety Authority
EG	Europäische Gemeinschaft
ESI	Electrospray Ionization
EU	Europäische Union
EU-27	Europäische Union mit 27 Mitgliedstaaten
FDA	Food and Drug Administration
GGPP	Geranylgeranylpyrophosphat
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSI	Hochspannungsimpuls
i. P.	isoelektrischer Punkt
insb.	insbesondere
IPP	Isopentenylpyrophosphat
kGy	Kilogray
LC-(APCI)MS	Liquid Chromatography–Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry
LCMS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry

LDL	Low Density Lipoprotein
LFGB	Lebensmittel, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch
log	Zehnerlogarithmus ($5 \log = 10^5$)
<i>m/z</i>	Massenzahl pro Ladung
MHD	Mindesthaltbarkeitsdatum
NI	Normliter
PKV	Pro-Kopf-Verbrauch
ppm	parts per million
RF-	Rangefinder-
SVG	Selbstversorgungsgrad
TBME	<i>tert</i> -Butylmethylether
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidative Capacity
UV-	Ultraviolett-
vTI	Johann Heinrich von Thünen-Institut
<i>w</i>	Trockenmasse
W	Wiederfindungsrate
λ_{\max}	maximale Wellenlänge

1 Einleitung

Im Zuge einer wachsenden Bedeutung von Convenience-Produkten, was zum Beispiel am deutlich gestiegenen Einsatz von Produkten aus Trockenvollei in der Lebensmittelindustrie in den letzten Jahren festgemacht werden kann [FRANKE 2002], wird auch in den kommenden Jahren mit einem steigenden Bedarf für Eiprodukte gerechnet [VTI 2008]. Bei optimaler Auslegung des Trocknungsprozesses ist eine weitgehende Erhaltung der technofunktionellen Eigenschaften, z. B. das Schaumbildungs- und Emulgiervermögen, möglich [JAEKEL 2008].

Während sprühgetrocknetes Eigelb von der Lebensmittelindustrie in großem Maßstab aus mikrobiologischen Gründen und aufgrund einer bis zu 24-monatigen Haltbarkeit vor allem bei der Produktion von Back- und Nudelwaren verwendet wird, ist der Einsatz von gefriergetrocknetem Eigelb, dessen Herstellung vergleichsweise kostenintensiv ausfällt, auf wenige hochpreisige Anwendungen beschränkt.

In der Literatur sind zahlreiche Erkenntnisse über trockenungsbedingte Veränderungen in der Technofunktionalität von Eiern und Eiprodukten beschrieben [JAEKEL 2008, AYADI 2008], der Einfluss einer Pasteurisation, Sprüh- und Gefriertrocknung und Lagerung der resultierenden Eigelbpulver auf den Gehalt an Farbstoffen, den Xanthophyllen, ist bislang nur punktuell untersucht.

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgt die systematische Betrachtung der Einflüsse einer Pasteurisation von Flüssigeigelb, einer Sprüh- und Gefriertrocknung von Flüssigeigelb und einer Lagerung der resultierenden Eigelbpulver bei unterschiedlichen Temperaturen im Dunklen über einen Zeitraum von 6 Monaten auf die Xanthophyllgehalte, wobei ein Schwerpunkt auf die industrienähe Simulation der einzelnen Prozessschritte gelegt wird.

Sämtliche Verfahrensschritte werden dabei zweifach, auf Basis zweier Chargen ($n = je\ 80\ Eier$) von Legehennen aus Bodenhaltung eines Eiproduzenten, ausgeführt. Zum einen können dadurch biologische Schwankungen der Xanthophyllgehalte determiniert werden, zum anderen können bei Mittlung der jeweils relativen Xanthophyllgehalte beider Ansätze vorsichtig Trends für die Verläufe dieser Gehalte im Laufe der Lagerung von sprüh- und gefriergetrocknetem Eigelb formuliert werden.

Der qualitative und quantitative Nachweis der Xanthophylle in Eigelb auf allen Verarbeitungs- und Lagerungsstufen erfolgt mittels HPLC unter Nutzung von Standardsubstanzen der im Eigelb detektierten Farbstoffe.

Zur statistischen Betrachtung der ermittelten Xanthophyllgehalte wird das Verfahren der einseitigen Varianzanalyse genutzt, wobei aufgrund des pro Verarbeitungsstufe zu erwartenden geringen Stichprobenumfanges ein Signifikanzniveau mit Einbezug einer 5-prozentigen Fehlerwahrscheinlichkeit ($P < 0,05$) gewählt wird.

2 Stand des Wissens und der Technik

2.1 Hühnereier

2.1.1 Aufbau des Hühnereies

Bei rein morphologischer Betrachtung lässt sich das Hühnerei in die Fraktionen Eiklar, Dotter (Eigelb) und Schale unterteilen. Das Gewicht eines Hühnereies liegt fast ausnahmslos im Bereich zwischen 30 g und 80 g, wobei ca. 57 % auf das Eiklar, ca. 33 % auf das Dotter und ca. 10 % auf die Schale entfallen [FREDE 2006, BELITZ 2004]. In Abbildung 2-1 wird der Aufbau des Hühnereies schematisch dargestellt.

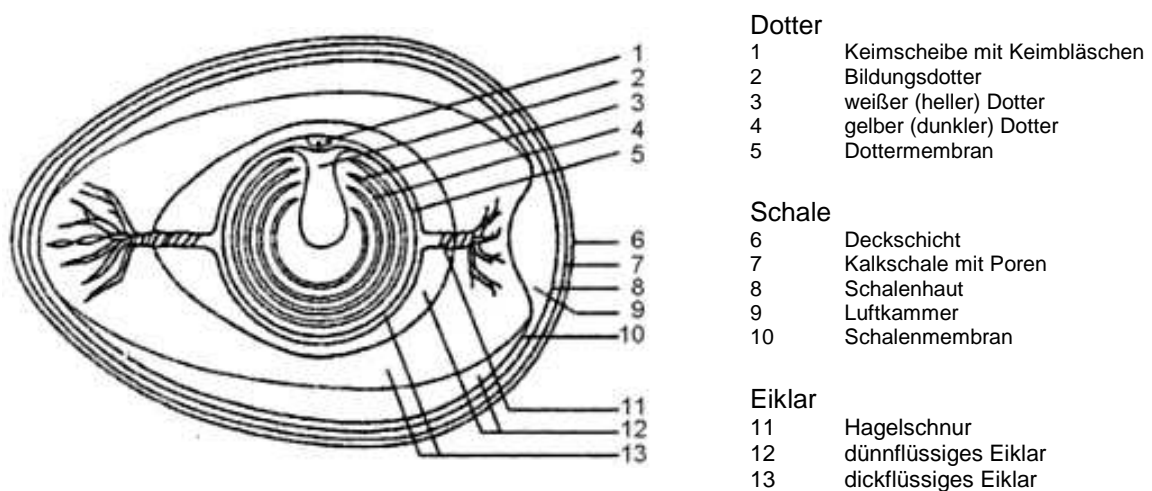


Abb. 2-1: Schematischer Aufbau eines Hühnereies (modifiziert nach FREDE 2006)

Schale

Die Schale des Eies besitzt einen schichtförmigen Aufbau und schützt den Eiinhalt vor Schmutz und/oder Mikroorganismen. Eine etwa 10 µm dicke Deckschicht überzieht matt-glänzend die Poren der Kalkschale. Durch Abtrocknung und Zersetzungsprozesse im Laufe der Lagerung kann die Deckschicht rissig werden. Ebenso begünstigt das Waschen der Eier eine Penetration unerwünschter Keime in das Eiinnere. Das Waschen von Eiern der Güteklasse A ist in Deutschland seit Jahren verboten und wird europaweit von der EU-Verordnung 589/2008 geregelt [EUROPA 2008b]. Die porös-kristalline Schale besteht maßgeblich aus Calciumcarbonat und -phosphat, welche in eine Matrix aus organischem Material eingebettet sind. Die Poren dienen dem Gasaustausch zwischen der Umwelt und der etwa 5 mm großen Luftkammer [FREDE 2006]. Die Dicke der Schale des Hühnereies beträgt 0,2 mm bis 0,4 mm, wobei Werte unter 0,32 mm als „dünnchalig“ betrachtet werden [FEHLHABER

1992]. Die Stabilität der Schale wird wesentlich durch die Fütterung, Haltungsbedingungen, das Alter und den Gesundheitsstatus der Tiere bestimmt. Die Pigmentierung der Schale ist rasseabhängig und wird durch Pyrrolderivate hervorgerufen. Die Schalen von Hühnereiern sind üblicherweise weiß bzw. gelb bis braun gefärbt [FREDE 2006].

Eiklar

Die vielfältigen technologischen Anwendungsmöglichkeiten von Eiklar (vgl. Kap. 2.2) liegen in seinem Proteinspektrum begründet. Zu den im Eiklar quantitativ dominierenden Proteinen zählen: Ovalbumin, Ovotransferrin, Ovomuroid, G₁-Globulin (Lysozym), G₂-Globulin, G₃-Globulin und Ovomuicin. In Tabelle 2-1 werden ausgewählte Parameter der Eiklarproteine dargestellt.

Tab. 2-1: Ausgewählte Parameter von Eiklarproteinen (modifiziert nach FREDE 2006)

Protein	Anteil [%]	i. P.	Eigenschaften
Ovalbumin	54	4,6-4,8	bei Lagerung erfolgt Umwandlung in hitzestabiles S-Ovalbumin und denaturiert beim Aufschlagen
Ovotransferrin	13	6,1-6,6	kann mit Metallionen hitzestabile Komplexe bilden, kann zu unerwünschter Rotfärbung führen, in freier Form hitzelabil, antimikrobiell
Ovomucoid	11	3,9-6,6	hitzestabil, kann Trypsin hemmen (nur beim Rind)
Lysozym	3,5	11	antibakteriell, verhindert Spätblähung bei Hart- und Schnittkäse
G ₂ -Globulin	4,0	5,5	Schaumbildner
G ₃ -Globulin	4,0	4,8	Schaumbildner
Ovomucin	1,5	4,5-5,0	hitzestabil, beeinflusst durch Mikrofibrillen die Viskosität des nativen dickflüssigen Eiklars, bildet wasserunlösliche Komplexe mit Lysozym

Eigelb

Das Eigelb stellt eine Öl-in-Wasser-Emulsion dar, deren pH-Wert im Frischzustand bei 6,0 liegt und bei der Lagerung auf 6,4 bis 6,9 ansteigt. Die Trockenmasse des Eigelbes besteht zu zwei Dritteln aus Lipiden und zu einem Drittel aus Proteinen (vgl. Tab. 2-3). Die Lipide setzen sich zu 65 % aus Triacylglyceriden, 21 % - 28 % aus Phospholipiden und 1,5 % bis 2,2 % aus Mono- und Diacylglyceriden zusammen. Der Gehalt an Cholesterin und seinen Estern liegt bei etwa 6 %. Freie Fettsäuren, Kohlenwasserstoffe und Carotinoide liegen nur in Spuren vor. Die typische Farbe des Dotters wird insb. durch die Carotinoide Lutein und Zeaxanthin hervorgerufen,

welche ausschließlich über das Futter aufgenommen werden. Eine Klassifizierung der Eigelbproteine in die Hauptgruppen Plasmaproteine (66 %), Granulaproteine (18,6 %), Livetin (11 %) und Phosvitin (4,6 %) ist möglich [FREDE 2006]. Im Jahr 1995 stellt TERNES eine Gleichverteilung von Lutein und Zeaxanthin in den Lipoproteinen von Plasma und Granula heraus [TERNES 1995].

2.1.2 Klassifizierung von Hühnereiern nach Qualität und Gewicht

Aufgrund einer EU-weiten Regelung ist eine Einteilung von Hühnereiern nach Qualität und Gewicht möglich [EUROPA 2008b]. Demnach ergeben sich die drei Güteklassen „A“, „A extra“ und „B“.

Eier der Güteklasse „A“ müssen die folgenden Merkmale aufweisen:

- Schale und Deckschicht: sauber, unbeschädigt, von normaler Form,
- Luftkammer: unbeweglich, nicht über 6 mm dick,
- Dotter: beim Durchleuchten nur schattenhaft, beim Drehen des Eies nicht wesentlich von der zentralen Lage abweichend,
- Eiklar: klar und durchsichtig,
- Keim: Entwicklung nicht sichtbar,
- Fremde Ein- und Auflagerungen: nicht zulässig,
- Fremdgeruch: nicht zulässig.

Zum Ausloben der Eier als Güteklasse „A extra“ müssen mindestens die Kriterien zum Erzielen der Güteklasse „A“ erreicht werden, jedoch darf die Luftkammer nicht dicker als 4 mm sein, was einen Hinweis auf besonders frische Eier darstellt. Hühnereier der Güteklasse „B“ erfüllen keine bzw. nicht alle Merkmale, die zum Ausloben der Güteklasse „A“ berechtigen, und werden als Industrieier bezeichnet. Eier der Güteklassen „A“ und „A extra“ werden unter dem Begriff „Konsumeier“ zusammengefasst und nur sie dürfen direkt an den Endverbraucher unter Auslobung der Gewichtsklasse verkauft werden. Tabelle 2-2 bietet einen Überblick über die in der EU vorgeschriebenen Gewichtsklassen von Konsumeiern.

2.1.3 Inhaltsstoffe des Hühnereies

Ausschlaggebend für die zahlreichen Verwendungsmöglichkeiten von Eiern ist deren ernährungsphysiologischer Wert, Bekömmlichkeit und Schmackhaftigkeit. Tabelle 2-3

gibt einen Überblick über die quantitative Verteilung von Makro- und Mikronährstoffen in je 100 g Hühnervollei, Hühnereigelb und Hühnereiklar.

Tab. 2-2: Sortierung von Eiern der Klassen „A“ und „A extra“ nach Gewicht (nach EUROPA 2008b)

Gewichtsklasse	Gewicht
XL (sehr groß)	≥ 73 g
L (groß)	≥ 63 g bis < 73 g
M (mittel)	≥ 53 g bis < 63 g
S (klein)	< 53 g

Tab. 2-3: Mittelwerte ausgewählter Eibestandteile in 100 g essbarer Anteil ohne Schale (nach TERNES 2005, BELITZ 2004, SOUCI 2000)

Bestandteil	Maßeinheit	Hühnervollei	Hühnereigelb	Hühnereiklar
Wasser	g	74,4	50,0	87,3
Protein (N x 6,25)	g	12,8	16,1	11,1
Fett	g	11,3	31,9	0,2
- gesättigte Fettsäuren	g	4,0	12,0	0,1
- mehrfach ungesättigte Fettsäuren	g	2,2	6,4	Spuren
Kohlenhydrate	g	0,7	0,3	0,7
Mineralstoffe	g	1,0	1,7	0,7
- Natrium	mg	144	51	170
- Kalium	mg	147	138	154
- Calcium	mg	54	140	11
- Kalium	mg	2	7,2	0,2
- Phosphor	mg	214	590	21
Vitamin A (Retinol)	µg	270	881	Spuren
Vitamin D	µg	2,9	5,6	
Gesamt-Tocopherole	µg	2300	6500	0
Vitamin K	µg	8,9		
Vitamin B12	µg	1,9	159	0,1
Vitamin B1	µg	100	290	0,02
Vitamin B2	µg	408	400	320
Cholesterin	g	0,40	1,26	
Gesamtphospholipide	g	3,51	10,3	
Gesamtcarotinoide ¹	mg	1,0 – 1,5	1,5-3,5	

¹ in Anlehnung an SCHLATTERER 2006, MAJCHRZAK 1997 und OLLILAINEN 1989

Aufgrund der jeweiligen Zusammensetzung ergeben sich für je 100 g Hühnervollei, Hühnereigelb und Hühnereiklar Energiegehalte von 646 kJ, 1459 kJ und 208 kJ.

Über den Gesamtcarotinoidgehalt in Hühnereiern lassen sich in der Literatur unterschiedliche Angaben finden. Dies liegt vor allem darin begründet, dass in den zugrundeliegenden Studien, je nach Studienschwerpunkt oder Verfügbarkeit von Standardsubstanzen, oftmals nur ausgewählte Carotinoide quantifiziert werden. Da die Haltungsform der Legehennen einen entscheidenden Einfluss auf das Vorkommen und die Quantität der Carotinoide im Hühnerei hat, wird dieser Aspekt im Folgenden näher betrachtet.

2.1.4 Legehennenhaltung

2.1.4.1 Arten der Legehennenhaltung in Deutschland

Mit der Neufassung der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung vom 22. August 2006 [TIERSCHNUTZTV 2006], welche sogar über die in der Richtlinie 1999/74/EG [EUROPA 1999a] genannten Mindestanforderungen hinausgeht, werden die Anforderungen für die Legehennenhaltung in Deutschland geregelt. Demnach ist die Käfighaltung in Deutschland nur noch vorübergehend bis zum 31.12.2020 zulässig. Eine Inbetriebnahme von Käfigbatterien ist in Deutschland nicht mehr möglich, egal ob es sich um ausgestaltete Käfige mit 750 cm² je Henne mit Sitzstange, Nest und Einstreu oder um herkömmliche Käfige mit 450 cm² oder 550 cm² je Henne handelt. Ab dem 01.01.2009 ist in Deutschland eine horizontale Käfigfläche von mindestens 750 cm² je Henne vorgeschrieben [TIERSCHNUTZTV 2006]. Im Unterschied dazu sind laut Richtlinie 1999/74/EG [EUROPA 1999a] europaweit bis zum 31.12.2011 horizontale Käfigflächen von mindestens 550 cm² je Henne erlaubt und erst ab 01.01.2012 Käfigflächen von mehr als 750 cm² je Henne obligatorisch.

Die Bodenhaltung von Legehennen erfolgt in Kleingruppen in einer abgegrenzten Stallfläche mit einem Auslauf- und einem Nestbereich. Dabei sind maximal 9 Tiere pro m² Bewegungsfläche zulässig. Der Stall muss komplett überdacht sein. Aus ökonomischen Gründen kann die Bodenhaltung auch in maximal 4 Etagen mit mindestens 45 cm lichtem Abstand übereinander erfolgen – es wird dann von Volierenhaltung gesprochen. Zu den Anforderungen der Bodenhaltung gehört beispielsweise, dass mindestens ein Drittel der Bodenfläche mit Streumaterial bedeckt sein muss und erhöhte Sitzstangen zur Ausbildung der Hackordnung vorhanden sein müssen.

Bei der Freilandhaltung gelten an den Stall die gleichen Anforderungen wie bei der Bodenhaltung. Der Auslauf muss so beschaffen sein, dass zum einen ausreichend Unterschlupfmöglichkeiten zum Schutz vor widrigen Witterungsbedingungen und Raubtieren, insb. Greifvögeln, gegeben und zum anderen geeignete Wassertränken verfügbar sind. Pro Legehennen ist bei der Freilandhaltung eine Auslaufläche von mindestens 4 m² vorgeschrieben [EUROPA 2001].

Die Mindestanforderungen an die Erzeugung von biologischen Produkten und deren Kennzeichnung werden europaweit und allgemein durch die EU-Verordnung 834/2007 geregelt [EUROPA 2007], welche die bis dahin gültige EU-Verordnung 2092/91 ersetzt. Etwa zwei Drittel der in Deutschland biologisch erzeugten Eier werden nach privatwirtschaftlichen Richtwerten und Standards der ökologischen Anbauverbände erzeugt. Die Regelungen dieser Anbau- und Produktionsverbände gehen oftmals über die in der EU-Verordnung 834/2007 genannten Forderungen hinaus [VTI 2008]. Bereits im Jahr 2001 wird zur Verbesserung der Übersichtlichkeit in Deutschland insb. für die Konsumenten ein einheitliches Bio-Siegel eingeführt. Durch Erteilung des Siegels wird konstatiert, dass die Produktion und deren Kontrolle nach den Vorgaben der EU-Verordnung 2092/91 (jetzt: EU-Verordnung 834/2007) erfolgen. Damit ein Eiproduzent die von ihm erzeugten Eier mit dem Bio-Siegel des deutschen Verbraucherschutzministeriums für Produkte des ökologischen Landbaus ausloben kann, müssen beispielsweise folgende Kriterien erfüllt sein:

- Käfighaltung ist nicht erlaubt,
- jedes Huhn erhält mindestens 4 m² Auslauf mit Sträuchern und Gras,
- Möglichkeiten zum Scharren für die Hühner,
- Einhaltung des natürlichen Tag- und Nachtrhythmus,
- Verbot des Einsatzes vorbeugender Antibiotika,
- Futtermittel stammen überwiegend aus ökologischem Anbau,
- Verbot des Zusatzes von synthetischen Farbstoffen und Antibiotika zum Futter,
- Verbot der Anwendung von Gentechnik.

Während im Jahr 1997 ca. 89,7 % aller Haltungsplätze von Legehennen in Deutschland in der Käfighaltung zu finden sind, sind es im Jahr 2008 nur noch

62,1 % mit weiterhin fallender Tendenz [STABU 2009, STABU 2008]. Im Gegensatz dazu steigen im selben Zeitraum die Haltungsplätze von Legehennen aller anderen Haltungsformen grundsätzlich an, was unter Einbezug der Tatsache, dass Eier ein vergleichsweise preislich günstiges Lebensmittel darstellen, mit einem verstärkten Bewusstsein der Konsumenten für tierschutzrechtliche Aspekte begründet werden kann. Für die Anzahl der Haltungsplätze in der ökologischen Erzeugung wird spätestens bis zum Jahr 2011 von einer Verdopplung bis Verdreifachung auf etwa 4 Millionen bis 6 Millionen ausgegangen [VTI 2008]. Eine Übersicht über den Verlauf der Anzahl der Haltungsplätze von Legehennen in Deutschland in den einzelnen Haltungsformen während der letzten Jahre bietet Abbildung 2-2.

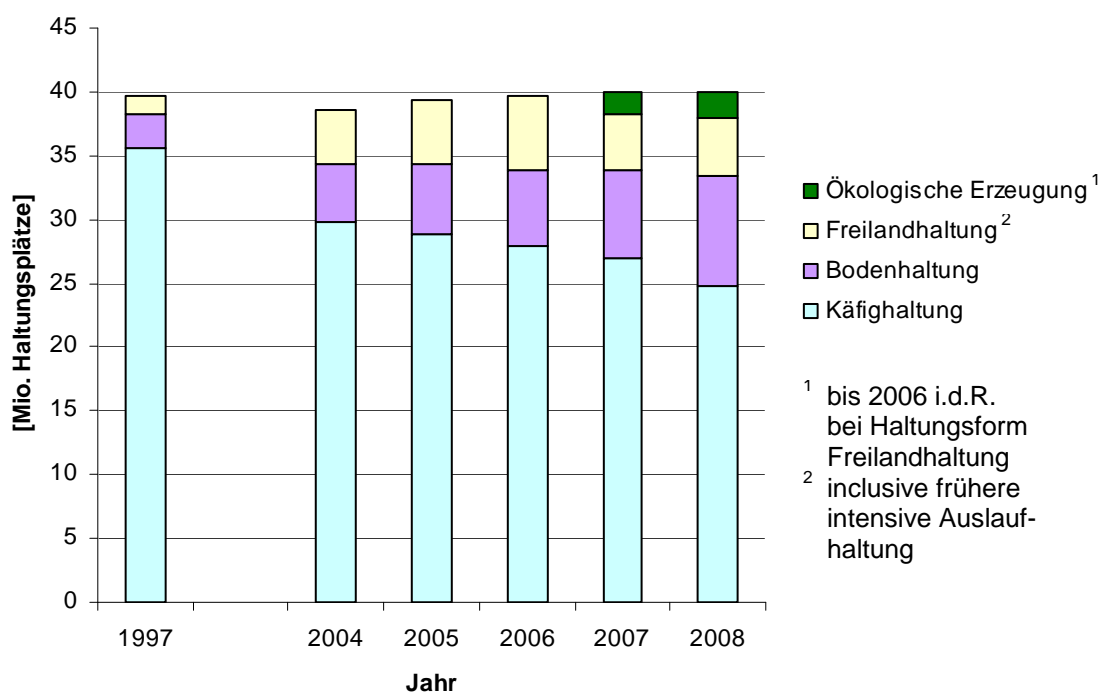


Abb. 2-2: Haltungsplätze von Legehennen in Deutschland nach Haltungsform (nach STABU 2008 und STABU 2009)

2.1.4.2 Kennzeichnung von Konsumeiern

Seit dem 01.01.2004 ist in der EU eine einheitliche Kennzeichnung von Konsumeiern vorgeschrieben, welche durch EU-Verordnung 2052/2003 [EUROPA 2003a] geregelt wird. Demnach ist jedes Konsumei mit einem Erzeugercode zu versehen, aus dem die Kennnummer des Erzeugerbetriebes und die Art der Legehennenhaltung abgeleitet werden kann. In die Praxis umgesetzt wird dies durch das Stempeln eines jeden Konsumeies unter Verwendung des in Abbildung 2-3 gezeigten Stempelschemas mit lebensmittelechter, kochstabiler und migrationsarmer Farbe.

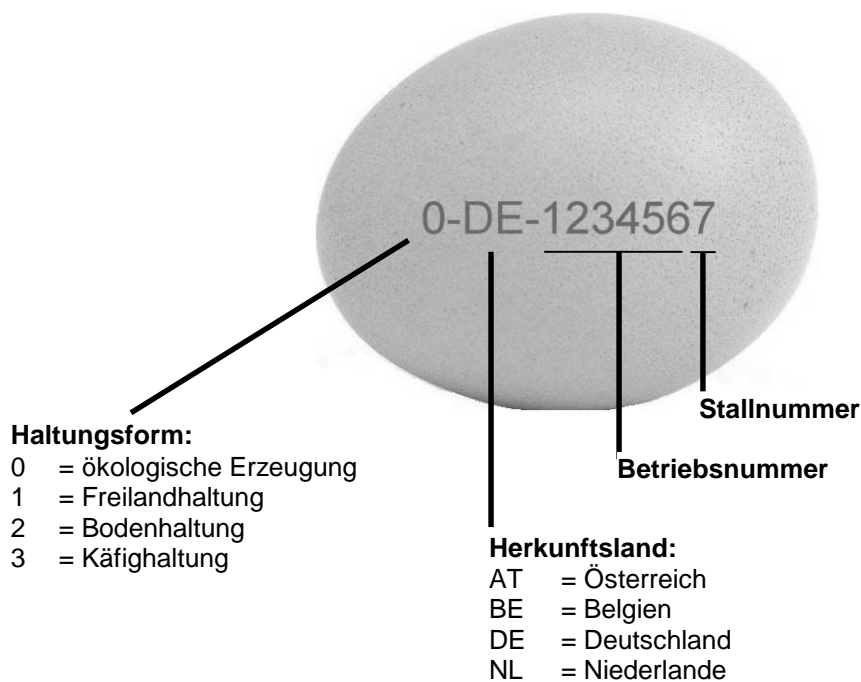


Abb. 2-3: Stempelschema zur Kennzeichnung von Konsumeiern in der EU

2.1.4.3 Einflussfaktoren auf Distribution und Quantität der Xanthophylle im Eigelb

Da Carotinoide nicht von Tieren synthetisiert werden können, beruht auch die Färbung des Eigelbes ausschließlich auf der Einlagerung von über das Futter zugeführten Farbstoffen. Die Zusammensetzung des Futters korreliert wiederum stark mit der Haltungsform der Legehennen (vgl. Kapitel 2.1.4.1). Die im Futter natürlich enthaltenen und zugesetzten, meist synthetischen Carotinoide werden von der Legehenne aufgenommen, mitunter modifiziert, im Gewebe gespeichert und je nach Carotinoid zu einem entsprechenden Anteil ins Ei transferiert. Die Lutein-Transferrate vom Futter ins Eigelb ist beispielsweise stark abhängig von der Konzentration im verwendeten Futter und sinkt signifikant bei steigender Konzentration. Im Jahr 2004 stellt LEESON Transferraten von ca. 10 % ins Ei bei einem Luteingehalt von 126 ppm und von ca. 2 % bis 3 % bei einem Luteingehalt von 451 ppm im Futter fest [LEESON 2004]. Als entscheidender Faktor für die Transferraten von Carotinoiden vom Futter ins Blut der Legehenne und von dort über das Fettgewebe ins Ei kann deren Polarität angesehen werden. So findet NA im Jahr 2004 in diversen Fütterungsversuchen heraus, dass die relativ polaren Xanthophylle β -Apo-8'-Carotinsäureethylester und Canthaxanthin 3-fach bis 11-fach höhere Absorptionsraten vom Futter ins Blut der Legehenne haben als β -Carotin, jedoch bei der Translokation vom Blut ins Gewebe ein dazu reverser Effekt auftritt [NA 2004].

Des Weiteren stellt NA heraus, dass selbst das alleinige Verfüttern von 300 mg β -Carotin pro kg Futter keinen signifikanten Einfluss auf die Dotterfarbe des Eies hat. Im Gegensatz dazu bereits führt das alleinige Verfüttern von je 50 mg β -Apo-8'-Carotinsäureethylester und Canthaxanthin pro kg Futter zu einer deutlich intensiveren Farbgebung des Dotters.

Analytische Nachweise mittels HPLC zur Bestimmung des Einflusses von der Art des Futters und der Haltungsform auf Distribution und Quantität der Xanthophylle im Eigelb erbringen beispielsweise MAJCHRZAK im Jahr 1997 und SCHLATTERER im Jahr 2006 [SCHLATTERER 2006, MAJCHRZAK 1997]. Eine Übersicht über die von MAJCHRZAK 1997 und SCHLATTERER 2006 ermittelten Carotinoidgehalte bieten die Tabellen 2-4 und 2-5.

Tab. 2-4: Carotinoidgehalte von Hühnereiern verschiedener Haltungsformen in $\mu\text{g}/100\text{ g}$ Vollei \pm Standardabweichung (nach MAJCHRZAK 1997)

Carotinoid	Haltungsform		
	Freilandhaltung	Bodenhaltung	Käfighaltung
Lutein	553,4 \pm 179,5	246,8 \pm 53,4	374,0 \pm 71,5
Zeaxanthin	452,7 \pm 124,2	175,9 \pm 90,9	258,9 \pm 62,3
Canthaxanthin	132,4 \pm 43,5	88,9 \pm 20,8	68,3 \pm 16,9
Cryptoxanthin	20,0 \pm 3,5	12,9 \pm 3,6	n. n.

n. n. nicht nachweisbar

Tab. 2-5: Carotinoidgehalte von Hühnereiern verschiedener Haltungsformen und Eiproduzenten in $\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eigelb \pm Standardabweichung (nach SCHLATTERER 2006)

Xanthophyll	Haltungsform			
	ökologische Erzeugung	Freilandhaltung	Bodenhaltung	Käfighaltung
Lutein	1764,1 \pm 430,0	748,9 \pm 262,4	541,0 \pm 275,6	410,6 \pm 375,0
Zeaxanthin	1021,4 \pm 199,5	325,4 \pm 84,4	222,0 \pm 81,1	398,2 \pm 138,7
Canthaxanthin	n. n.	620,0 \pm 268,2	873,7 \pm 277,6	615,7 \pm 263,0
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	n. n.	707,4 \pm 236,4	809,5 \pm 525,7	669,4 \pm 338,5
Citranaxanthin	n. n.	502,6 \pm 294,2	676,0 \pm 0	n. n.
β -Cryptoxanthin	82,5 \pm 14,6	n. n.	n. n.	68,8 \pm 0

n. n. nicht nachweisbar

Es wird ersichtlich, dass die Haltungsform einen unmittelbaren Einfluss auf die Zusammensetzung des Futters und somit auf die Art und Quantität der im Eigelb enthaltenen Carotinoide hat. Aus den von SCHLATTERER (vgl. Tabelle 2-5) ermittelten Xanthophyllgehalten von Eiern aus ökologischer Erzeugung, erkennbar am Bio-Siegel nach Öko-Kennzeichenverordnung [ÖKOKENNZV 2005], lässt sich ableiten, dass zur Erzielung der gewünschten Dotterfarbe aufgrund des Verbotes des Einsatzes synthetischer Farbstoffe nur die natürlich in Getreide und Gras vorkommenden gelb färbenden Xanthophylle Lutein, Zeaxanthin und β -Cryptoxanthin in Frage kommen. Darüber hinaus besteht prinzipiell bei der ökologischen Erzeugung zum Erzielen von Rot- und Orangetönen im Eigelb die Möglichkeit der Verfütterung von stückigen oder gemahlten Gemüseresten. Eigelbe von Eiern aus ökologischer Erzeugung sind folglich oftmals kräftig gelb bis gelborange gefärbt, Eigelbe von Eiern aus Freiland-, Boden- und Käfighaltung durch die Zufütterung von kostengünstigen synthetischen Rot-Farbstoffen oftmals gelborange bis orange.

Der Nachweis von *Z*-Isomeren der Xanthophylle in Eiern und Eiprodukten ist, im Gegensatz zu den bekannteren *all-E*-Formen, bislang nur sporadisch erbracht. In einer aktuellen Studie aus dem Jahr 2009 belegt PERRY zwar, dass in rohem Eigelb ca. 14 % des Gesamtluteins und ca. 12 % des Gesamtzeaxanthins von den entsprechenden *Z*-Isomeren gestellt werden, benennt jedoch keine konkreten *Z*-Verbindungen [PERRY 2009].

Eine in diesem Zusammenhang zu sehende weitere wichtige Einflussgröße stellt die gewünschte Dotterfarbe dar, welche einfach mit Farbfächern der Firmen DSM und Roche mit Skalen von 1 (blassgelb) bis 15 (orangerot) bestimmt werden kann [VUILLEUMIER 1969]. Zur Erzielung des gleichen Farbwertes muss von den natürlichen Xanthophyllen mindestens die dreifache Menge der synthetischen Pigmente eingesetzt werden. Höhere Farbwerte als 11 (Roche yolk color fan) sind bei ausschließlicher Fütterung mit natürlichen Xanthophyllen aber nahezu unmöglich [SANTOS-BOCANEGRA 2004].

Während in Nordeuropa tendenziell blassgelbe bis gelbe Dotterfarben präferiert werden, sind es in Mittel- und Südeuropa eher gelbe, gelborange und orange Dotterfarben [BLANCH 2000]. Aber auch innerhalb Deutschlands existiert ein determinierbares Gefälle: während in den nördlichen Bundesländern eher blassgelbe und gelbe Dotterfarben bevorzugt werden, sind es in Süddeutschland eher gelbe bis orange Farbtöne. Obwohl in den Niederlanden weniger intensive, gelbliche Farbtöne

bevorzugt werden, werden den zum Export bestimmten Eiern und je nach Bestimmungsregion oftmals intensivere Dotterfarben eingestellt [vTI 2008].

2.1.4.4 In der EU für die Fütterung von Legehennen zugelassene Carotinoide

Der rechtliche Rahmen zur Verwendung von Carotinoiden im Futter von Legehennen ist durch die EU-Verordnung 1831/2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung vorgegeben [EUROPA 2003b], welche die EU-Richtlinie 524/1970 über Zusatzstoffe in der Tierernährung ergänzt [EUROPA 1970]. Im Amtsblatt der EU wiederum werden alle erlaubten Futtermittel-Zusatzstoffe in einer offenen Positivliste namentlich aufgeführt. Laut aktueller Liste ist das Zufüttern von acht Carotinoiden in der Legehennenhaltung unter Beachtung der genannten Höchstmengen, welche zum Schutz der Gesundheit von Mensch und Tier dienen, erlaubt [EUROPA 2004]. Dabei handelt es sich um die in Tabelle 2-6 aufgeführten Substanzen.

Tab. 2-6: Erlaubte Carotinoide zur Verwendung als Futtermittel-Zusatzstoffe für Legehennen und deren Höchstmengen in mg/kg Alleinfuttermittel (nach EUROPA 2004)

Carotinoide	Chemische Formel	Höchstgehalt [mg/kg Alleinfuttermittel]
Capsanthin (E 160c)	$C_{40}H_{56}O_3$	80 ^a
β -Apo-8'-Carotinal (E 160e)	$C_{30}H_{40}O$	80 ^a
β -Apo-8'-Carotinsäure-Ethylester (E 160f)	$C_{32}H_{44}O_2$	80 ^a
Lutein (E 161b)	$C_{40}H_{56}O_2$	80 ^a
Zeaxanthin (E 161h)	$C_{40}H_{56}O_2$	80 ^a
Canthaxanthin (E 161g)	$C_{40}H_{52}O_2$	8 ^a
Cryptoxanthin	$C_{40}H_{56}O$	80 ^a
Citranaxanthin (E 161i)	$C_{33}H_{44}O$	80 ^a

^a allein oder zusammen mit anderen Carotinoiden und Xanthophyllen

Zur Gewährleistung eines höheren Schutzes der Verbrauchergesundheit erlässt die EU mit Verordnung 775/2008 [EUROPA 2008a] Rückstandshöchstgehalte für den Futtermittelzusatzstoff Canthaxanthin zusätzlich zu den in der EU-Richtlinie 7/2003 enthaltenen Bedingungen [EUROPA 2003c]. Demnach sind nicht mehr als 30 mg Canthaxanthin pro Kilogramm Eigelb (Feuchtgewebe) erlaubt. Als Grund für den vergleichsweise niedrigen Höchstgehalt von 8 mg Canthaxanthin pro kg Alleinfuttermittel und die Einführung eines Rückstandshöchstgehaltes für Canthaxanthin in

frischem Eigelb kann angeführt werden, dass es bei einer hohen Aufnahme dieses Pigmentes zu einer Ablagerung in der Retina des Auges mit anschließender Verschlechterung der Sehkraft kommen kann [GORALCZYK 2000, ARDEN 1991]. Die biochemischen Hintergründe dafür werden in einem aktuellen Review-Artikel zusammengefasst [SUJAK 2009]. Für die anderen in Tab. 2-6 aufgeführten Carotinoide werden seitens der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) keine Bedenken geäußert [EFSA 2009, EFSA 2006].

2.1.5 Eierzeugung und Eierkonsum in Deutschland

Auf den weltweiten Hühnerbestand des Jahres 2007 mit ca. 17,25 Mrd. Tieren entfallen nur ca. 108 Mio. auf Deutschland, was einem Anteil von etwa 0,6 % gleichkommt. Bei europaweiter Betrachtung (EU-27) fällt auf, dass, trotz eines Anteiles von 7,5 % am weltweiten Bestand an Hühnern, immerhin 9,7 % der weltweit erzeugten Eier aus der EU stammen [LEL 2009]. Dies spricht für die hohe Produktivität der europäischen und somit auch deutschen Eierzeuger. Der Selbstversorgungsgrad (SVG) für Eier liegt in der EU bei 101 %. Während Länder wie die Niederlande, Lettland, Spanien, Finnland, Polen und Belgien/Luxemburg im Jahr 2007 Selbstversorgungsgrade von ≥ 110 % aufweisen, befindet sich Deutschland mit einem SVG von 67 % auf den hinteren Plätzen. Mit einem Pro-Kopf-Verbrauch (PKV) von 13,1 kg Eier/Jahr liegt Deutschland im Jahr bei europaweiter Betrachtung im Mittelfeld (Spanne von 9,0 kg bis 18,0 kg Eier/Jahr) [LEL 2009]. Den Verlauf über die erzeugten Mengen an Eiern und die Entwicklung des Pro-Kopf-Verbrauches der letzten Jahre zeigt Abbildung 2-4. Demnach geht die Erzeugungsmenge des Jahres 2000 von ca. 14 Mrd. Stück auf ca. 12 Mrd. Stück im Jahr 2007 zurück. Der Pro-Kopf-Verbrauch sinkt im selben Zeitraum von 223 Eier/Jahr auf 210 Eier/Jahr.

Nur 53 % der im Jahre 2007 von den deutschen Haushalten erworbenen Eier werden als Schaleneier gekauft. Die anderen 47 % kauft der deutsche Konsument in Form von Eiprodukten, in Nahrungsmitteln verarbeiteten Eiern und im Außer-Haus-Verzehr [LEL 2009]. Aufgrund der geringen Haltbarkeit, aber auch aus Kostengründen, setzt die Nahrungsmittelindustrie, z. B. die Backwaren- und Nudelindustrie, verstärkt auf Produkte aus Eiern, insb. vorbehandeltes Flüssigei und Eigelbpulver.

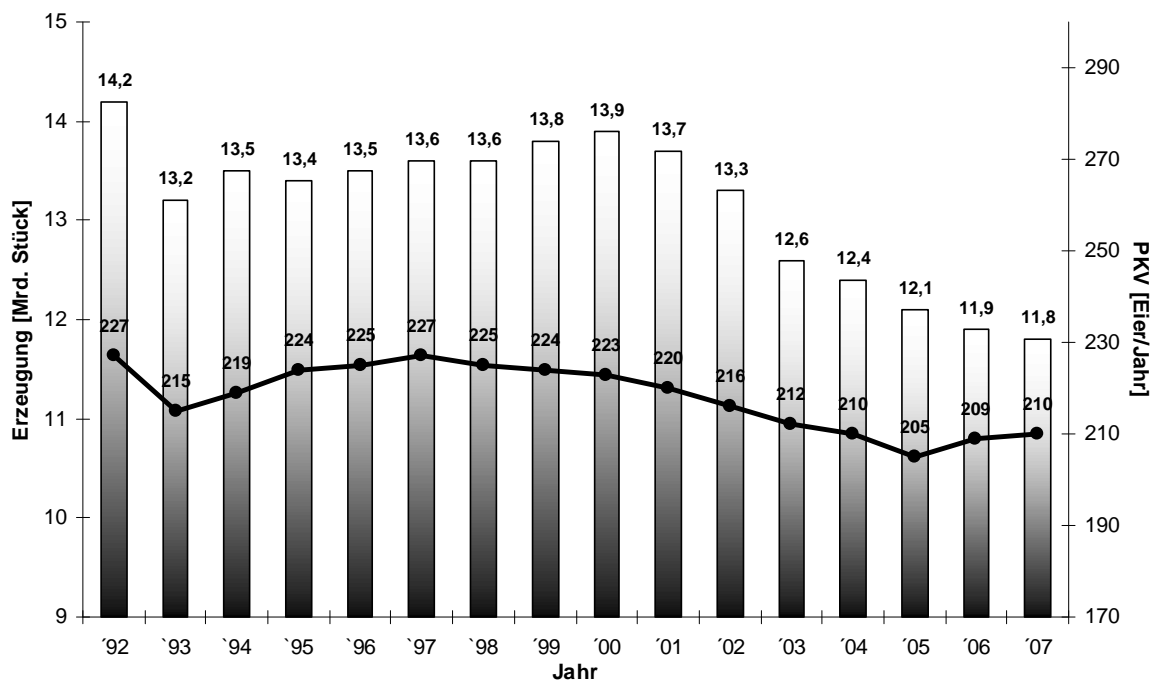


Abb. 2-4: Entwicklung des deutschen Eiermarktes in den Jahren 1992-2007 (modifiziert nach LEL 2009)

2.2 Eiprodukte

Die BRD stellt bei weltweiter Betrachtung einen der attraktivsten Märkte für Veredelungsprodukte dar und gilt, nach Frankreich, als größter Exporteur von Trockeneigelb [vTI 2008]. Durch die Umsetzung der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung (vgl. Kapitel 2.1.4.1) wird in den nächsten Jahren für Deutschland unter anderem mit folgenden Konsequenzen gerechnet [WINDHORST 2003]:

- Selbstversorgungsgrad für Eier wird sich auf etwa 35 % halbieren,
- bei vorausgesetztem, gleichbleibendem Pro-Kopf-Verbrauch werden die Eier-Importe von ca. 4,8 Mrd. Stück auf 10,8 Mrd. Stück steigen.

Ausgehend von einer wachsenden Bedeutung von Convenience-Produkten, was beispielsweise am deutlich gestiegenen Einsatz von getrockneten Volleprodukten in der Lebensmittelindustrie in den letzten Jahren festgemacht werden kann [FRANKE 2002], wird auch in den kommenden Jahren mit steigenden Produktionsmengen für Eiprodukte gerechnet [vTI 2008]. Abbildung 2-5 bietet einen umfassenden Überblick über die auf dem Markt erhältlichen Eiprodukte.

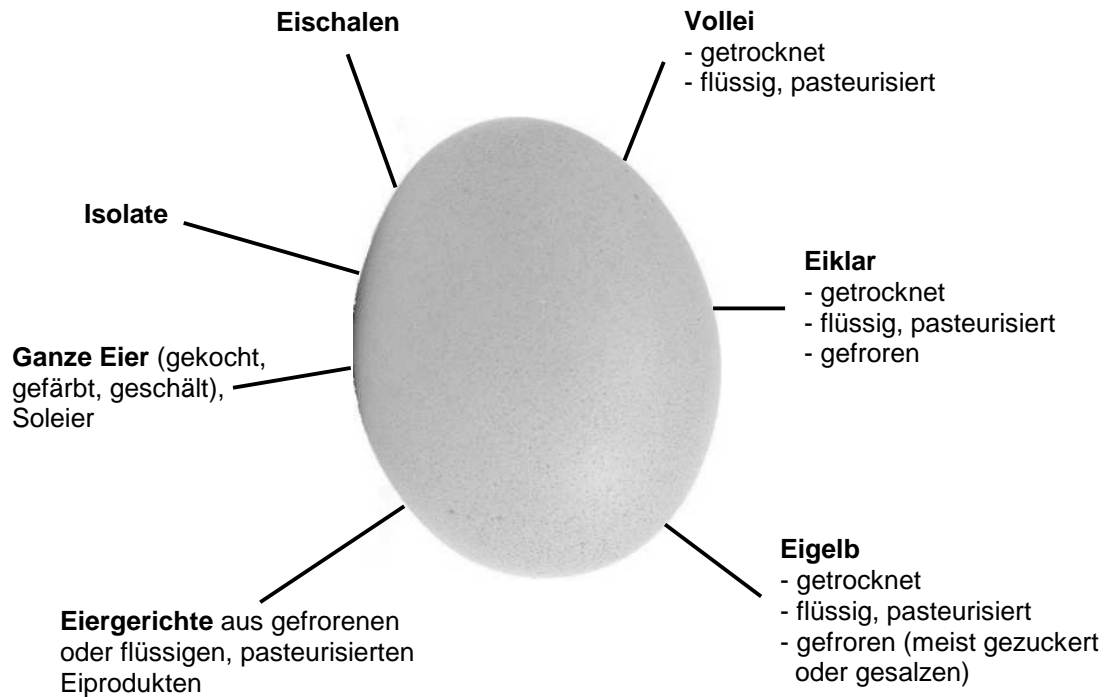


Abb. 2-5: Überblick Eiprodukte (modifiziert nach vTI 2008)

Neben der Farb- und Geschmacksgebung werden Eiprodukte insb. wegen ihrer technofunktionellen Eigenschaften in zahlreichen Lebensmitteln eingesetzt. Einen Einblick in typische Anwendungen von ausgewählten Eiprodukten gewährt Tabelle 2-7.

Tab. 2-7: Anwendungsgebiete von ausgewählten Eiprodukten (modifiziert nach vTI 2008)

Eiprodukt	Anwendungen
Vollei (pasteurisiert)	Teigwaren, Backwaren, Eierstich, Rühreier, Crème brûlée, Bindemittel für Farcen und Crèmes
Trockenvollei (1 Teil Pulver wird mit 3 Teilen Wasser gelöst)	Backwaren z. B. ready-for-use, in Pulver für Pfannkuchen
Eigelb (pasteurisiert)	Mayonnaise, Backwaren, aufgeschlagene Saucen (z. B. Sauce Hollandaise)
Trockeneigelb (1 Teil Pulver wird mit 1,2 Teilen Wasser gelöst)	Backwaren, Nudeln, Mayonnaise, Eiblock (Meterei), Suppen, Speiseeis
Eiklar (pasteurisiert)	Fleischwarenindustrie, Bäckereien, Schokolade, Süßwaren, Nougat, vorbehandeltes Eiklar für Eierschnee, Baiser, zum Klären von Brühen
Eiklar (kristallin) Eiklar (sprühgetrocknet)	Industrien (Lederwaren, Kronkorken, Leim), Eierschaumwaren (Schaumküsse)

2.2.1 Vollei

Flüssiges Vollei wird als Lockerungs- und Bindemittel in zahlreichen Speisen, z. B. Backwaren und Süßspeisen, als Rezepturbestandteil eingesetzt. Zudem trägt es maßgeblich zum Wohlgeschmack und zur Farbe bei. Zur industriellen Verwendung und Abtötung von Keimen wird flüssiges Eigelb bei etwa +62 °C bis +66 °C pasteurisiert, die Heißhaltezeit bewegt sich dabei zwischen 90 und 180 Sekunden. Bei exakter Prozessführung ist flüssiges pasteurisiertes Vollei, im Vergleich zu frischem Ei, ohne jegliche Qualitätseinbuße zu verwenden. Neben gekochten Eiern und Eierrollen (Meterei) zählen insb. tiefgekühlte Convenience-Produkte, wie Omelettes, Eierstich und Eierpatties, zu den bekanntesten Produkten auf Volleibasis. Die Convenience-Produkte unterscheiden sich mittlerweile sensorisch kaum mehr von frischen Eierzubereitungen [VTI 2008].

Volleipulver weist, je nach Herstellerangabe, mit 12 bis 36 Monaten eine deutlich verlängerte Haltbarkeit auf und stellt für die Produzenten eine große Herausforderung dar. Im Jahr 2002 kommt FRANKE zu dem Ergebnis, dass bereits geringe Änderungen der Parameter bei der Sprühtrocknung von Vollei einen entscheidenden Einfluss auf die späteren technofunktionellen Eigenschaften des Produktes haben können [FRANKE 2002]. Eine gezielte Ausnutzung der Trocknungsbedingungen und auch eine mikrobielle und enzymatische Einwirkung während des Herstellungsprozesses von Volleipulver können zu einer Optimierung von Folgeprodukten bzgl. ihrer Textur und Haltbarkeit führen [TERNES 1994].

2.2.2 Eigelb

Flüssiges, getrocknetes und gefrorenes Eigelb wird aufgrund seiner positiven Geschmacksbeeinflussung und technofunktionellen Eigenschaften, wie beispielsweise Emulsions- und Schaumbildung, Konsistenzgebung, Klebemittel und Farbgebung, bei der Zubereitung vieler Gerichte sehr geschätzt. Die Pasteurisation von Eigelb muss stets genau überwacht werden, da bereits kleine Änderungen der Temperatur einen entscheidenden Einfluss auf die Struktur diverser Eigelbproteine haben (Denaturierung). Während bei Temperaturen von unter +65 °C mit keiner negativen Beeinflussung zu rechnen ist, lösen Temperaturen von +66 °C bis +72 °C die Denaturierung erster Proteinfractionen (Livetine) unter Bildung eines Netzwerkes aus. Temperaturen über +75 °C führen zur Ausbildung eines schnittfesten Geles [VTI 2008]. Folglich wird Eigelb üblicherweise bei Temperaturen von +61 °C bis +68 °C pasteurisiert, die Heißhaltezeiten liegen zwischen 30 und 120 Sekunden. Bei

aseptischer Verpackung und Lagerung bei +4 °C ist eine Haltbarkeit von bis zu 6 Wochen möglich [TERNES 2005].

Sprühgetrocknetes Eigelbpulver weist nach Herstellerangaben eine Haltbarkeit von bis zu 24 Monaten auf [MIELKE 2008]. Dessen technofunktionelle Eigenschaften, insb. das Schaumbildungs- und Emulgiervermögen, sind aufgrund des thermischen Einflusses während der Trocknung jedoch deutlich schlechter. Eine enzymatische Vorbehandlung des zu trocknenden Eigelbes mit Phospholipase A führt zu merklich stabileren Folgeprodukten und ist mittlerweile vor allem bei der Herstellung von Mayonnaise unverzichtbar [TERNES 1994]. Weitere typische Vertreter für die Verwendung von Eigelbprodukten sind Feinkostprodukte und Eierlikör. In den USA sind cholesterinreduzierte Eigelbprodukte auf dem Markt, denen bei der Herstellung mittels β -Cyclodextrinen oder überkritischem CO₂ das Cholesterin weitestgehend entzogen wird.

Um beim Einfrieren von Eigelb die Ausbildung eines puddingartigen, die technofunktionellen Eigenschaften der Inhaltsstoffe verändernden Geles zu verhindern, ist ein schnelles Durchschreiten des Temperaturbereiches von -7 °C bis -18 °C unerlässlich. Ein entsprechendes Sandwichplattenkontaktgefrierverfahren zur Verhinderung der Gelbildung der LDL-Mizellen entwickelt JAEKEL im Jahr 2008 [JAEKEL 2008]. Durch Gefriertrocknung des so eingefrorenen Eigelbes ist, unter Beachtung eines maximalen Wassergehaltes von 4 % bei der Temperaturerhöhung bei Haupt- oder Nach Trocknung, eine Fixierung der hervorragenden technofunktionellen Eigenschaften von Eigelb möglich. Aus ökonomischen Gründen erscheint die Gefriertrocknung von Eigelb jedoch nur für hochpreisige Folgeprodukte sinnvoll [KROELL 1989]. Des Weiteren besteht die Möglichkeit, die Gelbildung durch Vorbehandlung des Eigelbes mit Lecithinase A oder proteolytischen Enzymen bzw. durch Zusätze von 2 % bis 10 % Natriumchlorid oder 8 % bis 10 % Saccharose zu hemmen oder gar zu verhindern [SCHUCHMANN 2005].

2.2.3 Eiklar

Flüssiges und getrocknetes Eiklar wird vor allem wegen seiner schaumbildenden Eigenschaften zur Herstellung von Baiser und Eischnee verwendet, wird aber auch zur Bindung und Stabilisierung von zahlreichen Lebensmitteln eingesetzt. Die Pasteurisation von Eiklar ist durch Temperaturen zwischen +56 °C und +58 °C und Heißhaltezeiten von 120 bis 180 Sekunden gekennzeichnet. Durch gezielte

Pasteurisation, Aktivierung antimikrobiell wirksamer Proteine und aseptische Verpackung ist eine Haltbarkeit von mehreren Monaten möglich [VTI 2008].

Die Sprühtrocknung ist das gängigste Verfahren zur Herstellung von Eiklarpulver und mittlerweile soweit optimiert [LECHEVALIER 2007, HAMMERSHØJ 2004], dass die technofunktionellen Eigenschaften von frischem Eiklar weitgehend erhalten bleiben. Bei luft- und lichtdichter Verpackung ist die Funktionalität und die Qualität der Pulver über mehrere Jahre hinweg gewährleistet [KROELL 1989]. Vor der Sprühtrocknung wird das Eiklar zur Vermeidung von Maillardprodukten entzuckert und aus ökonomischen Gründen auf einen Trockenmassegehalt von maximal 18 % bis 22 % mittels Membran-/Ultrafiltration aufkonzentriert [VTI 2008]. Die Entzuckerung kann durch drei Verfahren erfolgen: Fermentation mit Hefen, Fermentation mit Bakterien und enzymatische Fermentation mittels Glucoseoxidase und Katalase [KROELL 1989].

2.2.4 Isolate aus Eigelb und Eiklar

In Eigelb und Eiklar können zahlreiche Minorkomponenten mit unterschiedlichsten Wirkungen detektiert werden, deren Isolierung im Industriemaßstab erfolgt. Zu den bekanntesten Vertretern gehört Lecithin.

Pro Jahr werden in Europa mehr als 300 Tonnen Lecithin aus Eigelb gewonnen. Allein in den Jahren zwischen 1995 und 2002 ist der Markt für Eilecithin um über 300 % gestiegen [VTI 2008]. Das gewonnene Lecithin wird zu 70 % in der Lebensmittelindustrie eingesetzt und zu je 15 % im Klinischen Bereich und der Kosmetikindustrie [LANGE 2007]. Darüber hinaus sind in den Eigelb-Livetinen Immunglobuline enthalten, die in der Lage sind, die Aktivität kariesverursachender Mikroorganismen zu senken. Zudem werden die Lipoproteine des Eigelbes bei der Kultivierung bestimmter tierischer Zellen zugesetzt. Aus dem Eigelb, aber auch den Hagelschnüren, kann N-Acetylneuraminsäure gewonnen werden, welche im pharmazeutischen Bereich verbreitet eingesetzt wird [VTI 2008, HARTMANN 2001].

Zu den industriell bedeutsamsten Isolaten aus Eiklar zählen Lysozym, Conalbumin und Avidin. Während Lysozym aufgrund seiner Fähigkeit, bestimmte Polysaccharide in den Zellwänden von Prokaryoten spalten zu können, vor allem in der Kosmetikindustrie und bei der Produktion von Hartkäse als Konservierungsmittel genutzt wird, dienen Conalbumin und Avidin speziell in der Chromatographie der Bindung von Schwermetallen (Conalbumin) bzw. der Bestimmung von Biotin (Avidin) [VTI 2008, HAYAKAWA 2008].

Darüber hinaus sind zahlreiche weitere Ei-Minorkomponenten mit interessanten Eigenschaften bekannt, deren industrielle Nutzung aber noch nicht vorangeschritten ist. Dazu gehören bestimmte Peptide mit blutdrucksenkender Wirkung bzw. Proteine zur Herstellung von biologisch abbaubaren Kunststoffen [LÓPEZ-FANDIÑO 2006, GUERRERO 2006].

2.2.5 Eischalen

Gemahlene Eischalen finden in der Zementindustrie als Calciumquelle Anwendung und werden als kostengünstige Alternative zur Anreicherung von Tierfutter mit Calcium eingesetzt. Des Weiteren existieren Konzepte zur energieeffizienten Herstellung von hochreinem Kalk aus Eischalen unter Verwendung von Höckern (Pappen zur Verpackung der Eier) als Brennmaterial [GODTHAAB 2008]. Ebenso könnten in Zukunft bestimmte Eischalen-Membranproteine für allem für den Einsatz im pharmazeutischen Bereich, z. B. Collagen Typ 1 und Collagen Typ 10, auch im Industriemaßstab aus Eischalen isoliert werden; entsprechende Patente existieren bereits (PCT/US98/05315, WO 98/41326). Eischalen-Membranen bestehen zu ca. 10 % aus Collagen.

2.3 Carotinoide

Der Begriff Carotinoide fasst eine Gruppe in der Natur vorkommender Farbstoffe zusammen, die den „sekundären Pflanzenstoffen“ zugeordnet werden und deren bekanntester Vertreter das β -Carotin ist. Über 700 verschiedene Carotinoide, welche aufgrund der enzymatischen Ausstattung nur von Pflanzen, Pilzen, Algen und Bakterien synthetisiert werden können, sind bislang bekannt [CORTÉS 2004]. Zur *de novo*-Synthese von Carotinoiden über die Bausteine Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) bzw. Isopentenylpyrophosphat (IPP) und die Zwischenprodukte Geranylgeranylpyrophosphat (GGPP), Phytoen, *all-E*- γ -Carotin und *all-E*-Lycopin, welches den Ausgangspunkt zur Synthese von *all-E*- α - und *all-E*- β -Carotin, aus welchen wiederum *all-E*- β -Cryptoxanthin, *all-E*-Zeaxanthin, *all-E*-Lutein und zahlreiche weitere Carotinoide hervorgehen, darstellt, sind zahlreiche Enzyme aus der Gruppe der Synthasen und Desaturasen notwendig, die im Tierreich jedoch nicht vorkommen.

Carotinoide sind für die charakteristische Färbung von Laubblättern verantwortlich, welche im Herbst erst nach dem Abbau des dunkelgrünen Chlorophylls zum Vorschein kommt. Des Weiteren tragen Carotinoide wesentlich zur Farbgebung

zahlreicher Samen, Pollen und Früchte bei. So ist die rote Farbe von Tomaten im Wesentlichen auf die Anwesenheit von Lycopin, und die orange Farbe von diversen Citrusfrüchten auf das gemeinsame Auftreten von Violaxanthin, Neoxanthin, Cryptoxanthin und diversen Carotinen zurückzuführen [CORTÉS 2004].

Darüber hinaus verleihen Carotinoide auch Blumen, z. B. Narzissen, ihre typische Farbe und tragen im Tierreich wesentlich zur Farbgebung von Vögeln (Grasmücke, Dompfaff, Kanarienvogel, Flamingo), Insekten (Marienkäfer) und Meeresbewohnern (Krill, Krebs, Lachs) bei.

Carotinoide bestehen rein strukturell aus Kohlenwasserstoffketten und deren Oxidationsprodukten. Es werden dabei die *sauerstofffreien* Carotine von den *sauerstoffhaltigen* Xanthophyllen unterschieden.

2.3.1 Wirkungen

Die sicherlich bekannteste Wirkung von Carotinoiden ist die Wirkung als Provitamin A. Jedoch können bei Weitem nicht alle Carotinoide nach der Aufnahme in die Darm-Schleimhaut durch Oxygenasen im ersten Schritt in Retinal gespalten werden. Voraussetzung für die Spaltbarkeit in Retinal und somit für die Wirkung als Provitamin A ist das Vorhandensein eines unsubstituierten β -Ionon-Ringes im Carotinoid-Molekül. Dies trifft für zahlreiche Carotine, insb. α - und β -Carotin, zu, jedoch nur für wenige Xanthophylle. In Tabelle 2-8 werden die Vitamin A-Aktivitäten ausgewählter Carotinoide dargestellt.

Tab. 2-8: Vergleich der relativen Vitamin A-Aktivität ausgewählter Carotinoide mit der von β -Carotin (modifiziert nach SURAI 2001)

Carotinoid	relative Vitamin A-Aktivität [%]
β -Carotin	100
9-Z- β -Carotin	38
13-Z- β -Carotin	53
α -Carotin	50 - 54
γ -Carotin	42 - 45
β -Cryptoxanthin	50 - 60
β -Apo-8'-Carotinal	66 - 72
Citranaxanthin	44 - 56

Von den zur Fütterung von Legehennen acht zugelassenen Xanthophyllen (vgl. Kapitel 2.1.4.4) sind allein β -Apo-8'-Carotinal, β -Apo-8'-Carotinsäureethylester, Citranaxanthin und β -Cryptoxanthin als Substanzen mit Provitamin A-Wirkung zu nennen. Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und Capsanthin zeigen keinerlei Wirkung als Provitamin A, da sie keinen unsubstituierten β -Ionon-Ring im Molekül aufweisen. Abbildung 2-6 gibt einen Überblick über die Strukturformeln aller acht zur Fütterung von Legehennen zugelassenen Xanthophylle.

Trotz der großen Anzahl an bekannten Carotinoiden liegt bis zum jetzigen Zeitpunkt nur der Nachweis von 25 davon und 9 daraus gebildeten Metaboliten im Körper des Menschen vor. Als bevorzugte Speicherorte sind dabei die Leber, das Fettgewebe und das Blutserum zu nennen, und insb. für die Xanthophylle Lutein und Zeaxanthin das Auge [KHACHIK 2002].

Während Carotinoiden im Pflanzenreich neben der Wirkung als Farbstoff zweifellos eine entscheidende Rolle bei der Photosynthese zukommt, indem sie Chlorophyllmoleküle vor irreversibler Zerstörung durch Photooxidation schützen und zudem am Energietransfer beteiligt sind, entfalten sie im Körper des Menschen zahlreiche weitere Wirkungen [BRITTON 1995].

Dazu zählen:

- möglicher Einfluss auf die Signalleitung auf zellulärer Ebene [STAHL 2002, STAHL 1997],
- mögliche anticancerogene Wirkung [LIAN 2006, GIOVANNUCCI 2002, MAYNE 1996],
- mögliche antioxidative Aktivitäten [GALANO 2010, BÖHM 1998],
- Schutz der Haut vor UV-Strahlung [SIES 2004, HEINRICH 2003],
- möglicher Schutz vor altersbedingter Maculadegeneration (AMD) [CARPENTIER 2009, RHONE 2008].

Als Verursacher dieser Wirkungen werden in nahezu allen Fällen alleinig die jeweiligen *all-E*-Formen der untersuchten Carotinoide hervorgehoben, über physiologische Wirkungen von *Z*-Isomeren im Körper des Menschen liegen bislang, wie SCHIEBER und UPDIKE betonen, keine Nachweise vor [SCHIEBER 2005, UPDIKE 2003]. Das mögliche Potenzial von *Z*-Isomeren belegen in vitro-Studien von VENUGOPALAN und BÖHM [VENUGOPALAN 2009, BÖHM 2002], in welchen zum einen

eine höhere Kapazität von 9-Z-Canthaxanthin als von *all-E*-Canthaxanthin zur Induzierung des Zelltodes bestimmter Macrophagen, und zum anderen drei Z-Isomeren von Lycopin eine signifikant höhere antioxidative Kapazität (TEAC-Wert), im Vergleich zu *all-E*-Lycopin, nachgewiesen wird.

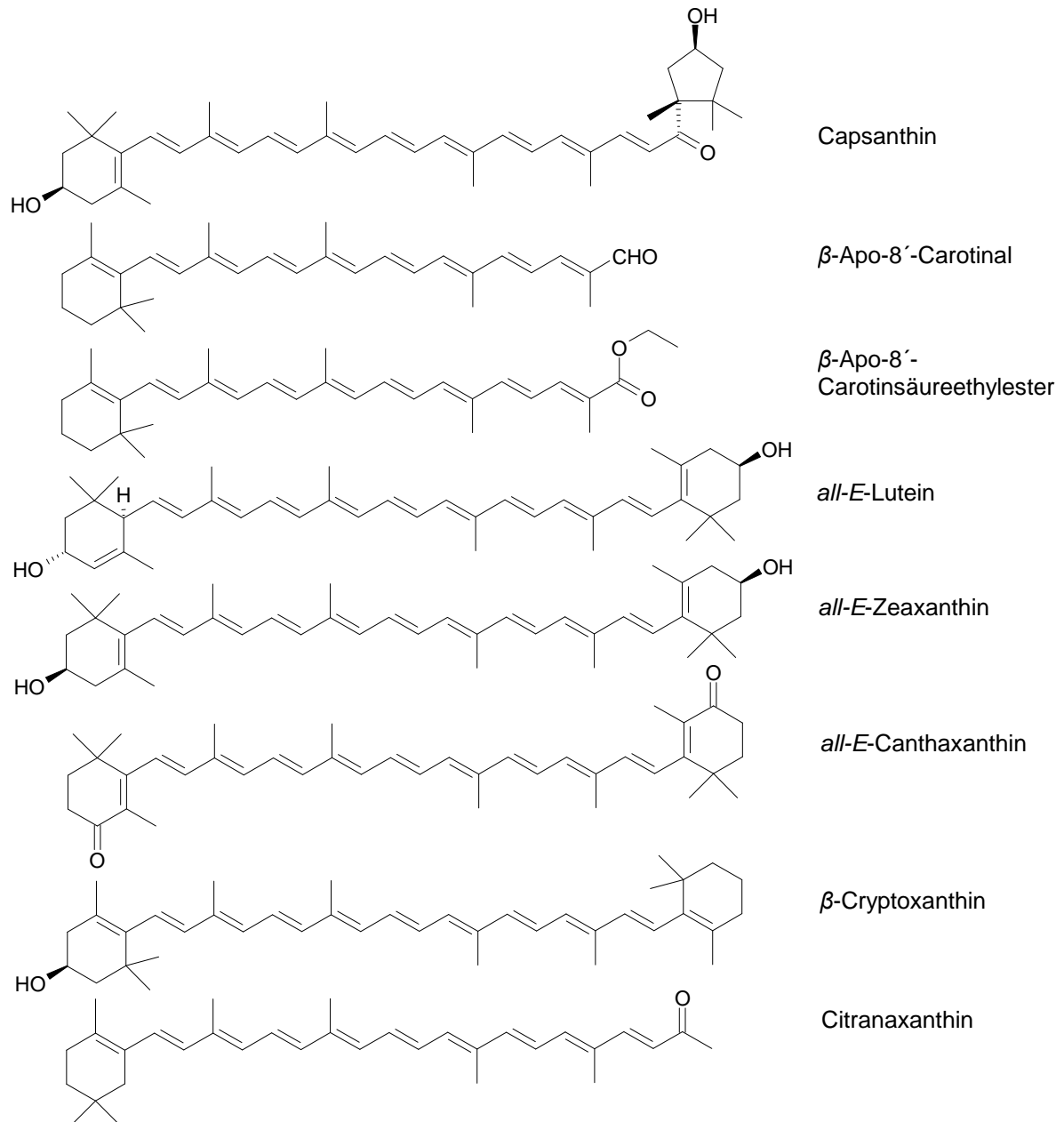


Abb. 2-6: Strukturformeln der zur Fütterung von Legehennen zugelassenen Xanthophylle

Die AMD ist eine Hauptursache für irreversible Blindheit älterer Menschen. Neuere Veröffentlichungen gehen davon aus, dass ungefähr 20 % der westlichen Bevölkerung im Alter von mehr als 65 Jahren an AMD leiden [KRINSKY 2003]. Die AMD, u.a. klinisch nachweisbar durch eine stark verschlechterte Seh- und Kontrastschärfe und Blutgerinsel im Auge, ist eine multifaktorielle Krankheit, bei deren Ausbruch genetische und Umweltfaktoren eine Rolle spielen [AUGUSTIN 2009]. Zahlreiche

Studien konstatieren einen protektiven Effekt einer Supplementation mit den Xanthophyllen Lutein und Zeaxanthin, da offensichtlich höhere Konzentrationen dieser Verbindungen im Blut mit einer vermehrten Ablagerung in der Retina des Auges einhergehen in Verbindung mit einem niedrigeren Risiko, an AMD zu erkranken [CARPENTIER 2009, RHONE 2008]. Der genaue Mechanismus, wie Lutein und Zeaxanthin das Augengewebe vor oxidativen Einflüssen schützen, ist dabei noch nicht geklärt. Laut einer Veröffentlichung von STAHL aus dem Jahr 2005 kommen zwei mögliche Mechanismen in Betracht. Zum einen könnten die Moleküle als Filter vor dem schädigenden Blauanteil des Lichtes wirken, zum anderen als Antioxidanzien fungieren zum Entschärfen reaktiver Sauerstoffspezies wie z. B. Hydroperoxiden oder Superoxidradikal-Anionen [STAHL 2005]. Es muss jedoch betont werden, dass nicht alle Carotinoide als protektive Substanzen zum Schutz vor AMD in Frage kommen, zudem auch Studien existieren, die keinen Zusammenhang zwischen Carotinoid-Supplementation und einem geringeren Erkrankungsrisiko nahelegen [JOHNSON 2010, MARES-PERLMAN 2001].

2.3.2 Stoffeigenschaften

Im folgenden Abschnitt wird auf die Stabilität und die chemischen Eigenschaften von Carotinoiden eingegangen. Ebenso erfolgt eine kurze Betrachtung der Nachweismöglichkeiten dieser Substanzen, welche sich aus den chemischen Eigenschaften ergeben.

2.3.2.1 Stabilität

Carotinoide gelten als vergleichsweise instabile Substanzen, die unter dem Einfluss von Wärme, Sauerstoff, Licht, Säure und Metallionen (z. B. zweiwertiges Eisen und Kupfer) abgebaut werden und dabei oftmals isomerisieren [MELÉNDEZ-MARTÍNEZ 2009, LI 2008, ZHAO 2005, LIAAEN-JENSEN 1997]. In der Natur liegen Carotinoide aus Gründen der Stabilität oftmals in der *all-E*-Konformation vor [HADDEN 1999, GAO 1996]. Aufgrund ihrer Polyenstruktur mit konjugierten Doppelbindungen wirken Carotinoide als Radikalfänger und Antioxidanz und gehen dabei in verschiedene Isomerisierungs- und Oxidationsformen über. Bei Lagerung von Carotinoiden, sei es in Reinform oder als Bestandteil einer Lebensmittelmatrix, treten im Zuge der Lagerung oftmals signifikante Verluste auf, was neben der Isomerisierung vor allem mit einer Degradation der Moleküle begründet werden kann [LIN 2005, SHEEHAN 1998]. Einflussgrößen auf die Erhaltung von Carotinoiden können neben der Zeit

(Lagerdauer) die Lagertemperatur, Lichtverhältnisse, pH-Wert und das Vorhandensein von Antioxidanzien sein [SHI 1997]. Dass diese Einflussgrößen zusammen nicht immer zu einem erwarteten Verlauf der Carotinoidgehalte führen müssen, beschreibt CRAFT in einer Studie aus dem Jahr 1993 [CRAFT 1993]. Während 12-monatiger Lagerung von Carotinoitmischungen ergeben sich bei Betrachtung der Lagertemperaturen -20 °C und $+4\text{ °C}$ keine signifikanten Unterschiede ($P > 0,05$) in den Gehalten an Lutein, Zeaxanthin, β -Cryptoxanthin, α - und β -Carotin und Lycopin. XIANQUAN konstatiert im Jahr 2005 sogar, dass, im Falle von sprühgetrocknetem Tomatenpulver, niedrigere Temperaturen, ebenso wie sehr niedrige Wasseraktivitäts-Werte und Feuchtigkeits-Level, einen pro-oxidativen und damit schädigenden Einfluss auf die Stabilität von Lycopin haben können und begründet dies unter anderem mit einer verbesserten Sauerstoff-Löslichkeit bei niedrigeren Temperaturen [XIANQUAN 2005]. Laut AMAN kann wegen des komplexen Isomerisierungsverhaltens die in einem System beobachtete Stabilität jedes einzelnen Carotinoides nicht ohne Weiteres auf eine andere Matrix übertragen werden [AMAN 2005].

2.3.2.2 Chemische Eigenschaften und Nachweis

Bei rein chemischer Betrachtung handelt es sich bei Carotinoiden um unpolare polymere Isoprenderivate, die im Reinstzustand üblicherweise von fester, kristalliner Struktur sind und Schmelzpunkte zwischen $+130\text{ °C}$ und $+180\text{ °C}$ aufweisen und welche sich allesamt von einer Ausgangsverbindung mit der Summenformel $C_{40}H_{56}$, dem Lycopin, ableiten lassen. Aufgrund von Hydrierung, Dehydrierung, Cyclisierung bzw. der Inkorporation funktioneller Gruppen, wie Carbonyl-, Hydroxyl- und Epoxygruppen, entstehen unzählige weitere Carotinoide mit unterschiedlicher Polarität und entsprechend unterschiedlichem Löslichkeitsverhalten. Xanthophylle gelten dabei wegen ihrer oftmals vorhandenen Hydroxylgruppen als vergleichsweise polar bzw. hydrophil, Carotine als unpolar bzw. lipophil (vgl. Abbildung 2-6).

Der Nachweis einzelner Carotinoide kann problemlos über die Nutzung eines Fotometers erfolgen, da alle Carotinoide aufgrund zahlreicher konjugierter Doppelbindungen im Molekül charakteristische Absorptionsspektren aufweisen. Diese liegen typischerweise im nahen UV-Bereich bzw. visuellen Bereich (300 nm bis 500 nm). Liegen jedoch, wie es biologischen Matrices üblich ist, Gemische von Carotinoiden vor [CORTÉS 2004, SHEEHAN 1998], ist zum Erzielen einer qualitativen

und quantitativen Aussage eine Auftrennung der einzelnen Substanzen mittels HPLC unerlässlich. Aufgrund einer zu geringen Selektivität ist es dabei nicht sinnvoll, HPLC-Säulen mit C18-Material zu nutzen, da oftmals schon die Trennung der Stereoisomere Lutein und Zeaxanthin unbefriedigend ist. Die Nutzung spezieller C30-Säulen erlaubt bei entsprechender Wahl und Kenntnis der Eluenten eine problemlose Trennung der einzelnen Haupt-Carotinoide und auch deren Isomere [SCHLATTERER 2006, SANDER 2000, DACHTLER 1998].

Um Carotinoide unterschiedlicher Polarität komplett aus Matrices zu extrahieren, werden oftmals Lösungsmittelgemische auf Basis von Aceton, Hexan, Leicht-Petroleum, Ethanol, Ethylacetat, Methanol, Trichlormethan, Wasser und *tert*-Butylmethylether (TBME) in unterschiedlichen Zusammensetzungen und Mischungsverhältnissen genutzt [SHEN 2009, SCHLATTERER 2006]. Um reproduzierbare Ergebnisse bei der Extraktion zu liefern, ist ein vollständiges Herauslösen der Carotinoide aus dem Probenmaterial notwendig, was oftmals an der Farblosigkeit des Extraktionsrückstandes erkennbar ist. Der Einsatz von Ultraschall bei der Extraktion, auch bei der Extraktion von Carotinoiden aus Eigelb, hat sich dabei in den letzten Jahren eindrucksvoll bewährt [YUE 2006, MASON 1996].

Da Xanthophylle in biologischen Matrices nicht nur ungebunden vorliegen, sondern auch an andere Inhaltsstoffe assoziiert sind, z. B. verestert mit einer oder mehreren Fettsäure(n), zählt die Verseifung zu den typischen Prozessschritten im Rahmen der Probenaufarbeitung carotinoidreicher Proben [PANFILI 2004]. Neuere Studien belegen jedoch, dass dieser Prozessschritt aufgrund der Einflüsse von Hitze, pH-Wert und Sauerstoff zu einer signifikanten Degradation der Xanthophylle führen kann und daher wohlbedacht eingesetzt werden muss [MUZHINGI 2008, LARSEN 2005]. Neben der klassischen (zeitintensiven) Verseifung mittels wässriger Lösungen von Hydroxiden existieren auf dem Markt diverse Kurz-Anleitungen bzw. Verfahren und Hilfsstoffe, z. B. basische Anionen-Austauscherharze, welche durchaus zu hervorragenden Extraktionsresultaten führen können, deren Einsatz aber auf die konkrete Lebensmittelmatrix abgestimmt werden muss [LARSEN 2005, GRANADO 2001].

Aufgrund der Empfindlichkeit der Xanthophylle sollte die Probenaufarbeitung, insb. die Extraktion, so wenig Zeit wie möglich in Anspruch nehmen und dabei dennoch vollständig, zuverlässig und reproduzierbar sein. Der Einsatz von Ultraschall im

Rahmen der Extraktion kann in diesem Zusammenhang einen sehr guten Ansatzpunkt bieten, wenngleich bei inadäquatem Einsatz Degradations- und Isomerisierungseffekte der Xanthophylle möglich sind [ZHAO 2006]. In Abbildung 2-7 wird, stellvertretend für alle Xanthophylle und anhand der Strukturformeln der am häufigsten in der Natur vorkommenden geometrischen Isomere von Lutein, das komplexe Isomerisierungsverhalten dargestellt.

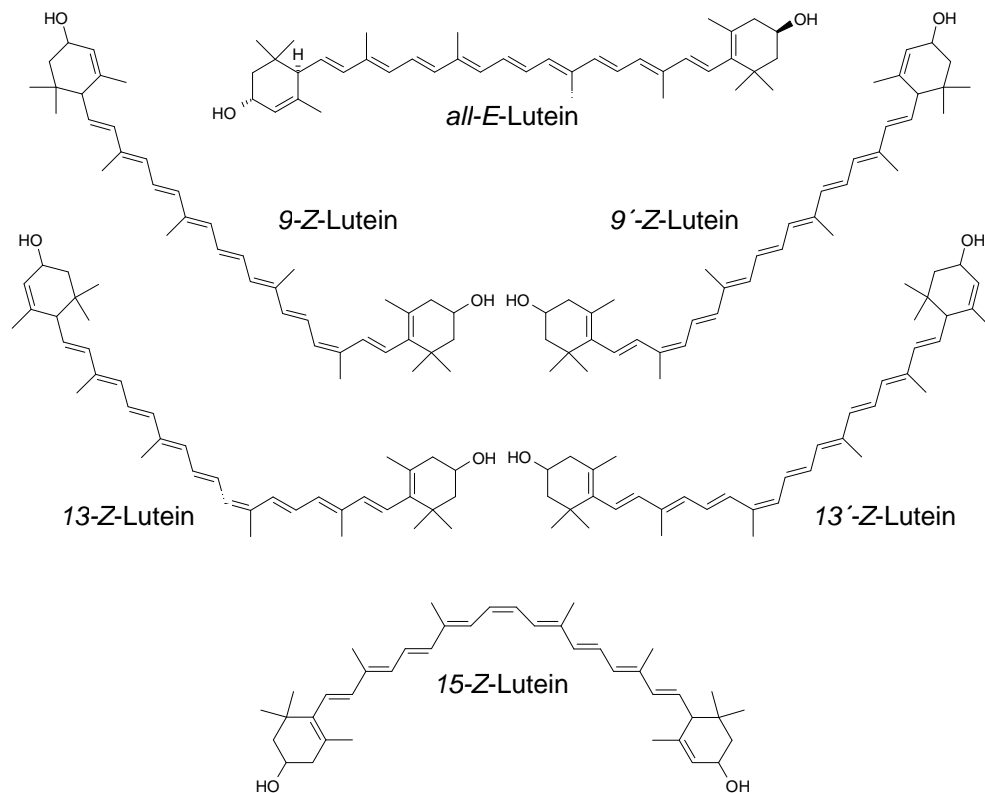


Abb. 2-7: Strukturformeln der am häufigsten in der Natur vorkommenden geometrischen Isomere von Lutein

Bei der Absicherung der Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Determination von Xanthophyllen mittels HPLC hat sich die Kopplung an ein Massenspektrometer bewährt, da diese eine massenspezifische und sehr sensitive Detektionsmethode repräsentiert [BUDZIKIEWICZ 2005]. Bei der Identifikation von unbekanntem Z-Isomeren im Probenmaterial, aber auch beim Vorliegen geringster Mengen an Xanthophyllen im Probenmaterial ohne Aussicht auf Identifikation mangels fehlender Standardsubstanzen bzw. sehr schwacher Absorptionsspektren, kann der Einsatz der LCMS sehr hilfreich sein. Zudem kann der Nachweis einzelner hochlabiler Verbindungen bzw. Substanzen mit identischer Molekülmasse, wie z. B. im Falle der Konstitutionsisomere Lutein und Zeaxanthin, erst über den Nachweis charakteristischer Massenfragmente erfolgen [ABDEL-AAL 2007, SCHLATTERER 2006].

Massenspektrometrische Untersuchungen von Carotinoiden gestalten sich oftmals schwierig, weil deren Ionisierbarkeit als schlecht einzustufen ist. Dies liegt in deren hoher Labilität und Flüchtigkeit, aber auch in deren geringer Polarität begründet. Von einer Eignung der Ionisierungstechnik wird dann gesprochen, wenn auf der einen Seite vergleichbar hohe Mengen an Eluenten verdampft werden können (Flussraten von mehr als 1,0 ml/min), auf der anderen Seite die unpolaren Analyten weitestgehend ohne Fragmentierung ionisiert werden.

Zur Charakterisierung von Carotinoiden mittels LCMS sind prinzipiell die Electrospray-Ionisierung (ESI) und die Chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck (APCI) geeignet [EITENMILLER 2008], jedoch sind bei beiden Techniken polare Moleküle zur Ionisierung der Carotinoide notwendig. Die ESI-Technik, welche tendenziell besser zur Analyse polarer Substanzen, wie z. B. Flavonoiden [INBARAJ 2010] und Tocopherolen [BUSTAMANTE-RANGEL 2007], geeignet ist, und bei Flussraten von 1 ml/min an ihre Grenzen stößt, erfordert zudem den Zusatz spezieller polarer Hilfsreagenzien, wie z. B. Eisessig oder Ammoniak [VAN BREEMEN 1995]. Die Nutzung der APCI-Technik macht hingegen keine polaren Additive erforderlich. Das Vorhandensein der polaren mobilen HPLC-Phase mit Methanol und Wasser im Eluentensystem reicht aus, um eine hervorragende Ionisierung zu erhalten [ABDEL-AAL 2007, SCHLATTERER 2006]. Ein weiterer großer Vorteil der APCI-Technik liegt in der Anwendbarkeit von Flussraten von deutlich mehr als 1 ml/min. In einer Studie aus dem Jahr 2008 zur Untersuchung der Carotinoid-Zusammensetzung von Orangensaft findet beispielsweise eine Flussrate von 2,5 ml/min Anwendung [DUGO 2008].

Carotinoide weisen bei Betrachtung ihrer UV-Spektren oftmals eine sogenannte 3-Finger-Konstellation auf (vgl. Abbildung 2-8). Unter diesem wird das gemeinsame Auftreten eines Hauptmaximums (Bande II) und zweier Nebenmaxima verstanden, wobei je eines bei niedrigerer (Bande I) und eines bei höherer Wellenlänge (Bande III) auftreten. Das erste Nebenmaximum (Band I) kann unter Umständen auch sehr schwach ausgeprägt und sogar nur als Schulter vorhanden sein. Aufgrund der Lage der Banden I, II und III und vor allem der Verhältnisse der Peakhöhen der Banden I/II und III/II sind Rückschlüsse auf die Struktur des entsprechenden Carotinoids möglich (vgl. Tabelle 2-8). In seiner Dissertation aus dem Jahr 2001 fasst GLASER die Regelungen, die für die Feinstruktur und die Lage der Absorptionsbanden gelten, wie folgt zusammen [GLASER 2001] – eine Auswahl:

- Je mehr konjugierte Doppelbindungen im Molekül vorhanden sind, desto mehr verschiebt sich Bande II hin zu höheren Wellenlängen (Phytoen mit 3 konjugierten Doppelbindungen: 286 nm, ζ -Carotin mit 7 konjugierten Doppelbindungen: 400 nm, Lycopin mit 11 konjugierten Doppelbindungen: 470 nm).
- Z-Stereoisomere weisen, im Vergleich zum adäquaten *all-E*-Molekül, eine schwach hypsochrome Verschiebung der Banden I, II und III von je 2 nm bis 6 nm auf. Die Feinstruktur wird dabei reduziert und eine neue, Z-Bande tritt mit etwa $\lambda_{\max, Z} = \lambda_{\max, III} - 140$ nm auf (vgl. Abbildung 2-8), wobei diese aufgrund der Änderung der Molekülsymmetrie von *all-E* nach Z zustande kommt.
- Je näher die Z-Bindung in die Mitte des Moleküls rückt, desto intensiver ist die Z-Bande. Eine Doppel-Z-Bande gibt einen Hinweis auf acyclische oder monocyclische Carotinoide, symmetrische Di-Z-Carotinoide zeigen hingegen keine Z-Bande.
- Die Spektren von z. B. Zeaxanthin (2 Hydroxylgruppen) und β -Carotin (keine Hydroxylgruppe) sind deswegen nahezu identisch, da eine oder mehrere Hydroxylgruppe(n) keinen Einfluss auf das Chromaphor haben.

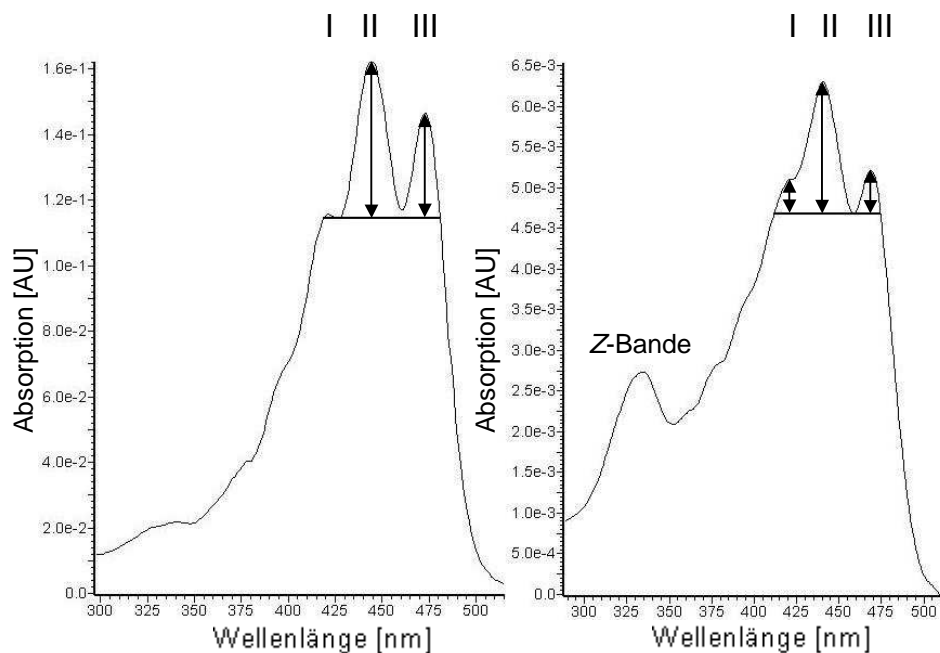


Abb. 2-8: Absorptionsspektren von *all-E*-Lutein und *13-Z*-Lutein

Festzuhalten bleibt auch, dass die Wahl der Eluenten einen großen Einfluss auf die Lage und Ausprägung der Absorptionsbanden hat (vgl. Tabelle 2-9). Von einer alleinigen Identifikation unbekannter Isomere von Carotinoiden mittels aus der Literatur bekannter UV-Spektren muss daher abgeraten werden [GLASER 2001].

Tab. 2-9: Einfluss des Lösungsmittels auf die Lage der Absorptionsmaxima ausgewählter Isomere von Lutein und Zeaxanthin (nach KHACHIK 1992) und deren Bandenverhältnisse (nach DACHTLER 2001)

Carotinoid	Absorptionsmaxima der Banden I, II und III [nm]			Verhältnis III/II [%]
	Hexan	Ethanol	Dichlormethan	
<i>all-E</i> -Lutein	333 444 473	333 445 474	337 455 484	60,6
9- <i>Z</i> -Lutein	330 439 468	332 440 469	336 449 478	65,1
9'- <i>Z</i> -Lutein	329 440 468	331 441 469	337 450 478	56,9
13- <i>Z</i> -Lutein	330 438 466	332 439 467	337 447 475	30,2
13'- <i>Z</i> -Lutein	330 438 466	332 439 467	337 447 475	34,8
15- <i>Z</i> -Lutein	330 441 469	332 442 473	337 451 479	k. A.
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	338 451 477	340 452 478	347 461 489	23,9
9- <i>Z</i> -Zeaxanthin	342 445 473	344 448 473	351 456 485	33,3
13- <i>Z</i> -Zeaxanthin	337 443 470	339 446 472	345 454 481	12,4

k. A. keine Angabe

2.3.3 Carotinoidgehalte ausgewählter Lebensmittel

Aufgrund von Biodiversität und der gleichzeitigen großen Bandbreite an Carotinoiden (s. Kapitel 2.3) weisen selbst Studien an vergleichbaren biologischen Matrices und dem Ziel einer qualitativen und/oder quantitativen Bestimmung immer wieder große Schwankungen auf. Am Beispiel von frischem Orangensaft kann diese Aussage nachvollzogen werden (s. Tabelle 2-10).

Tab. 2-10: Mittelwerte ausgewählter Carotinoide in 100 ml frischem Orangensaft

Quelle	Gehalt in µg/100 ml frischem Orangensaft			
	α-Carotin	β-Carotin	β-Cryptoxanthin	Lutein
MELÉNDEZ-MARTÍNEZ 2003	11	21	69	k. A.
SÁNCHEZ-MORENO 2003	49	61	314	766
MOULY 1999	19 *	33 *	203 *	87 *
	25 **	38 **	175 **	68 **
	9 ***	12 ***	33 ***	36 ***

k. A. keine Angabe, * Spanien, ** Israel, *** Belize

Des Weiteren existieren zu zahllosen Matrices pflanzlichen- und tierischen Ursprungs jeweils mehrfach Ergebnisse wissenschaftlicher Untersuchungen zur Bestimmung der entsprechenden Carotinoidgehalte, welche auch von Zeit zu Zeit in mühevoller Kleinarbeit zu umfassenden Review-Artikeln zusammengefasst werden [MAIANI 2009, THURNHAM 2007].

Einzelne quantitative Angaben zu Carotinoiden in Hühnereiern werden unter anderem von SCHLATTERER im Jahr 2006, MAJCHRZAK im Jahr 1997 und OLLILAINEN im Jahr 1989 veröffentlicht [SCHLATTERER 2006, MAJCHRZAK 1997, OLLILAINEN 1989]. Da jedoch, wie in Kapitel 2.1.4.3 gezeigt, die Zusammensetzung und damit die quantitative Ausprägung der Carotinoide im Ei vor allem von der Fütterung bzw. Haltungsform der Legehennen abhängen, sollte insb. letztere bei Veröffentlichungen von quantitativen Daten immer mit angegeben werden, um eine gewisse Vergleichbarkeit zu ermöglichen.

2.4 Pasteurisation

Die Pasteurisation als Form der thermischen Erhitzung zählt zu den gängigsten Methoden der Haltbarmachung von Lebensmitteln und beruht auf der Inaktivierung von Mikroorganismen bzw. Enzymen mit dem Ziel einer Verlängerung der Lagerungsstabilität und damit der Haltbarkeit. Im Gegensatz zur Sterilisation steht bei der Pasteurisation nicht die Abtötung aller Keime im Vordergrund, sondern die gezielte Reduzierung von den Mikroorganismen und Enzymen, welche im jeweiligen Lebensmittel bei Nicht-Ausschaltung zu einem raschen Verderb führen würden. Als großes Problem kann dabei angesehen werden, dass bei unzureichender Pasteurisation der Verderb des Lebensmittels voranschreitet, bei inadäquater Anwendung (z. B. Temperatur und Dauer zu hoch bzw. zu lang) es zu irreversiblen Beeinträchtigungen in der Struktur des Produktes, zum Verlust thermosensibler Nährstoffe und auch zur Bildung unerwünschter Aromen kommen kann [RAHMAN 2007].

2.4.1 Pasteurisation von Flüssigei und deren Wirkungen

Bei der Pasteurisation von Flüssigei werden je nach Anteil an Eiklar unterschiedliche Pasteurisationsbedingungen genutzt.

Für die Pasteurisation von Vollei werden Pasteurisationstemperaturen von +62 °C bis +66 °C empfohlen bei einer Heißhaltezeit von 90 Sekunden bis 180 Sekunden [VTI 2008]. Nach STADELMAN sollte gezuckertes Vollei bei +60,0 °C und gesalzenes Vollei bei +62,2 °C jeweils für 3,1 Minuten pasteurisiert werden. Dabei hebt er jedoch hervor, dass Zusätze wie Salz und Zucker die Hitzeresistenz der Mikroorganismen erhöhen [STADELMAN 1995]. Üblicherweise erfolgt durch die Pasteurisation eine Reduktion der Keimbelastung mit *Salmonella* um 5 log bis 9 log, des Weiteren ist sogar eine Reduktion der sehr hitzeresistenten Gattung *Salmonella senftenberg*

775 W um bis zu 4 log möglich [MAÑAS 2003]. Das Auskeimen von Sporen kann durch eine anschließende Sprühtrocknung oder Hochdruckeinwirkung maßgeblich verhindert werden [vTI 2008].

Die Pasteurisation von flüssigem Eigelb kann Temperaturen im Bereich von +61 °C bis +68 °C bei einer Dauer von 30 Sekunden bis 120 Sekunden erfolgen, wobei bei Temperaturen von +68 °C Schädigungen der Inhaltsstoffe nicht auszuschließen sind. Eine 2-minütige Behandlung bei +63 °C hat im Gegensatz dazu keine wesentlichen negativen Einflüsse auf die technofunktionellen Eigenschaften [vTI 2008]. Dies bestätigt die Angaben von STADELMAN, welcher 1995 eine Pasteurisation von Flüssigeigelb bei +64 °C nahelegt [STADELMAN 1995]. Nach SUN liegt der D-Wert für *Salmonella typhimurium* in unbehandeltem Flüssigeigelb bei einer Temperatur von +60 °C bei 0,4 Minuten bis 0,8 Minuten, in gezuckertem oder gesalzenem Flüssigeigelb obgleich derselben Temperatur jedoch bei 4 Minuten bis 6 Minuten [SUN 2006].

Da die Eiklarproteine die hitzesensitivste Fraktion der Eiweiße darstellen, liegt die Empfehlung zur Pasteurisation von reinem Eiklar bei einer Temperatur von +56 °C bis +58 °C bei einer Dauer von 2 Minuten bis 3 Minuten [vTI 2008]. Auch STADELMAN spricht sich für die Einhaltung von Temperaturen unter +59 °C bei der Pasteurisation von Eiklar aus [STADELMAN 1995]. Da die Erhitzung von Eiklar unausweichlich mit einer Minderung der Schaumstabilität einhergeht, wird der Einsatz bestimmter Zusatzstoffe (Aluminiumsalze, Hydrokolloide) empfohlen. Aluminiumsalze sollen dabei die Denaturierung des sehr hitzesensitiven Proteins Conalbumin verhindern, Hydrokolloide dienen hingegen der Wasserbindung [vTI 2008].

Da das im Eiklar vorhandene antibakterielle Lysozym nur effektiv gegen grampositive Organismen wirkt, müssen die Pasteurisation bzw. andere Verfahren zur Verlängerung der Haltbarkeit die Ausschaltung der Bakterien der Gattung *Salmonella* übernehmen [LAKINS 2008].

Neben Bakterien der Gattung *Salmonella* zählt auch die Gattung *Listeria* zu den für den Menschen potenziell gefährlichen Keimen, welche durch Eier und Eiprodukte verbreitet werden. Laut BRACKETT kann dieser Gefahr jedoch durch ein gutes Durcherhitzen von Eiern und Eiprodukten vorgebeugt werden [BRACKETT 1992].

2.4.2 Alternative Formen der Haltbarmachung

Ozon-Behandlung

Im Laufe der letzten Jahre hat sich die Ozon-Behandlung von Lebensmitteln zur Verringerung der mikrobiellen Flora und damit zur Verlängerung der Lagerungsdauer in den verschiedensten Bereichen durchgesetzt. KIM führt 2003 an, dass dieses Verfahren hervorragend zur Oberflächendesinfektion und im Waschprozess von festen Lebensmitteln, zur Desinfektion von am Verfahrensprozess beteiligten Geräten und auch Verpackungsmaschinen geeignet ist [KIM 2003].

Ozon (O_3) stellt ein sehr reaktives Oxidationsmittel dar, dessen Wirksamkeit bei der Entkeimung von Oberflächen auf der Oxidation von Aminosäuren und mehrfach ungesättigten Fettsäuren beruht. Ozon zerstört somit neben Zellmembranen auch innere Komponenten von Zellen bzw. Mikroorganismen und eignet sich daher gleichermaßen zur Inaktivierung gram-positiver und gram-negativer Keime. Im Jahr 2004 weist GÜZEL-SEYDIM die Inaktivierung von *Staphylococcus aureus* (gram-positiv) und *Escherichia Coli* (gram-negativ) in diversen Lebensmittelbestandteilen mittels Ozon-Behandlung nach [GÜZEL-SEYDIM 2004].

Als Hauptanwendungsgebiet der Ozon-Behandlung im Bereich von Eiern und Eiprodukten ist die Oberflächenentkeimung von Schaleneiern anzusehen. Studien aus der jüngeren Vergangenheit mit Versuchen zur Trocken-Ozonisierung und der Verwendung von ozonisiertem Washwasser belegen die Eignung dieses Prinzipes durch Reduktion der Keimmengen an *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* und *Escherichia coli* um mehrere log [PERRY 2008, RUSSELL 2003]. Die Behandlung von Flüssigei mit Ozon erscheint nicht sinnvoll, da eine Zerstörung wertgebender Bestandteile des Eies, wie mehrfach ungesättigten Fettsäuren, Aminosäuren und Carotinoiden, zu erwarten ist.

Behandlung mittels ionisierender Strahlung

Die Bestrahlung diverser Lebensmittel zum Zwecke der Verringerung der Keimbelastung und Verlängerung der Haltbarkeit zählt zu den anerkannten Methoden der Haltbarmachung. Im Jahr 2008 verabschiedet die oberste Lebensmittel- und Arzneimittelbehörde der USA (FDA) ein Gesetz, welches die Bestrahlung von Eisbergsalat und Spinat mit einer Strahlungs-dosis von bis zu 4 kGy erlaubt [FDA 2008]. Auf europäischem Boden ist, abgesehen von einzelnen

Verfügungen weniger Mitgliedsstaaten, ausschließlich die Bestrahlung von getrockneten Gewürzen und Kräutern erlaubt [EUROPA 1999b].

Das Prinzip der Entkeimung mittels ionisierender Strahlung beruht auf der größenbedingten Empfindlichkeit von Nukleinsäuren, welche eine Zerstörung dieser Moleküle zur Folge hat. Makromoleküle und auch Vitamine bleiben dabei aufgrund ihrer vergleichsweise geringen Größe verschont [TERNES 2005].

Laut MIN stellt die ionisierende Strahlung die effektivste Methode zur Dekontamination von Schaleneiern und Eiprodukten dar, da sie nur unwesentliche Veränderungen der technologischen Eigenschaften, der Farbe und des Geruches von Eiklar und Eigelb bewirkt [MIN 2005]. Aufgrund einer dabei auftretenden Verflüssigung des Eiklars wird jedoch von einer Verwendung dieser Methode als Alternative zur Pasteurisierung abzuraten, stattdessen wird eine Nutzung im Rahmen der Verarbeitung angeregt, z. B. beim Portionieren und als vorgelagerter Prozessschritt der Sprühtrocknung. Die Eignung des Verfahrens zur deutlichen Reduktion der Keimzahlen von *Salmonella enteritidis* und *Escherichia coli* in Schaleneiern, Flüssigei und Volleipulver belegen unter anderem SERRANO und NARVAIZ [SERRANO 1997, NARVAIZ 1992].

Behandlung mit UV-Strahlung

Während UV-A-Strahlung (Wellenlänge 400 nm bis 315 nm) und UV-B-Strahlung (Wellenlänge 315 nm bis 280 nm) weitestgehend für technische Zwecke eingesetzt werden, z. B. zum Trocknen UV-härtender Lacke, weist UV-C-Strahlung (Wellenlänge < 280 nm) mikrobizide Wirkungen mit einem Maximum bei ca. 260 nm auf, da sich dieses Absorptionsmaximum weitgehend mit dem von DNA deckt [BUCHNER 1999]. Prinzipiell ermöglicht dieses Verfahren die effiziente Abtötung von Mikroorganismen, jedoch können beim unvorsichtigen Umgang auch beim Menschen Gesundheitsschäden hervorgerufen werden, z. B. Hautrötungen. Darüber hinaus kann durch UV-C-Strahlung mit Wellenlängen von unter 200 nm Ozon aus Luftsaurestoff gebildet werden, welches ab einer gewissen Konzentration gesundheitsschädlich ist [BUCHNER 1999].

Da UV-C-Strahlung nur eine geringe Gewebe-Eindringtiefe hat, eignet sie sich primär zur Behandlung von Oberflächen. Auch bei unzähligen Lebensmitteln kann eine bemerkenswerte Reduktion der Keimbelastung erzielt werden, z. B. Fleisch, Fisch, Apfelsaft und Kartoffeln [RAHMAN 2007], jedoch bleibt die Anwendung im industriellen Maßstab aus rechtlichen Gründen auf die Entkeimung von Trinkwasser und Raumluft

beschränkt und wird durch EU-Richtlinie 1999/2 gemeinschaftlich mit anderen Arten der ionisierenden Strahlung geregelt [EU 1999c]. In Deutschland ist entsprechend dem nationalen Recht (§ 8 LFGB) zudem die Bestrahlung von Obst- und Gemüseerzeugnissen bzw. Hartkäse erlaubt, welche jedoch auf der Verpackung mit den Worten „bestrahlt“ oder „mit ionisierenden Strahlen behandelt“ kenntlich gemacht werden muss [FREDE 2006].

Als Nachteil der UV-Strahlung muss angeführt werden, dass bei der Einwirkung auf Lebensmittel Fettsäuren bzw. freie und gebundene Aminosäuren oxidiert werden, ebenso viele Vitamine und Carotinoide [EBERMANN 2008]. Daher kann sich die Anwendbarkeit der UV-Strahlung im Bereich von Eiern und Eiprodukten nur auf die Oberflächenbehandlung von Schaleneiern beschränken. Eine Eignung zur Inaktivierung von *Salmonella enteritidis* allein durch UV-Bestrahlung von Schaleneiern beschreibt RODRIGUEZ-ROMO, wobei in Kombination zusammen mit einer Ozon-Behandlung eine Reduktion der *Salmonella*-Population um 4,6 log beobachtet wird und damit die besten Ergebnisse liefert [RODRIGUEZ-ROMO 2005]. Darüber hinaus beschreibt COUFAL im Jahr 2003 eine deutliche Reduktion von Kontaminationsbelastungen mit *Salmonella typhimurium* und *Escherichia coli* um bis zu 4 log bzw. bis zu 5 log bei alleiniger Anwendung der UV-Strahlung auf die Schale bebrüteter Hühnereier in Zuchtbetrieben und beobachtet dabei keine signifikant veränderte Mortalität der Hühnerembryos [COUFAL 2003]. Ebenso vermag gepulstes UV-Licht eine Keimbelastung durch *Salmonella enteritidis* bei ungewaschenen Eiern um bis zu 3,6 log und bei gewaschenen Eiern um bis zu 1,8 log zu vermindern [HIERRO 2009].

Behandlung mit Mikrowellen

Der Effekt von Mikrowellen zur Senkung der Population pathogener Keime auf und in Lebensmitteln beruht auf zwei verschiedenen Wirkungen [LAKINS 2008]. Zum einen erfolgt eine thermisch induzierte Zerstörung der Mikroorganismen, zum anderen greifen auch nicht thermische Mechanismen, wie z. B. Elektroporation und ein Aufreißen der Zellwände [KOZEMPEL 1998]. Aufgrund der geringen Eindringtiefe der Mikrowellen, welche üblicherweise auf Frequenzen von 0,9 GHz bis 2,45 GHz beruhen, beschränkt sich deren Anwendbarkeit auf Produkte mit geringer Schichtdicke bzw. Flüssigkeiten. Im Gegensatz zu haushaltsüblichen Mikrowellen-Geräten kommen in der Industrie sogenannte Mikrowellentunnel zum Einsatz, welche bereits zum An- und Auftauen von Lebensmitteln und zum Pasteurisieren von Schnittbrot bzw. verpackten Fertiggerichten genutzt werden, ebenso in Kombination

mit Vakuum oder Heißluft zum Trocknen von Cerealien, Teigwaren und Gemüse [DEHNE 2000]. Die dabei auftretenden Verluste bzw. Veränderungen an Nährstoffen liegen im Rahmen anderer Verfahren der Haltbarmachung, nach Angaben von RAHMAN sogar darunter [RAHMAN 2007]. Als weiterer Vorteil der Behandlung mit Mikrowellen ist der Zeitaspekt zu nennen, da auch große Produktmengen schnell und effektiv erhitzt bzw. behandelt werden können.

Im Bereich von Eiern und Eiprodukten kann die Mikrowellen-Technik nur bedingt eingesetzt werden, da ansonsten sehr schnell eine Denaturierung der Proteine einsetzen würde. In Versuchen mit einer modifizierten Mikrowelle unter Einsatz von kühlendem CO₂ weist LAKINS die Eignung dieses Verfahrens zur Senkung der Reduktion der Keimbelastung mit *Salmonella enteritidis* in Schaleneiern um 2 log nach [LAKINS 2008]. KOZEMPEL stellt bereits 1998 fest, dass bei Untersuchungen zum Einfluss der Mikrowellenstrahlung auf gleichzeitig mittels Kühlwasser gekühlte Flüssigeiprodukte keine signifikanten Änderungen der Keimbelastung mit Hefen, *Pediococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* und *Enterobacter aerogenes* auftreten [KOZEMPEL 1998].

Behandlung mit Ultraschall

Der Anwendung der Ultraschallbehandlung flüssiger Lebensmittel zum Zwecke der Keimreduktion liegt das Prinzip der Kavitation zugrunde. Als Kavitation wird die Blasenbildung in Flüssigkeiten bezeichnet, welche durch ultraschallinduzierte Wechseldrücke hervorgerufen wird. Dabei kommt es zu einem zyklischen Anwachsen und anschließenden Kollabieren der Bläschen durch äußeren Druck. Daraus ergeben sich mechanische Effekte, wie z. B. die Zerstörung von bakteriellen Zellwänden, welche letztendlich zu einer Reduktion der Keimzahl führen [ZENKER 2004, MASON 1996].

Für eine effektive Keimreduktion sind hohe Ultraschallintensitäten notwendig, die jedoch zwangsweise zu einer unerwünschten Veränderung des Lebensmittels führen können. Daher bieten sich Kombinationen der Ultraschallbehandlung mit anderen Verfahren zur Haltbarmachung, z. B. die Kombination mit Druck (Manosonication), die Kombination mit hohen Temperaturen (Thermosonication) und die Kombination mit Druck bei gleichzeitiger Hitze (Manothermosonication), an [RASO 2003, PIYASENA 2003].

Neben dem Einsatz als unterstützender Prozessschritt zur Erleichterung bestimmter Verfahrensabläufe, wie z. B. bei der Herstellung von Extrakten oder dem Schneiden

gefrorener Lebensmittel, findet die (kombinierte) Ultraschallbehandlung als Verfahren zur Keimreduktion bislang nur wenig Anwendung. Zu den bislang erfolgreich getesteten Einsatzmöglichkeiten zählt die Reinigung von Eiern in Bebrütungsbetrieben, da mittels Unterstützung von Ultraschall die verunreinigten Eier deutlich effizienter zu dekontaminieren sind als mit den konventionellen Verfahren [MASON 1996]. Zudem beobachtet LEE mit steigender Ultraschalleistung eine höhere Abtötungsrate von *Escherichia coli* (bis zu 2 log) in Flüssigei, jedoch keine Effekte auf eine Belastung mit *Listeria seeligeri* [LEE 2003]. Im Jahr 2005 weist CABEZA nach, dass eine thermische Ultraschallbehandlung von Schaleneiern, im Vergleich zu einer konventionellen Pasteurisationsmethode (+60 °C, 3,5 min), zu einer deutlich höheren Reduktion der Keimbelastung mit *Salmonella senftenberg* führt [CABEZA 2005].

Behandlung mit Hochspannungsimpulsen (HSI)

Bei der Behandlung mit HSI werden die zumeist flüssigen bzw. fließfähigen Lebensmittel in einem kontinuierlichen System für sehr kurze Zeit, meist 50 µsec bis 480 µsec, hohen Spannungsimpulsen (üblicherweise 20 kV/cm bis 80 kV/cm) ausgesetzt, welche letztendlich durch Aufplatzen von Zellkompartimenten bzw. Zellmembranen für eine Reduktion der Keimbelastung verantwortlich sind [GÓNGORA-NIETO 2003, DUTREUX 2000]. Dabei ist tendenziell mit steigender Feldstärke und Anzahl an Pulsungen eine vermehrte Inaktivierung von Mikroorganismen und auch schädigenden Enzymen möglich [RAHMAN 2007]. Um Schädigungen am Produkt zu vermeiden, ist jedoch ein exaktes Abstimmen der HSI-Parameter auf die zu behandelnde Matrix zwingend erforderlich [MARSELLÉS-FONTANET 2009, MOSQUEDA-MELGAR 2008]. Damit ein Produkt mit HSI behandelt werden kann, muss es eine niedrige Leitfähigkeit aufweisen, da ansonsten die Spannungsimpulse von Elektrode zu Elektrode über das Produkt geleitet werden und nicht durch das Produkt [HEINZ 2002].

Der Einsatz von HSI zum Zwecke der Verlängerung der Haltbarkeit von Lebensmitteln ist ein sehr wirtschaftliches Verfahren, bei dem auch nur sehr geringe Veränderungen in der Struktur von Proteinen und wertgebenden Bestandteilen und auch kaum Abstriche bei der Beurteilung sensorischer Parameter zu erwarten sind [SCHUCHMANN 2005]. Trotz mehrfachen Nachweises der Eignung dieses Verfahrens zur Erhöhung der Haltbarkeit findet es in der europäischen Industrie kaum Anwendung, da insbesondere hohe Prozesskosten, z. B. durch den notwendigen Einsatz von lebensmittelechtem Öl zur Kühlung und Isolierung der Impulserzeuger,

und hohe Anschaffungskosten durch Substitution alter Anlagen zu erwarten sind [SCHILLING 2008, CLARK 2006].

Die Eignung des HSI-Verfahrens zur Senkung der Keimbelastung mit *Listeria innocua* in Flüssigei um 3,5 log bei einer Feldstärke von 50 kV/cm und insgesamt 32 Impulsen weist CALDERÓN-MIRANDA nach [CALDERÓN-MIRANDA 1999]. Darüber hinaus ist eine Senkung der Keimzahlen von *Salmonella enteritidis* und *Escherichia coli* in Flüssigeiprodukten bei entsprechender Parametrisierung um bis zu 5 log möglich [AMIALI 2007, JEANTET 1999].

Behandlung mit Hochdruck

Charakteristisch für eine Hochdruckbehandlung zum Zwecke der Haltbarmachung ist das Anlegen von Drücken im Bereich von 200 MPa bis 600 MPa, welche zum Inaktivieren von Mikroorganismen bzw. Enzymen benötigt werden, wobei prinzipiell auch Drücke von mehr als 1000 MPa erzeugt werden können [VTI 2008]. Die Wirkung einer Verlängerung der Haltbarkeit beruht dabei nicht nur auf einer druckbedingten Deformation äußerer Strukturen und innerer Zellkompartimente, sondern vor allem auf einer Zerstörung innerer Molekülbindungen, insbesondere von Wasserstoffbindungen, welche unter anderem auch an der Bildung von Tertiärstrukturen von Enzymen beteiligt sind [HENDRICKX 2003]. Die hochdruckbedingte Zerschlagung von Wasserstoffbindungen hat zum einen eine Zerstörung von Strukturen innerhalb mikrobieller Ribosomen und damit zu Schädigungen im Bereich der Protein- und Genexpression zur Folge, und zum anderen, im Falle von Enzymen, eine Änderung der Tertiärstruktur beteiligter Proteine und somit eine andere Konformation, welche zu einer Destabilisierung und Inaktivierung führen kann. Zur Erhöhung der Effektivität der Behandlung mit Hochdruck legen zahlreiche Autoren eine Kombination mit thermischen Verfahren, insbesondere zum Zwecke der Denaturierung von Proteinstrukturen, nahe [VTI 2008, SCHUCHMANN 2005, HENDRICKX 2003]. Da zudem mittels reiner Hochdruckbehandlung zwar viele Hefen, Bakterien und Schimmelpilze, aber kaum Sporen von Schimmelpilzen abgetötet werden können, ist diese Kombination von nicht thermischen und thermischen Verfahren auch aus Gründen der Produktsicherheit erforderlich [HENDRICKX 2003]. Die Anwendbarkeit der Hochdruckbehandlung beschränkt sich dabei auf Produkte mit einem Mindest-Wassergehalt von 15 %, Trockenprodukte können nicht bzw. nur nach vorheriger Befeuchtung behandelt werden [FRANKE 2000].

Prinzipiell ist dieses Verfahren zur Verlängerung der Haltbarkeit von Lebensmitteln nach EU-Verordnung 258/1997 (Novel-Food-Verordnung) erlaubt, jedoch muss bei Anwendung von Drücken über 150 MPa das Produkt mit dem Wortlaut „hochdruckpasteurisiert“ gekennzeichnet werden [SCHUCHMANN 2005, EUROPA 1997]. Die Eignung der Hochdruckbehandlung zur Verlängerung der Haltbarkeit unter weitgehender Beibehaltung der sensorischen und technofunktionellen Eigenschaften von Säften, Milch bzw. Milchprodukten und auch Fleischwaren belegen unter anderem Untersuchungen von SMITH, PEREDA, LÓPEZ-PEDEMONTE, MORALES und ANANTH [SMITH 2009, PEREDA 2007, LÓPEZ-PEDEMONTE 2006, MORALES 2006, ANANTH 1998].

Die Anwendung im Bereich der Eier und Eiprodukte ist möglich, jedoch weisen mehrere Autoren darauf hin, dass hochdruckbedingt und in Abhängigkeit von der Temperatur bereits bei einem Druck von 200 MPa Koagulationserscheinungen der Proteine auftreten können [VTI 2008, LEE 2002]. Jedoch ist auch vorstellbar, dass dieses Verhalten gezielt zur Produktentwicklung eingesetzt wird, z. B. zur Haltbarmachung zubereiteter Fertigprodukte wie beispielsweise Rührei und Omelettes [VTI 2008]. Die Reduktion der Keimbelastungen mit *Salmonella enteritidis* und *Escherichia coli* in Flüssigei gelingt PONCE bei systematischer Betrachtung der Einflüsse der Parameter Zeit (5 min, 5 min + 5 min, 10 min, 5 min + 5 min + 5 min, 15 min), Druck (mehrere Drucklevel zwischen 300 MPa und 450 MPa) und Temperatur (-15 °C, +2 °C, +20 °C, +50 °C) um bis zu 8 log bzw. 7 log [PONCE 1999, PONCE 1998]. PONCE hebt in diesem Zusammenhang hervor, dass mit steigendem Druck und mit höherer Prozesstemperatur eine höhere Inaktivierung der Mikroorganismen erfolgt.

2.5 Trocknungsverfahren

Allgemein ist unter Trocknung das Abtrennen von Flüssigkeiten, insbesondere von Wasser, aber auch kettenförmigen und cyclischen Kohlenwasserstoffen, durch deren Verdunsten aus einem Feststoff-Flüssigkeitssystem (Feuchtgut) zu verstehen [GEHRMANN 2009]. Die thermische Trocknung wird als Verdunstungs-, Kontakt- und Strahlungstrocknung, in Sonderfällen auch als Gefriertrocknung, Vakuumtrocknung und Hochfrequenz-trocknung durchgeführt, wobei Wärme durch Leitung, Konvektion oder Strahlung im Gutsinneren erzeugt oder von außen an das Gut herangeführt wird. Die mit der Wärme zugeführte Energie ist notwendig, um Feuchte aus dem Gut zu verdampfen oder zu verdunsten [SATTLER 2001]. Dabei ist zu beachten, dass der

thermische Einfluss nicht nur Auswirkungen auf den Gehalt an Wasser hat, sondern auch, je nach Produkt, auf die Gehalte an geruchs- und geschmackswirksamen Verbindungen, wie Alkoholen, Estern und Aromen. Unter der Kinetik der Trocknung ist die Veränderung der mittlere Gutsfeuchte und der mittleren Gutstemperatur mit fortschreitender Trocknungszeit, somit der zeitliche Ablauf des Trocknungsvorganges, zu verstehen (vgl. Abbildung 2-9).

Während einer kurzen Vorwärmperiode (Bereich AB) verdunstet bereits in geringem Maße Feuchte. Der erste Trocknungsabschnitt, welcher durch eine konstante Trocknungsgeschwindigkeit gekennzeichnet ist (Bereich BC), nimmt die Feuchtebelastung linear ab und beruht auf der kapillaren Feuchteleitung, welche Feuchte zum Verdunsten aus dem Gutsinnern an die Oberfläche nachfördert. Die „Knickpunktsfeuchte“ (Punkt C) kennzeichnet einen Rückgang der Trocknungsgeschwindigkeit, da die kapillare Leitung nicht mehr so schnell Feuchtigkeit an die Oberfläche des Guts heranführen kann, wie sie von dort verdunstet. Die „Knickpunktsfeuchte“ ist charakteristisch für jedes zu trocknende Gut und muss experimentell ermittelt werden. Die „Knickpunktsfeuchte“ ist dabei umso größer, je größer Gutsschichtdicke und Trocknungsgeschwindigkeit im Trockner ausfallen.

Der zweite Trocknungsabschnitt endet im Falle von hygroskopischen Gütern mit der kompletten Austrocknung (Bereich CF). Es liegt dann ein hygroskopisches Gut vor, wenn die von ihm gebundene Feuchte einen niedrigeren Dampfdruck aufweist als die reine flüssige Feuchte bei der gleichen Bezugstemperatur [SATTLER 2001]. Zu den hygroskopischen Gütern im Lebensmittelbereich zählen z. B. Trockeneigelb, Fruchtpulver, Getreide, Ölsaaten und Gewürze. Theoretisch können hygroskopische Güter dann vollständig getrocknet werden, wenn das Trocknungsgas keine Feuchtigkeit enthält.

Da dies in der Praxis nicht umsetzbar ist, schließt sich für hygroskopische Güter noch ein dritter Trocknungsabschnitt an (Bereich DE), welcher dann beginnt, sobald an allen Stellen des Guts der größtmögliche hygroskopische Feuchtegehalt erreicht ist (Punkt D). Am Ende des dritten Trocknungsabschnittes stehen die Feuchte des Gutes und die Feuchte des Trocknungsgases im Gleichgewicht, die Trocknungsgeschwindigkeit fällt dabei immer weiter ab und beträgt letztendlich Null [SATTLER 2001].

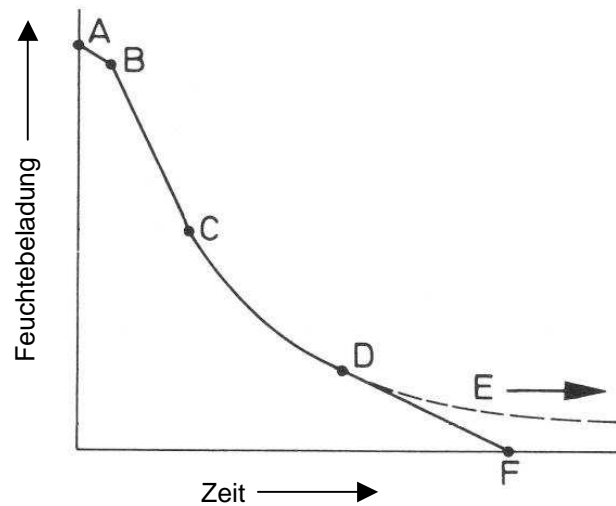


Abb. 2-9: Verlauf der Trocknung bei kapillar-porösem Festgut: Feuchtebeladung des Guts in Abhängigkeit von der Zeit (modifiziert nach SATTLER 2001)

Wird die Trocknungsgeschwindigkeit über der Trocknungszeit aufgetragen, lassen sich die einzelnen Trocknungsabschnitte deutlich aus der Trocknungsverlaufskurve ablesen (vgl. Abbildung 2-10).

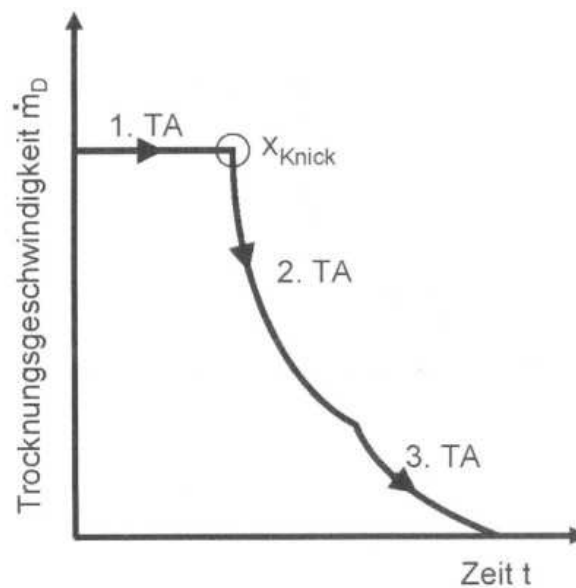


Abb. 2-10: Trocknungsgeschwindigkeit als Funktion der Zeit (GEHRMANN 2009)

Der Trocknungsverlauf selber wird durch folgende Parameter bestimmt:

- Art des Feuchtgutes,
- Feuchtebindung des Feuchtgutes,
- Trocknungsverfahren,
- Einstellungen an der Trocknungsapparatur.

Die Sprühtrocknung ist aus ökonomischen Gründen das am weitesten verbreitete Verfahren zur Herstellung von Vollei-, Eigelb- und Eiklarpulver. Walzen- und Gefrier-trocknung werden wegen der vergleichsweise hohen Verfahrenskosten nur für Spezialanwendungen eingesetzt, z. B. Outdoor-Mahlzeiten. Zur Verlängerung der Haltbarkeit kann eine Begasung mit Stickstoff erfolgen [KROELL 1989]. Einen Überblick über die typische Zusammensetzung von Trockeneiprodukten gibt Tabelle 2-11.

Tab. 2-11: Prozentuale Zusammensetzung von Trockeneiprodukten (nach KROELL 1989)

	Vollei	Eigelb	Eiklar
Wasser	4,0	3,0	6,0
Eiweiß	47,0	32,0	83,0
Fett	42,0	59,0	0,2
Kohlenhydrate	2,0	1,0	7,0
Mineralstoffe	4,0	4,0	5,0
pH-Wert	8,5	5,5	7,0

Im Folgenden werden die Grundzüge der Sprüh- und Gefriertrocknung dargestellt.

2.5.1 Grundlagen der Sprühtrocknung

Voraussetzung für die Sprühtrocknung ist die Zerstäubbarkeit des zu trocknenden Gutes. Folglich kann die Sprühtrocknung u.a. zum Trocknen von Flüssigkeiten, Schlämmen und Suspensionen eingesetzt werden. Typisch für die Zerstäubung sind Partikelgrößen zwischen 5 µm und 1 mm. Aufgrund der dabei provozierten, enormen Vergrößerung der Oberfläche werden sehr hohe Trocknungsgeschwindigkeiten und kurze Verweildauern der Partikel in der Anlage ermöglicht. Während 1 Liter Flüssigkeit eine Oberfläche von 0,06 m² aufweist, sind es beim Zerstäuben dieses Volumens in $2,4 \cdot 10^8$ Tropfen mit 200 µm Durchmesser bereits 30 m² Oberfläche und beim Zerstäuben in $2,4 \cdot 10^{14}$ Tropfen mit 2 µm Durchmesser schon 3000 m² Oberfläche [SCHUCHMANN 2005].

Mittels eines Aspirators wird Trocknungsgas durch das Gerät gesaugt und gleichzeitig ein Unterdruck aufgebaut. Die Erwärmung des Gases geschieht in einer vorgeschalteten Heizung. Eine Peristaltikpumpe fördert die zu versprühende Lösung in die Düse, wo sie mittels Pressluft in unzählige kleine Tröpfchen zerstäubt wird und

in die heiße Trocknungsluft gelangt. Das Lösungsmittel wird dabei vollständig verdampft. Aufgrund der stark vergrößerten Oberflächen der zerstäubten Tröpfchen wird diesen sehr schnell Wärme entzogen, so dass trotz der hohen Temperaturen das Produkt weitestgehend geschont wird. Die feinen Partikel folgen dem Luftstrom, werden im Zyklon abgeschieden und in einem Auffanggefäß gesammelt. Da Sprühgut und Trocknungsluft in die gleiche Richtung strömen, wird vom Gleichstromprinzip der Sprühtrocknung gesprochen [SATTLER 2001].

2.5.2 Grundlagen der Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung stellt einen Prozess dar, bei dem das Produkt besonders schonend getrocknet wird, da die biologischen, chemischen und strukturellen Eigenschaften auch nach der Trocknung weitgehend erhalten bleiben [KROELL 1989]. Ein Charakteristikum der Gefriertrocknung ist die Überführung von Feuchte aus dem gefrorenen Feuchtgut bei Temperaturen unter 0 °C und unter Vakuum direkt aus dem festen in den dampfförmigen Zustand. Die Gefriertrocknung wird deshalb auch Vakuumsublimationstrocknung genannt [SATTLER 2001].

Der Gefriertrocknungszyklus kann generell in drei Phasen unterteilt werden [nach GEHRMANN 2009]:

- Einfrieren des Produktes durch Abkühlen mit einem geeigneten Temperatur-/Zeitprogramm,
- Haupttrocknung des gefrorenen Wassers bei maximal möglicher Produkttemperatur und zugehörigem Systemdruck,
- Nachtrocknung von nicht ausgefrorenem Wasser bei höchstmöglicher Temperatur und geeignetem Systemdruck.

Beim Einfrieren des Produktes muss darauf geachtet werden, dass neben dem freien auch das zellgebundene Wasser vollständig in die feste Phase übergeht. Letzteres gefriert teilweise, je nach Feuchtgut, erst bei Temperaturen von ca. -50 °C.

Die Einfriertemperatur und damit die Geschwindigkeit, mit der das zu trocknende Gut eingefroren wird, haben einen entscheidenden Einfluss auf den späteren Produktcharakter, aber auch auf den Gefriertrocknungsprozess selbst. Werden sehr niedrige Temperaturen gewählt, so entstehen viele kleine Eiskristalle, die nur kleine Poren bei der Trocknung bewirken und damit die Struktur des Produktes erhalten.

Aufgrund der engen Kapillaren zwischen den Poren dauert die Trocknung jedoch vergleichsweise lange. Erfolgt hingegen eine Entscheidung für höhere Temperaturen und damit für eine längere Einfrierzeit, entstehen größere Eiskristalle, die große Poren bei der anschließenden Trocknung zur Folge haben. Die Dauer der Trocknung ist dabei verkürzt, da der Wasserdampf schneller entweichen kann. Dieser Effekt wird vor allem bei Produkten genutzt, bei denen die Strukturhaltung von sekundärer Bedeutung ist [SATTLER 2001].

Bei der Haupttrocknung wird das Eis mittels Sublimation aus dem Produkt entfernt, wobei dem Produkt ständig Energie in Form von Wärme zugeführt werden muss. Dies geschieht zum einen durch das Beheizen der Stellflächen (Wärmeleitung), zum anderen durch Strahlung der Stellflächen des darüber liegenden Produktes. Ein Kondensator bindet den während der Haupttrocknung entstehenden Wasserdampf und verhindert somit, dass Feuchtigkeit zurück ins Produkt gelangt. Am Ende dieses Trocknungsabschnittes ist das gebundene Wasser aus der Feststoffstruktur komplett entfernt. Zum Einstellen einer gewünschten niedrigen Restfeuchte ist eine Nach-trocknung erforderlich.

Die Nachrocknung bewirkt durch eine Erhöhung der Temperatur der Stellflächen die Entfernung adsorptiv gebundenen Restwassers aus dem Produkt. Stellflächen-temperaturen von +20 °C bis +60 °C sind für diesen Trocknungsabschnitt charakteristisch. Eine Einschränkung der Qualität des Produktes ist dabei nicht zu erwarten [TERNES 2005].

2.6 Zielsetzung & Erwartungen

Ziel dieser Arbeit ist die Bestimmung des Einflusses von Pasteurisation, Trocknung und Lagerung auf die Gehalte an Xanthophyllen in Eigelb mittels LCMS-Analytik. Die dazu notwendigen Teilziele können wie folgt formuliert werden:

- Herstellung zweier Chargen Flüssigeigelb aus handelsüblichen frischen Eiern,
- partielle Pasteurisation der homogenisierten Flüssigeigelbe beider Chargen,
- Sprüh- und Gefriertrocknung der pasteurisierten und nicht pasteurisierten Flüssigeigelbe beider Chargen mit jeweils identischen Trocknungsbedingungen,

- 6-monatige Lagerung der erzeugten Eigelbpulver bei -18 °C und $+20\text{ °C}$ unter Lichtausschluss und N_2 -Atmosphäre,
- begleitende Bestimmung der Xanthophylle mittels LCMS-Analytik auf allen Verarbeitungs- und Lagerungsstufen,
- statistische Betrachtung der Xanthophyllgehalte auf allen Verarbeitungs- und Lagerungsstufen mittels einseitiger Varianzanalyse (ANOVA),
- Erstellung von Verlaufskurven für die im Eimaterial detektierten Xanthophylle während der Lagerung.

In der Lebensmittelindustrie werden Trockeneiprodukte üblicherweise in lichtundurchlässigen Tanks mit mehreren Kubikmetern Fassungsvermögen (zwischen-)gelagert. Folglich wird die Lagerung der Eigelbpulver im Rahmen dieser Arbeit bewusst unter Lichtausschluss und unter N_2 -Atmosphäre vorgenommen, um einen maximalen Schutz der Ei-Inhaltsstoffe, so auch der Xanthophylle, zu gewährleisten [KROELL 1989].

Bezüglich der Xanthophyllgehalte wird erwartet, dass:

- eine Pasteurisation aufgrund der nur minimalen thermischen Belastung keinen entscheidenden Einfluss hat, auch nicht auf den Verlauf der Gehalte während der Lagerung,
- trocknungsbedingt vermehrt Xanthophylle aus der Eigelbmatrix freigesetzt werden, da dieser Effekt von der Trocknung anderer Lebensmittel bekannt ist [CHANG 2007, REGIER 2005],
- die Retention aus gefriergetrocknetem Eigelb über den gesamten Lagerungszeitraum höher ist als aus sprühgetrocknetem Eigelb,
- die Lagerung bei -18 °C , verglichen mit der Lagerung bei $+20\text{ °C}$, einen messbaren protektiven Effekt bietet,
- sie während der Lagerung aufgrund von Degradation und Isomerisierung kontinuierlich sinken.

Um die Xanthophyllgehalte von sprüh- und gefriergetrocknetem Eigelb überhaupt miteinander vergleichen zu können, wird großer Wert auf eine gemeinsame und homogenisierte Ausgangsmatrix gelegt. Zur Erstellung der mathematischen

Aussagen (Verlaufskurven) werden die Xanthophyllgehalte wenigstens zweier getrennter Eier-Chargen benötigt, deren Mittelwerte zur Erstellung herangezogen werden.

3 Material und Methoden

3.1 Auswahl der Eier und deren Homogenisation

Um eine ausreichende Menge an Probenmaterial für die späteren, im Wochenwechsel stattfindenden LCMS-Analysen sicherzustellen, werden jeweils 80 Eier mit den folgenden Deklarationen erworben:

- Eier aus Bodenhaltung, Güteklasse A, Gewichtsklasse M, DE-160004, MHD 01.06.2008, EDEKA,
- Eier aus Bodenhaltung, Güteklasse A, Gewichtsklasse M, DE-160004, MHD 13.06.2008, EDEKA.

Bei der Auswahl der Eier-Chargen wird gezielt darauf geachtet, dass sie von einem Legebetrieb stammen, da dort erwartungsgemäß über die Zeit ein einheitliches Futter an die Legehennen verfüttert wird, was sich in einem sehr ähnlichen Xanthophyllspektrum im Eigelb widerspiegeln sollte. Eine spätere Auswertung der Ergebnisse wird somit vereinfacht.

Das manuelle Aufschlagen der Eier erfolgt unter Gelblicht, um eine maximale Protektion der Xanthophylle im Eigelb vor UV-Licht zu gewährleisten. Eine saubere Trennung von Eiklar und Eigelb ist dabei unerlässlich, da am Eigelb haftende Eiklarreste die späteren Ergebnisse verfälschen würden.

Zur Sicherstellung einer gleichmäßigen Verteilung der Xanthophylle im Flüssigeigelb erfolgt unter Gelblicht jeweils eine 1-minütige Homogenisation mittels einer Rührmaschine (KitchenAid Professional Mod. K45SS, KitchenAid, St. Joseph, USA) auf Stufe 1. Das Volumen an homogenisiertem Flüssigeigelb wird anschließend halbiert. Eine Hälfte wird in verschließbare, lichtundurchlässige und lebensmittel-echte Kunststoffboxen gefüllt, zur Minimierung des Einflusses an Sauerstoff mit technisch reinem N₂ begast und in einem Kühlraum bei +2 °C zwischengelagert. Die andere Hälfte wird umgehend der Pasteurisation zugeführt.

3.2 Bestimmung der Trockenmasse nach § 64 LFGB

Die Trockenmassebestimmung des Eigelbes auf allen Verarbeitungsstufen ist zur exakten Berechnung der Xanthophyllgehalte zwingend erforderlich. Zur statistischen

Absicherung erfolgt die Determination der Trockenmasse jeder Probe mittels Doppelbestimmung.

Zunächst werden ausreichend Abdampfschalen aus Porzellan mit 30 – 35 g Seesand und einem Glasstäbchen versehen. Anschließend erfolgt die ca. 6-stündige Vortrocknung im Trockenschrank bei $+103\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

Nach vorsichtiger Überführung der Abdampfschalen in einen Exsikkator und ca. 30-minütigem Abkühlen werden diese ausgewogen.

Nachfolgend werden in die Abdampfschalen je ca. 2 g der Probe eingewogen und mit dem Glasstäbchen gleichmäßig verteilt. Die Abdampfschalen werden anschließend für 4 Stunden bei einer Temperatur von $+103\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ in den Trockenschrank gestellt. Nach Ablauf der Zeit erfolgt das Überführen der Schalen in einen Exsikkator, wo sie ca. 30 Minuten abkühlen müssen. Das erneute Auswiegen der Schalen liefert nun Werte, welche für die Berechnung des Trockenmassegehaltes nötig sind.

Der Trockenmassegehalt w wird nach Gleichung 3-1 berechnet.

$$w = \frac{(m-a) \cdot 100}{m}$$

Gl. 3-1: Berechnung des Trockenmassegehaltes.

mit:

w	[g/100 g]	Trockenmasse
m	[g]	Probeneinwaage
a	[g]	durch die Trocknung erfolgte Massenabnahme

3.3 Pasteurisation von Flüssigeigelb

In einem auf $+61,5\text{ °C}$ vorgeheizten Laborreaktor (LR -A 1000, IKA-Werke, Staufen, Deutschland) erfolgt die 3,5-minütige Pasteurisation bei 80 Umdrehungen des Ankerrührers pro Minute. Das pasteurisierte Material wird direkt in lichtundurchlässige Kunststoffboxen gefüllt und ins nebenanliegende Technikum gebracht, wo bereits der Mini-Sprühturm und der Gefriertrockner auf ihren Einsatz vorbereitet werden.

3.4 Sprüh- und Gefriertrocknung

3.4.1 Sprühtrocknung

Die Sprühtrocknung von unpasteurisiertem und pasteurisiertem Flüssigeigelb erfolgt mit einem Mini-Sprühturm (B-190, Büchi, Flawil, Schweiz) im Technikum des Fachbereiches Lebensmitteltechnologie der Hochschule Fulda.

Da reines Flüssigeigelb eine hohe Viskosität besitzt, was zu einem schnellen Verstopfen der Sprühlanzen-Düse führen würde, muss das Eigelb jeweils im Verhältnis 50:50 mit bidestilliertem Wasser verdünnt werden.

Zur Sicherstellung eines schnellen Verdampfens des Wassers aus der Flüssigeigelb-Wasser-Mischung, wird der Sprühzylinder zunächst auf +80 °C vorgewärmt. Mittels einer Peristaltikpumpe wird das Gut bei einer Flussrate von 2 ml/min in die Sprühdüse befördert und mittels anliegender Druckluft (0,1 MPa) in kleinste Tröpfchen zerstäubt. Von großer Bedeutung sind dabei, dass Sprühlanze und -düse mittig im Sprühzylinder sitzen und dass die Sprühdüse nur geringfügig über deren Verschraubung in der Lanze ragt, um eine optimale Verwirbelung des Sprühgutes durch die Druckluft zu ermöglichen. Falsch justierte Sprühlanzen und -düsen können schnell zu einem feuchten Produktfilm im Inneren des Sprühzylinders führen, was einen Verlust des Produktes und einen erhöhten Reinigungsaufwand bedeutet. Als Zulufttemperatur für die Sprühtrocknung werden +72 °C gewählt, der Flow beträgt 400 NI/h.

Das unten im Sprühzylinder landende Eigelbpulver wird kontinuierlich über einen Zyklon abgeschieden, wobei ein Staubfilter zur Reinigung der Abluft dient. Über das Bedienelement vom Mini-Sprühturm B-190 besteht die Möglichkeit, verschiedenste Parameter individuell auf das Produkt abzustimmen. Mehrere Temperaturfühler ermöglichen dabei die Überwachung der Produkttemperatur.

Das sprühgetrocknete Eigelb wird in lichtundurchlässige Kunststoffboxen verpackt und sofort zum Einvakuumieren gebracht.

3.4.2 Gefriertrocknung

In gekennzeichnete, auf -40 °C vorgekühlte Edelstahlschalen werden das unpasteurisierte und pasteurisierte Flüssigeigelb ohne Verdünnung mit einer Schichtdicke von 3 mm gefüllt. Die so befüllten Edelstahlschalen werden bei -40 °C für 2 Stunden in einem Schockfroster vorgefrosten, um ein komplettes Durchfrieren des Gutes zu gewährleisten.

Die Schichtdicke ist ein entscheidendes Kriterium bei der Gefriertrocknung. Sie sollte so gering wie möglich gehalten werden, um eine große Oberfläche des Gutes zu erzielen und damit die Trocknung zu beschleunigen.

Über die auf -80 °C vorgekühlte Gefrierkammer des Gefriertrockners (beta 2-16, Christ, Osterode am Harz, Deutschland) werden die Edelstahlschalen mit dem Gefriergut in die entsprechenden Haltevorrichtungen gestellt und das Vakuum wird angelegt. Während sich das Soll-Vakuum von $0,370\text{ hPa}$ einstellt, erreichen die Stellflächen mit den Edelstahlschalen nach anfänglichen $+22\text{ °C}$ (Raumtemperatur) die gewünschte Temperatur von -10 °C .

Es folgt die 20-stündige Haupttrocknung, während der das Gefriergut immer mehr Wasser verliert, was sich an einem verstärkten Auskristallisieren des Wassers in der Gefrierkammer gut nachvollziehen lässt. Im Anschluss daran erfolgt die sogenannte Nachtrocknung: die Stellflächen werden auf Raumtemperatur beheizt, um letzte Wasserreste aus dem Gut zu treiben. Dieser Prozessschritt nimmt ca. 12 Stunden in Anspruch.

Während des kompletten Trocknungsprozesses sind alle lichtdurchlässigen Teile des Gefriertrockners mit Aluminium-Folie umwickelt, um Effekte von UV-Licht auf die Eigelb-Xanthophylle zu vermeiden.

Das Ende der Trocknung wird mit dem Beenden des Nachtrocknungsprogrammes eingeleitet, es erfolgt das Öffnen des Belüftungsventiles. Die Edelstahlschalen können nun leicht entnommen werden, aus welchen sich das gefriergetrocknete Eigelb leicht lösen lässt.

Das noch plattenförmige Material wird in lichtundurchlässige Kunststoffboxen verpackt und für das Einvakuumieren vorbereitet.

3.5 Lagerung

3.5.1 Einvakuumieren der Eigelbpulver

Nach dem Feinvermahlen des noch plattenförmigen gefriergetrockneten Eigelbes mittels eines Mörsers wird dieses, ebenso wie das bereits pulverförmige sprühgetrocknete Eigelb, in Vakuumbutel der Größe $13\text{ cm} \times 13\text{ cm}$ überführt. Die mit je ca. 2 g Probenmaterial befüllten Beutel werden in einen Tischvakuumierer (Multivac A 300/16 MC, Multivac, Wolfertschwenden, Deutschland) eingespannt und mit technisch reinem Stickstoff begast. Anschließend wird ein Vakuum von 5 hPa erzeugt und die Vakuumbutel werden mit einer Doppelnaht automatisch versiegelt.

Eine eindeutige Kennzeichnung der Probenbeutel mit Chargennummer 1 bzw. 2, dem Inhalt und dem Datum der Probenherstellung erlaubt bei der anschließenden Lagerung eine einfache Probenahme.

3.5.2 Lagerung der Eigelbpulver

Die Hälfte aller evakuierten Eigelbpulver-Proben wird ohne Lichteinfluss bei -18 °C in einem Gefrierschrank gelagert, die Lagerung der anderen Hälfte erfolgt ebenso ohne Einfluss von Licht in einer Styroporbox in einem klimatisierten Raum bei +20 °C.

3.5.3 Probenahme der Eigelbpulver im Rahmen der Lagerversuche

Zum entsprechenden Zeitpunkt (vgl. Abbildung 3-1) werden von jeder Versuchsreihe zwei Probenbeutel ausgewählt, deren Inhalt sofort zur Bestimmung des Xanthophyllgehaltes herangezogen wird (s. Kapitel 3.6.2.1).

3.6 LCMS-Analytik

3.6.1 Stamm- und Standardlösungen

Zur exakten Identifizierung der Xanthophylle und zur Bestimmung der Gehalte im Probenmaterial sind Lösungen bekannter Konzentration aus Standardsubstanzen unerlässlich. Bei den Standardsubstanzen handelt es sich um:

- **Lutein** (5 mg, MHD 03/2010, Art. Nr. CDX-00012453-005, LGC Promochem, Wesel, Deutschland),
- **Zeaxanthin** (5 mg, MHD 03/2010, Art. Nr. CDX-00026504-005, LGC Promochem, Wesel, Deutschland),
- **Canthaxanthin** (5 mg, Catalogue No. 0380, CaroteNature, Lupsingen, Schweiz),
- **β -Apo-8'-Carotinsäureethylester** (5 mg, Catalogue No. 1010, CaroteNature, Lupsingen, Schweiz).

Zuerst werden Stammlösungen mit einer Konzentration von 100 μ g Xanthophyll/ml Methanol hergestellt. Dazu werden die pulverförmigen Standardsubstanzen mit einem Messspatel auf einer Feinwaage direkt in einen 5 ml-Messkolben eingewogen. Entsprechend der eingewogenen Masse wird nun mit Methanol aufgefüllt (z. B. werden zu 480 μ g Substanz exakt 4,8 ml Methanol hinzugefügt. Zum kompletten

Lösen der Substanz wird der 5 ml-Messkolben zunächst per Hand geschüttelt und anschließend für 5 Minuten ins Ultraschallbad (Sonorex Super RK 510H, Bandelin, Berlin, Deutschland) gegeben.

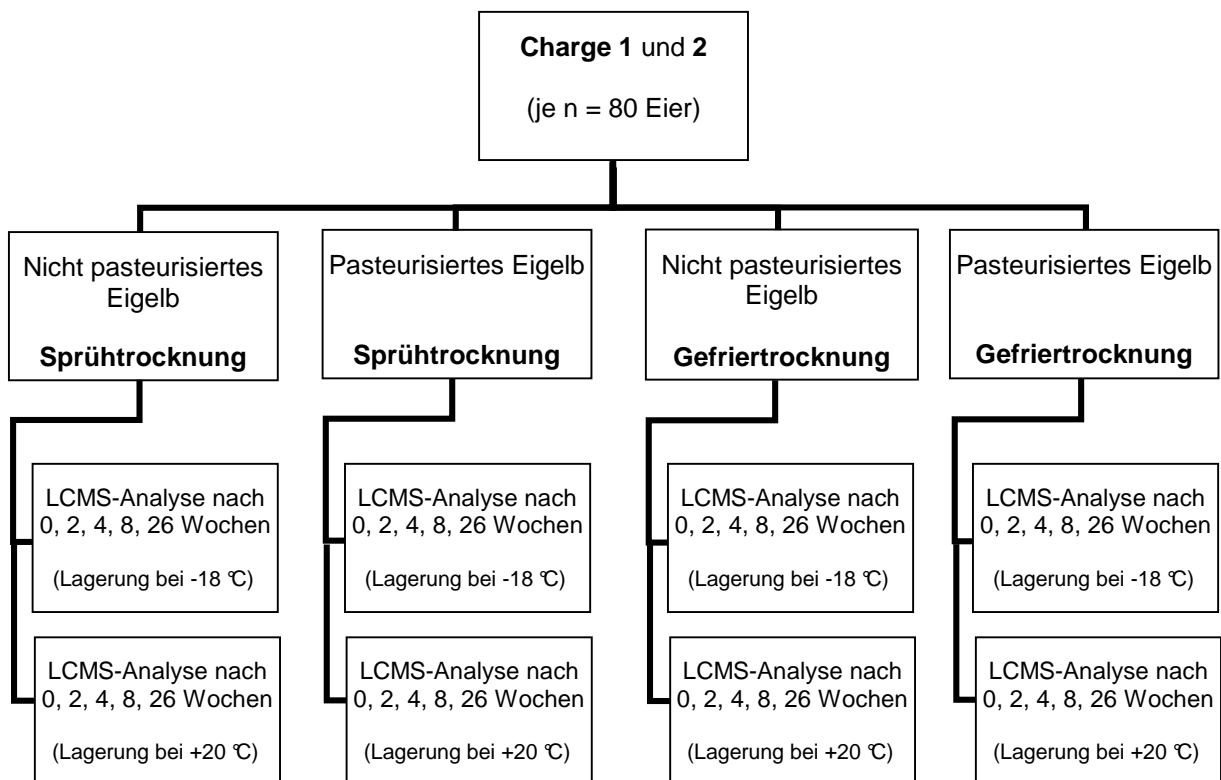


Abb. 3-1: Fließschema über die Probenahme der Eigelbpulver-Proben

Aus den Stammlösungen werden jeweils durch Verdünnung vier Standardlösungen hergestellt, welche den zu erwartenden Konzentrationsbereich des biologischen Materials nach der Extraktion abdecken (vgl. Tab. 3-1). Die LCMS-Analysen erfolgen jeweils umgehend nach der Herstellung der Standardlösungen.

Tab. 3-1: Verdünnungsstufen der Standardlösungen [µg/ml]

Xanthophyll	Verdünnungsstufe			
	1	2	3	4
Lutein	0,125	0,25	0,50	0,75
Zeaxanthin	0,125	0,25	0,50	0,75
Canthaxanthin	0,10	0,40	0,50	0,80
β-Apo-8'-Carotinsäureethylester	0,25	0,50	0,75	1,00

Anhand der jeweiligen Verdünnungsstufen, wobei die Berechnung auf Basis von Peakflächen bzw. Peakhöhen aus den vorliegenden Chromatogrammen erfolgen

kann, sind für alle zu untersuchenden Xanthophylle Kalibriergeraden erstellbar. Die LCMS-Analysen der Standardlösungen erfolgen unter den in Kap. 3.6.5 genannten chromatographischen Bedingungen.

3.6.2 Probenaufarbeitung

3.6.2.1 Extraktion der Xanthophylle aus dem Probenmaterial

Die Extraktion der Xanthophylle aus nativem, pasteurisiertem und getrocknetem Eigelb erfolgt mit einer Kaltmethode auf Methanolbasis ohne Verseifung und unter Zuhilfenahme von Ultraschall. Eigene Vorarbeiten zeigen, dass durch eine Verseifung zwar geringfügig höhere Xanthophyllgehalte in einer Eigelbmatrix detektiert werden können, sich durch die hohe thermische Belastung im Rahmen der Aufarbeitung aber auch das Xanthophyllspektrum entscheidend verändern kann.

Mit Hilfe einer Analysenwaage werden unter Gelblicht 0,5 – 0,6 g Probenmaterial direkt in ein 75 ml-Zentrifugenröhrchen eingewogen. Zur Probe werden 13 ml Methanol pipettiert, das Röhrchen wird sofort mit Parafilm® luftdicht verschlossen. Nach 1-minütiger Ultraschallbehandlung, welche dem ersten Aufschluss der Eigelbmatrix dient, wird die Probe mittels eines Ultra-Turrax T25 für eine Minute bei 9500 U/min homogenisiert. Der Kopf des Ultra-Turrax T25 und die Gefäßinnenwand des Zentrifugenröhrchens werden mit je 1 ml Methanol gespült, um eventuell anhaftende Reste zu entfernen und somit Verluste zu vermeiden. Zur Vermeidung oxidativer Prozesse und einer Aufkonzentrierung durch Verdunstung wird das Zentrifugenröhrchen erneut mit Parafilm® verschlossen. Nach 20-minütiger Inkubation wird das Zentrifugenröhrchen in einer Laborzentrifuge (Labofuge 400R, Heraeus Instruments, Osterode am Harz, Deutschland) bei 4500 U/min und +20 °C abzentrifugiert. Es bildet sich bei allen untersuchten Proben ein fester, nahezu weißer Bodensatz (vgl. Abbildung 3-2), bestehend aus Fetten, Proteinen und anderen Makro- und Mikronährstoffen, ebenso ein leuchtend gelb-orangefarbener Überstand, welcher die in Methanol gelösten Xanthophylle enthält. Vom Überstand werden 1,5 ml mit einer Einmalspritze abgenommen und durch einen 45 µm-Spritzenfilter direkt ins HPLC-Vial gegeben, welches umgehend unter den in Kapitel 3.6.5 genannten chromatographischen Bedingungen analysiert wird.



Abb. 3-2: Farbloser Bodensatz nach dem Zentrifugieren

Einen zusammenfassenden Überblick über die während der Extraktion ablaufenden Einzelschritte bietet Abbildung 3-3.

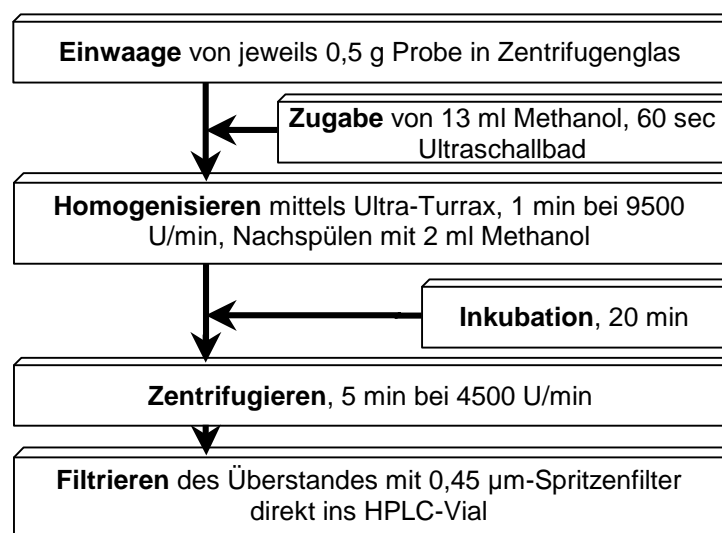


Abb. 3-3: Fließschema der Probenextraktion

Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit und Effektivität der gewählten Extraktionsmethode zum kompletten Herauslösen der Xanthophylle aus der Eigelbmatrix wird das gewählte Extraktionsverfahren (vgl. Abb. 3-3) zwei weiteren Verfahren gegenübergestellt, bei denen zum einen kein Ultraschall (vgl. Abb. 3-4) angewandt wird und zum anderen ein anderes (unpolareres) Lösungsmittelgemisch (vgl. Abb. 3-5) zum Einsatz kommt. Um eine Vergleichbarkeit zu ermöglichen, wird auf der einen Seite frisches und auf der anderen Seite gefriergetrocknetes Eigelb

homogenisiert und zur Analyse herangezogen (jeweils $n = 4$). Zudem werden die jeweiligen Extraktionsrückstände, welche nach der ersten Extraktion im Zentrifugenglas verbleiben, einer zweiten Extraktion unterworfen. Um die Effekte der einzelnen Extraktionsschritte nachvollziehen zu können, werden die Überstände aus jeweils erster und zweiter Extraktion nicht kombiniert und aufkonzentriert, sondern separat in die HPLC-Anlage injiziert.

Bei Betrachtung der Extraktion aus frischem Eigelb (siehe Tabelle 3-2) kann konstatiert werden, dass eine einmalige Extraktion mit reinem Methanol und mit Unterstützung von Ultraschall, im Vergleich zu einer 2-maligen Extraktion mit reinem Methanol und ohne Ultraschall bzw. einer 2-maligen Extraktion mit einer Mischung aus Methanol und TBME im Verhältnis 2:1 (v/v) und Unterstützung von Ultraschall, zu den höchsten Gehalten an *all-E*-Lutein, *all-E*-Zexanthin, *13-Z*-Lutein und *13-Z*-Zexanthin führt. Allein bei Betrachtung der vergleichsweise unpolaren Xanthophylle *all-E*-Canthaxanthin und *9-Z*-Canthaxanthin ist zu beobachten, dass die präferierte Extraktionsmethode mit reinem Methanol zu etwas niedrigeren Gehalten führt. Dies kann mit den polaren Eigenschaften des Methanols begründet werden.

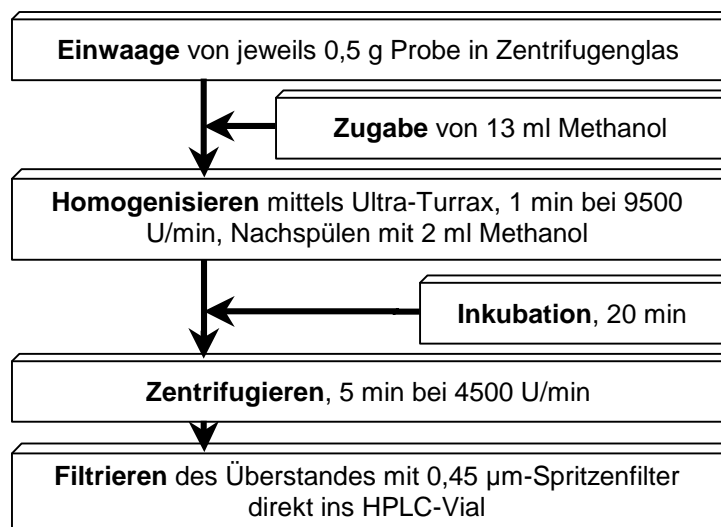


Abb. 3-4: Fließschema der alternativen Probenextraktion ohne Ultraschallbehandlung

Unter Berücksichtigung des Gesamt-xanthophyllgehaltes als Gradmesser erweist sich die beschriebene Methode als hervorragend geeignet, da mit ihr keine signifikant niedrigeren Gehalte ($P > 0,05$) detektiert werden als mit einer 2-fachen Methanolextraktion ohne Ultraschall und gleichzeitig signifikant höhere Gehalte ($P < 0,05$) als mit einer 2-fachen Extraktion mit Unterstützung von Ultraschall auf

Basis eines Lösungsmittelgemisches aus Methanol und TBME im Verhältnis 2:1 (v/v).

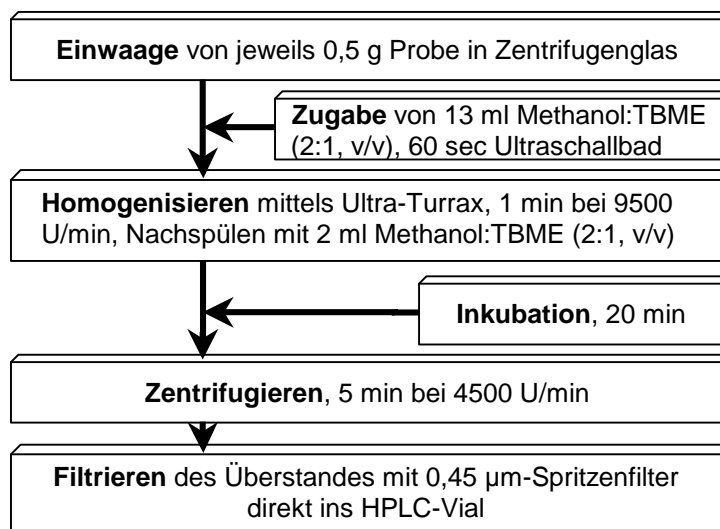


Abb. 3-5: Fließschema der alternativen Probenextraktion mit unpolarerem Lösungsmittelgemisch

Tab. 3-2: Xanthophyllgehalte in homogenisiertem frischem Eigelb nach Extraktion mittels dreier Extraktionsverfahren (entsprechende Fließschemata siehe Abbildungen 3-3, 3-4 und 3-5)

	Methanol + Ultraschall nach 1. Extraktion	Methanol + Ultraschall nach 2. Extraktion	Methanol ohne Ultraschall nach 1. Extraktion	Methanol ohne Ultraschall nach 2. Extraktion	Methanol/TBME + Ultraschall nach 1. Extraktion	Methanol/TBME + Ultraschall nach 2. Extraktion
<i>all-E</i> -Lutein	540,9 ± 6,6	n.d.	494,9 ± 12,2	530,4 ± 8,0	344,8 ± 21,1	344,8 ± 21,1
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	365,8 ± 21,4	n.d.	305,8 ± 3,9	329,7 ± 4,6	263,9 ± 12,3	263,9 ± 12,3
<i>13-Z</i> -Lutein	5,4 ± 3,2	n.d.	23,3 ± 1,8	23,3 ± 1,8	8,3 ± 1,5	8,3 ± 1,5
<i>13-Z</i> -Zeaxanthin	74,8 ± 3,6	n.d.	75,1 ± 0,8	75,1 ± 0,8	60,6 ± 6,7	60,6 ± 6,7
<i>9-Z</i> -Canthaxanthin	200,5 ± 4,8	n.d.	207,5 ± 16,1	226,7 ± 16,1	221,7 ± 8,0	221,7 ± 8,0
<i>all-E</i> -Canthaxanthin	468,8 ± 12,6	n.d.	467,0 ± 7,6	519,7 ± 10,8	517,0 ± 16,5	517,0 ± 16,5
Gesamt	1676,2 ± 54,0	n.d.	1573,6 ± 30,6	1704,9 ± 27,8	1416,3 ± 58,7	1416,3 ± 58,7

n.d. nicht durchgeführt

Auch bei Betrachtung der Xanthophyllgehalte nach Anwendung der drei Verfahren zur Extraktion von Xanthophyllen aus gefriergetrocknetem Eigelb (siehe Tabelle 3-3) kann festgestellt werden, dass eine einmalige Extraktion mit reinem Methanol mit Unterstützung von Ultraschall, im Vergleich zu einer 2-maligen Extraktion mit reinem Methanol und ohne Ultraschall bzw. einer 2-maligen Extraktion mit einer Mischung aus Methanol und TBME im Verhältnis 2:1 (v/v) mit Unterstützung von Ultraschall, zu den höchsten Gehalten an *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, *13-Z*-Lutein und *13-Z*-Zeaxanthin führt. Nach Durchführung einer zweiten Extraktion mit Methanol und

Ultraschall ergeben sich noch etwas höhere Gehalte, jedoch sind diese Änderungen nicht signifikant ($P > 0,05$). Werden die im getrockneten Eigelb ermittelten Gehalte an β -Apo-8'-Carotinal, einem vergleichsweise unpolaren Xanthophyll, herangezogen, ist bei Vergleich der drei Extraktionsverfahren kein signifikanter Unterschied auszumachen.

Wird jedoch erneut der Gesamt-xanthophyllgehalt als Maßstab herangezogen, erweist sich die beschriebene Methode als hervorragend geeignet, da mit ihr signifikant höhere Gehalte ($P < 0,05$) detektiert werden als mit einer 2-fachen Methanol-extraktion ohne Ultraschall und gleichzeitig signifikant höhere Gehalte ($P < 0,05$) als mit einer 2-fachen Extraktion mit Unterstützung von Ultraschall auf Basis eines Lösungsmittelgemisches aus Methanol und TBME im Verhältnis 2:1 (v/v). Allein die Durchführung einer zweiten Extraktion führt zu einem marginal höheren Gesamt-xanthophyllgehalt, die Differenz ist jedoch nicht signifikant ($P > 0,05$).

Tab. 3-3: Xanthophyllgehalte in homogenisiertem gefriergetrockneten Eigelb nach Extraktion mittels dreier Extraktionsverfahren (entsprechende Fließschemata siehe Abbildungen 3-3, 3-4 und 3-5)

	Methanol + Ultraschall nach 1. Extraktion	Methanol + Ultraschall nach 2. Extraktion	Methanol ohne Ultraschall nach 1. Extraktion	Methanol ohne Ultraschall nach 2. Extraktion	Methanol/TBME + Ultraschall nach 1. Extraktion	Methanol/TBME + Ultraschall nach 2. Extraktion
<i>all-E</i> -Lutein	436,0 ± 14,2	455,7 ± 14,5	399,8 ± 16,6	418,8 ± 16,0	219,4 ± 8,8	230,6 ± 8,3
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	268,0 ± 12,5	282,2 ± 13,1	258,4 ± 30,7	271,1 ± 30,9	172,4 ± 7,4	181,1 ± 8,2
<i>13-Z</i> -Lutein	32,5 ± 2,6	32,5 ± 2,6	25,0 ± 3,4	25,0 ± 3,4	25,9 ± 0,9	25,9 ± 0,9
<i>13-Z</i> -Zeaxanthin	61,7 ± 2,4	61,7 ± 2,4	53,8 ± 3,6	53,8 ± 3,6	41,5 ± 3,9	41,5 ± 3,9
β -Apo-8'-Carotinal	184,7 ± 4,9	184,7 ± 4,9	180,6 ± 5,7	180,6 ± 5,7	192,1 ± 11,6	192,1 ± 11,6
Gesamt	983,0 ± 31,1	1016,8 ± 32,2	917,7 ± 50,5	949,5 ± 49,9	651,3 ± 15,4	671,2 ± 15,9

Als Ergebnis dieses Vergleiches wird festgehalten, dass nach Anwendung der präferierten Extraktionsmethode im Vergleich zu den beiden Alternativverfahren die höchsten Xanthophyllgehalte detektiert werden (siehe Tabellen 3-2 und 3-3), zudem ein farbloser Rückstand im Zentrifugenglas verbleibt (siehe Abbildung 3-2), was auf eine nahezu vollständige Extraktion hinweist.

3.6.2.2 Validierung der Extraktion – Bestimmung der Wiederfindung

Als Maß für die Richtigkeit eines Analyseverfahrens gilt die Wiederfindung. Sie ist bei einer mangelnden Übereinstimmung von gefundenem und wahren Wert als Indikator

für das Vorliegen eines systematischen Fehlers zu werten und daher ein wichtiger Validierungsparameter [GOTTWALD 2000].

Da keine Referenzmaterialien mit entsprechender Probenmatrix und zertifizierten Xanthophyllgehalten auf dem Markt erhältlich sind, wird zur Ermittlung der Wiederfindung freier Xanthophylle natives, homogenisiertes Eigelb (Eier aus Bodenhaltung, Güteklasse A, Gewichtsklasse L, NL-415, MHD 20.05.2009, LIDL) je dreimal mit konstanten Konzentrationen an Lutein (0,5 µg/ml Methanol), Zeaxanthin (2,6 µg/ml Methanol), Canthaxanthin (1,7 µg/ml Methanol) und β-Apo-8'-Carotinsäureethylester (2,4 µg/ml Methanol) dotiert. Die Berechnung der Wiederfindungsrate *W* erfolgt nach KROMIDAS nach Gleichung 3-2 [KROMIDAS 2000].

$$W = \frac{c_1 - c_2}{c_3} \cdot 100 \%$$

Gl. 3-2: Berechnung der Wiederfindungsrate.

mit:

W	[%]	Wiederfindungsrate
c₁	[µg/l]	Konzentration bei Gabe von 0,5 ml Kalibrierlösung zu 15 ml Probenlösung
c₂	[µg/l]	Konzentration bei Gabe von 0,5 ml Lösungsmittel zu 15 ml Probenlösung
c₃	[µg/l]	Konzentration bei Gabe von 0,5 ml Kalibrierlösung zu 15 ml Lösungsmittel

3.6.3 LCMS-System

Zur qualitativen und quantitativen Determination der Xanthophylle kommt im Vitaminlabor (ganzjährig klimatisiert auf +20 °C) unter Gelblicht ein LCMS-System zum Einsatz, welches aus einer kompakten HPLC-Anlage mit Kopplung an ein Massenspektrometer besteht.

HPLC-Anlage

Entgaser, Pumpe, Autosampler:	Waters 2695 (Waters, Eschborn, Deutschland)
Detektor	Photodiodenarray-Detektor Waters PDA 996 (Waters, Eschborn, Deutschland)

beheizbarer Säulenofen	Gynkotek STH 585 (Gynkotek, Germering, Deutschland)
HPLC-Vorsäule	Stability 100 C30 endcapped, 5 µm, 10 mm x 4,0 mm (Dr. Maisch, Ammerbuch, Deutschland)
HPLC-Säule	Stability 100 C30 endcapped, 5 µm, 250 mm x 4,6 mm (Dr. Maisch, Ammerbuch, Deutschland)

Massenspektrometer

Triple-Quad-Massenspektrometer	Quattro LC (micromass, Manchester, Großbritannien)
Stickstoff-Versorgung	NGM-11 (CMC Instruments, Eschborn, Deutschland)
Druckluft (0,8 MPa)	DK50-2x2V/110 (ekom, Piešťany, Slowakei)
Wasserkühlung	WK 500 (Lauda, Lauda-Königshofen, Deutschland)

Die Steuerung des LCMS-Systems und das Aufzeichnen bzw. Auswerten der Daten erfolgen unter Nutzung der Software MassLynx 4.0 (Waters, Eschborn, Deutschland).

3.6.4 Eluenten

Es kommt ein binäres Eluentensystem zum Einsatz, bestehend aus Eluent A (Methanol, bidestilliertes Wasser, Ameisensäure) im Verhältnis 994:5:1 (v/v/v) und Eluent B (*tert*-Butylmethylether, Methanol) im Verhältnis 93:7 (v/v). Zur Herstellung von einem Liter des Eluenten A werden 782,18 g Methanol, 5,00 g bidestilliertes Wasser und 1,22 g Ameisensäure benötigt. Für einen Liter des Eluenten B müssen 688,20 g *tert*-Butylmethylether und 55,08 g Methanol eingewogen werden.

Die Chemikalien zur Herstellung der Eluenten werden nach fallenden Masseanteilen genau an einer Analysenwaage abgewogen. Nach der Herstellung eines jeden Eluenten erfolgt eine 10-minütige Entgasung im Ultraschallbad.

3.6.5 Chromatographische Bedingungen

Elution

Die Eluenten A und B werden isokratisch eingesetzt. Während der kompletten Laufzeit mit einer Flussrate von 1,1 ml/min beträgt deren Verhältnis 93:7 (A:B). Als Säulentemperatur werden +30 °C gewählt.

HPLC-Parameter

Lauflänge:	20 Minuten
Injektionsvolumen:	40 µl
Aufzuzeichnender Wellenlängenbereich:	220 – 600 nm bei einer Auflösung von 1,2 nm

Einstellungen des Massenspektrometers

Modus:	APCI+
Temperatur APCI-Quelle:	+150 °C
Temperatur APCI-Probe:	+450 °C
Coronanadel-Spannung:	3,1 V
Spannung der RF-Linse:	0,1 kV
Nebuliser-Gas:	N ₂ , Flussrate 150 l/h
Desolvations-Gas:	N ₂ , Flussrate 800 l/h
Massenbereich:	400 – 600 <i>m/z</i>
Scandauer:	1,0 sec
Zeitversatz zwischen den Scans:	0,1 sec

3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgt computerunterstützt mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft® Office Excel 2003. Zur Überprüfung von signifikanten Unterschieden der Xanthophyllgehalte auf den einzelnen Verarbeitungs- und Lagerungsstufen wird ein Modell eingesetzt, welches auf der einseitigen Varianzanalyse (ANOVA) aufbaut und Aussagen über Signifikanzklassen erlaubt. Diese können mit Hilfe von Indices gekennzeichnet werden. Aufgrund des zu erwartenden geringen Stichprobenumfanges pro Verarbeitungsstufe wird ein Signifikanzniveau mit Einbezug einer 5-prozentigen Fehlerwahrscheinlichkeit ($P < 0,05$) gewählt.

Die Verläufe der Gehalte der einzelnen Xanthophylle während der Lagerung werden durch Regressionslinien beschrieben, deren Gleichungen und Bestimmtheitsmaße angegeben werden.

4 Ergebnisse

4.1 Qualitative Bestimmung der Xanthophylle

4.1.1 Standardlösungen

Aufgrund der sich teilweise abzeichnenden Überlappung von *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, *13-Z*-Lutein und *13-Z*-Zeaxanthin erfolgt die Erstellung der Kalibriergeraden (s. Abb. 4-1 bis 4-4) nicht auf Basis der Peakflächen, sondern auf Grundlage der Peakhöhen. Da kommerziell keine Standardsubstanzen für *Z*-Isomere erhältlich sind, werden zu deren Quantifikation die Kalibriergeraden der zugehörigen *all-E*-Verbindungen herangezogen. Die HPLC-Analysen der Standardlösungen für Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester (vgl. Tabelle 3-1) ergeben die in Tabelle 4-1 ausgewiesenen Peakhöhen. Beispielchromatogramme dieser vier Verbindungen sind in den Abbildungen 4-5 bis 4-8 dargestellt.

Tab. 4-1: Mittelwerte (n = 3) der Peakhöhen [AUs] zur Erstellung der Kalibriergeraden von Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester

Xanthophyll	Verdünnungsstufe			
	1	2	3	4
Lutein	2580 (0,125 $\mu\text{g/ml}$)	5248 (0,25 $\mu\text{g/ml}$)	10245 (0,50 $\mu\text{g/ml}$)	14688 (0,75 $\mu\text{g/ml}$)
Zeaxanthin	1892 (0,125 $\mu\text{g/ml}$)	3545 (0,25 $\mu\text{g/ml}$)	7061 (0,50 $\mu\text{g/ml}$)	11087 (0,75 $\mu\text{g/ml}$)
Canthaxanthin	1076 (0,10 $\mu\text{g/ml}$)	4171 (0,40 $\mu\text{g/ml}$)	5017 (0,50 $\mu\text{g/ml}$)	8653 (0,80 $\mu\text{g/ml}$)
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	3297 (0,25 $\mu\text{g/ml}$)	7020 (0,50 $\mu\text{g/ml}$)	10585 (0,75 $\mu\text{g/ml}$)	13561 (1,00 $\mu\text{g/ml}$)

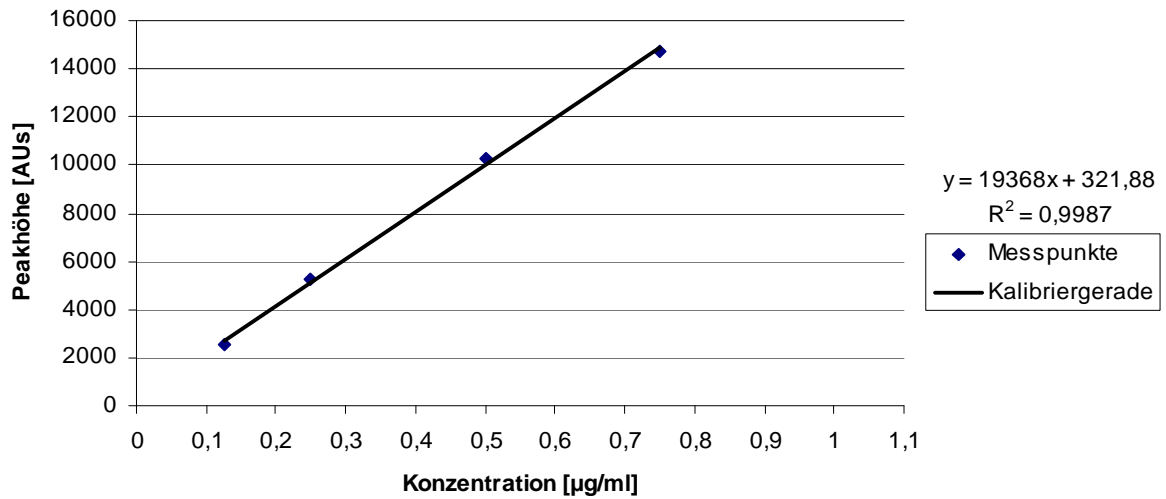


Abb. 4-1: Kalibriergerade, Gleichung und Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade von Lutein

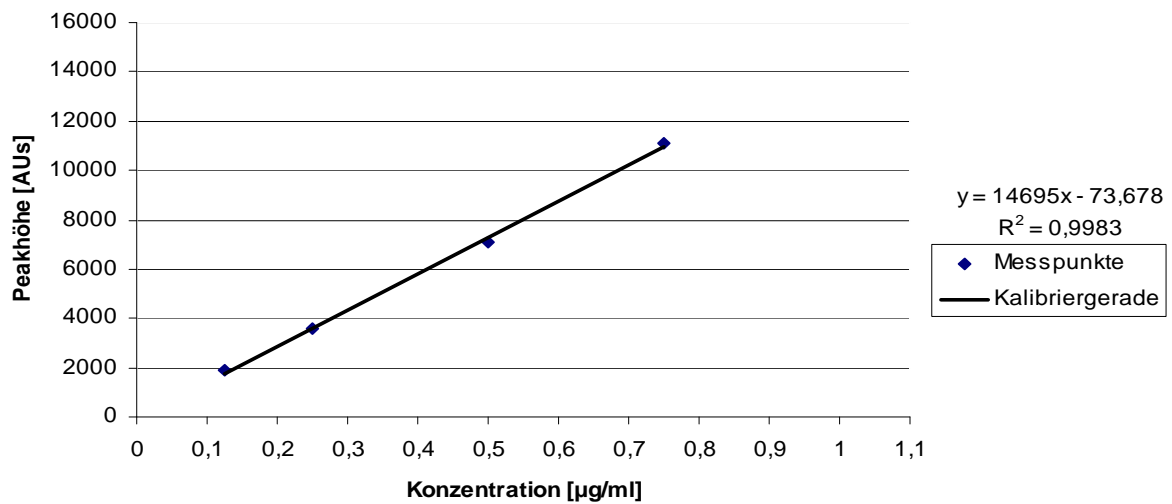


Abb. 4-2: Kalibriergerade, Gleichung und Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade von Zeaxanthin

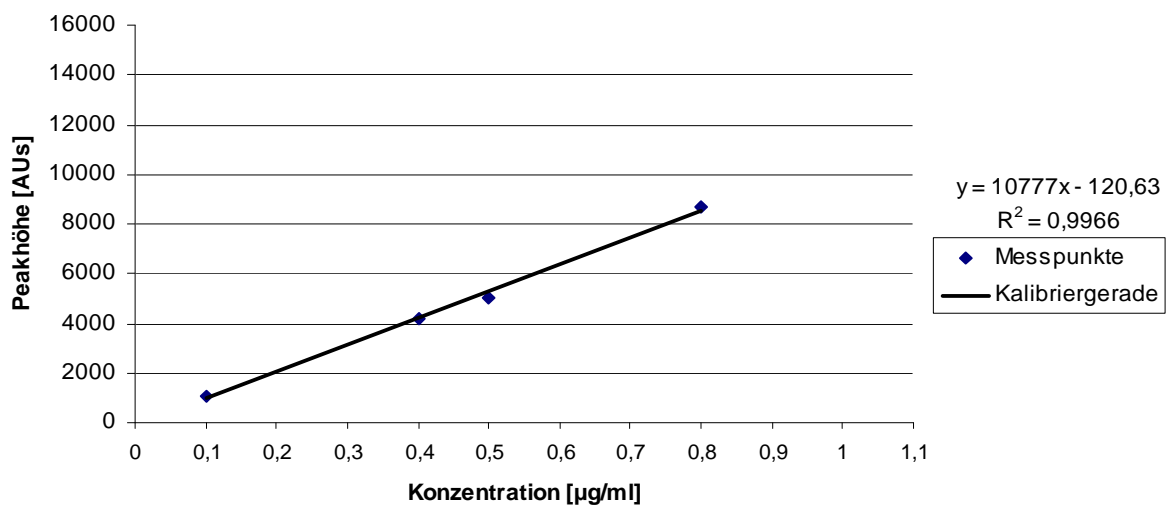


Abb. 4-3: Kalibriergerade, Gleichung und Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade von Canthaxanthin

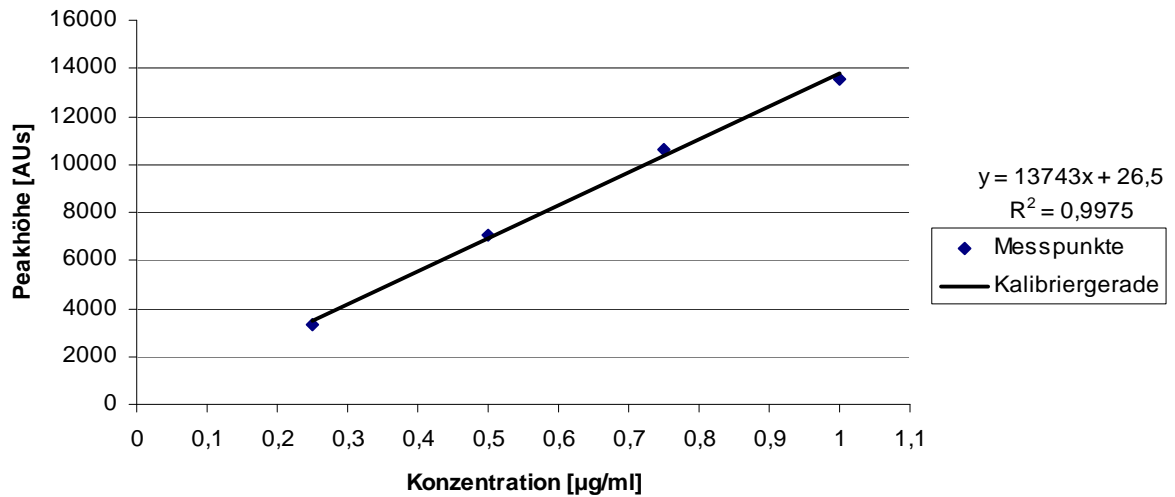


Abb. 4-4: Kalibriergerade, Gleichung und Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade von β -Apo-8'-Carotinsäureethylester

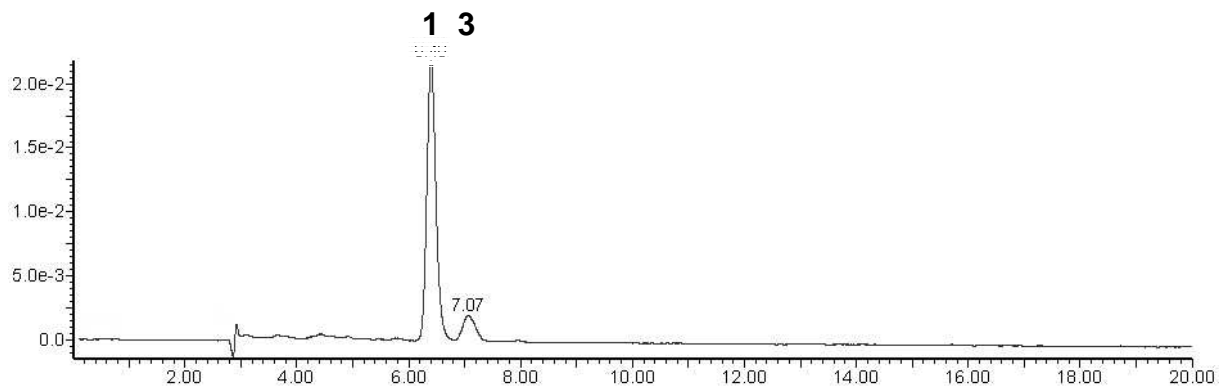


Abb. 4-5: Beispielchromatogramm einer Lutein-Standardlösung mit den Substanzen *all-E*-Lutein (1) und *13-Z*-Lutein (3). Die Detektion erfolgt bei 450 nm.

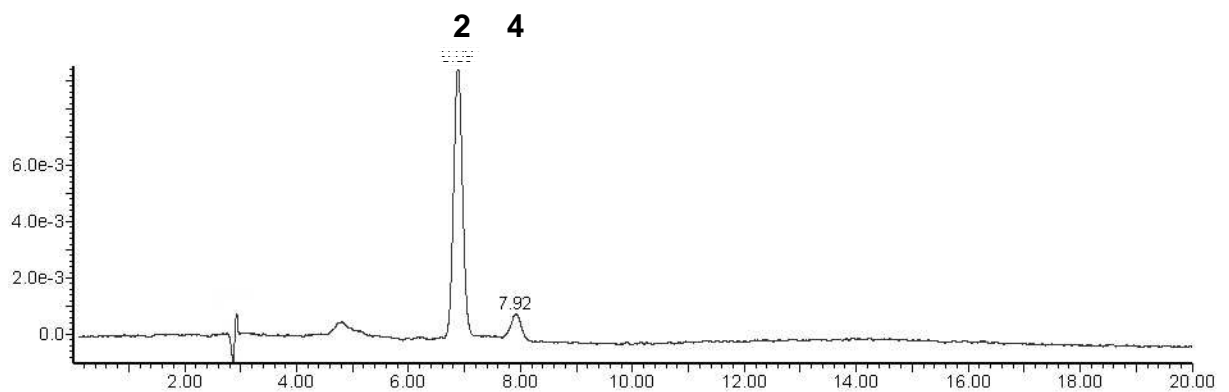


Abb. 4-6: Beispielchromatogramm einer Zeaxanthin-Standardlösung mit den Substanzen *all-E*-Zeaxanthin (2) und *13-Z*-Zeaxanthin (4). Die Detektion erfolgt bei 450 nm.

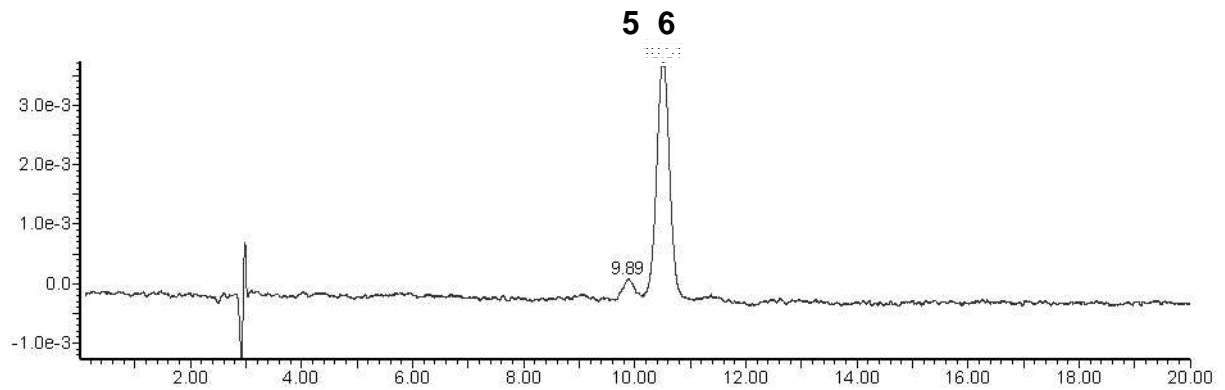


Abb. 4-7: Beispielchromatogramm einer Canthaxanthin-Standardlösung mit den Substanzen 9-Z-Canthaxanthin (5) und *all-E*-Canthaxanthin (6). Die Detektion erfolgt bei 450 nm.

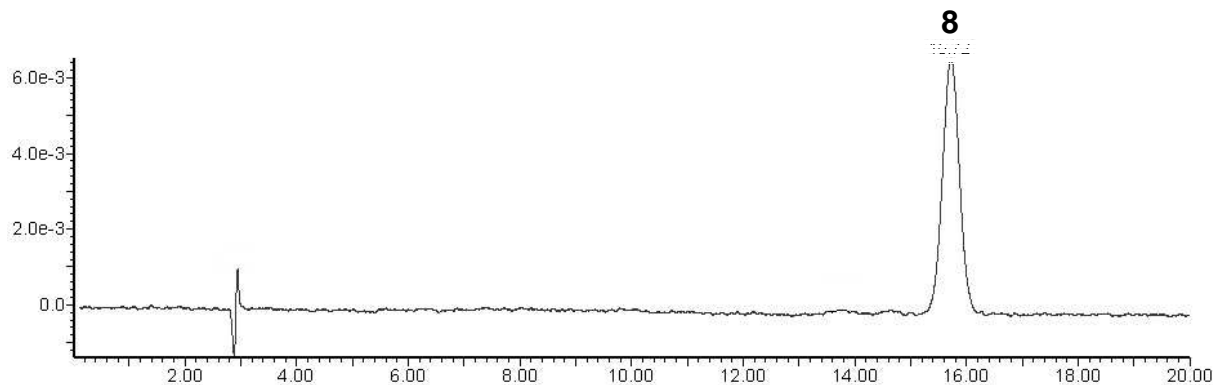


Abb. 4-8: Beispielchromatogramm einer β -Apo-8'-Carotinsäureethylester-Standardlösung mit der Substanz β -Apo-8'-Carotinsäureethylester (8). Die Detektion erfolgt bei 450 nm.

4.1.2 Eigelbproben

Qualitative Xanthophyllanalysen zeigen, dass im Vergleich zu den unbehandelten, nativen Proben durch die einzelnen Verarbeitungsschritte keine zusätzlichen Peaks auftauchen. Es werden in jeder Probe zwölf Peaks detektiert (vgl. Abb. 4-9), von denen acht quantitativ bedeutsam sind und aufgrund von charakteristischen Retentionszeiten, UV-Spektren, Q-Ratios und Molekülmassen zugeordnet werden können. Die Identifikation der Peaks erfolgt unter Nutzung der in Tabelle 4-2 aufgeführten Parameter u.a. durch Vergleich mit Literaturwerten [SCHLATTERER 2006, GLASER 2001, WEI 1997].

Für die in den Chromatogrammen auftauchenden und im Beispielchromatogramm mit **a**, **b**, **c** und **d** (vgl. Abbildung 4-9) bezeichneten Minorkomponenten ist keine Auswertung möglich, da weder die Retentionszeiten, noch die sehr schwachen Signale der UV-Spektren und Molekülmassen eine Identifikation zulassen.

Tab. 4-2: Spektroskopische und LCMS-Daten, welche zur Identifikation von Xanthophyllen in nativem und verarbeitetem Eigelb herangezogen werden

Xanthophyll ^a	UV-VIS-Maxima ^b			Q-Ratio	Molekülmasse
<i>all-E</i> -Lutein (1)	420	443	474	III/II 0,61	569
<i>all-E</i> -Zeaxanthin (2)	420	446	475	III/II 0,23	569
13- <i>Z</i> -Lutein (3)	417	441	472	III/II 0,30	569
13- <i>Z</i> -Zeaxanthin (4)	416	442	473	III/II 0,11	569
9- <i>Z</i> -Canthaxanthin (5)	363	478		I/II 0,23	565
<i>all-E</i> -Canthaxanthin (6)		478			565
<i>Z</i> -Isomer Canthaxanthin (7)		478 ^c			565 ^c
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester (8)		445			461

^a aufgeführt entsprechend der Elutionsreihenfolge

^b bestimmt in den HPLC-Eluenten

^c schwaches Signal

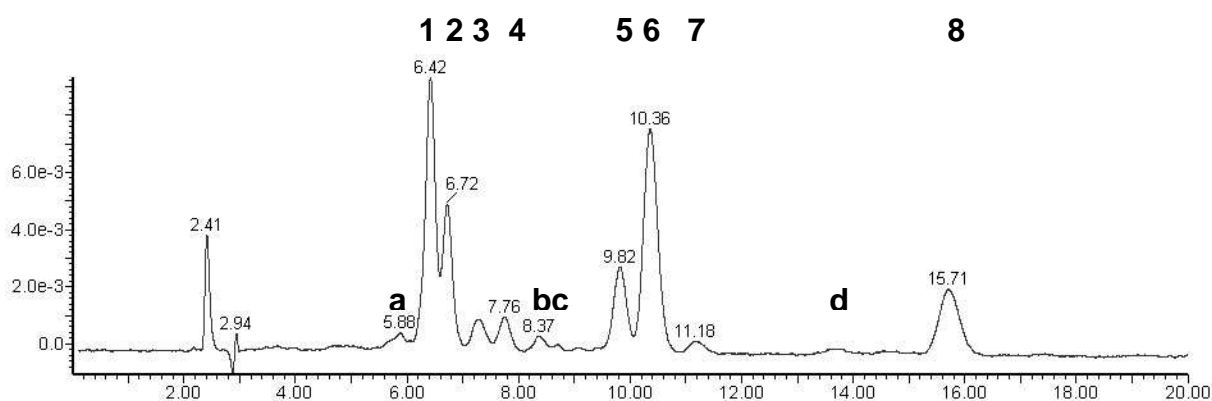


Abb. 4-9: Beispielchromatogramm eines pasteurisierten, sprühgetrockneten Eigelbes. Die Peak-Nummerierungen 1 bis 8 entsprechen denen von Tabelle 4-2, die Peak-Bezeichnungen a, b, c und d repräsentieren nicht identifizierbare Komponenten. Die Detektion erfolgt bei 450 nm.

4.2 Quantitative Bestimmung der Xanthophylle

4.2.1 Bestimmung der Trockenmasse nach § 64 LFGB

Die Doppelbestimmungen pro Probe ergeben nur minimal voneinander abweichende Ergebnisse. In die Quantifikation der Xanthophylle auf der jeweiligen Verarbeitungsstufe fließen die entsprechenden Mittelwerte ein. Da im Verlauf der Lagerung der Eigelbpulver keine Veränderungen der Trockenmasse auftreten, erfolgt die Quantifikation der Xanthophylle nach 2, 4, 8 und 26 Wochen auf Basis der Eigelbpulver zum Zeitpunkt Null.

Die Proben der Eier-Chargen 1 und 2 weisen auf den jeweiligen Verarbeitungsstufen die in den Tabellen 4-3 und 4-4 gezeigten Trockenmassen auf.

Tab. 4-3: Trockenmassen der aus Eier-Charge 1 erzeugten Eiprodukte [g/100 g]

	nativ		sprühgetrocknet		gefriergetrocknet	
	nicht pasteurisiert	pasteurisiert	nicht pasteurisiert	pasteurisiert	nicht pasteurisiert	pasteurisiert
Bestimmung 1	49,13	49,97	98,42	98,30	98,76	99,10
Bestimmung 2	49,23	49,42	98,34	98,05	98,82	99,40
Mittelwert	49,18	49,69	98,38	98,17	98,79	99,25

Tab. 4-4: Trockenmassen der aus Eier-Charge 2 erzeugten Eiprodukte [g/100 g]

	nativ		sprühgetrocknet		gefriergetrocknet	
	nicht pasteurisiert	pasteurisiert	nicht pasteurisiert	pasteurisiert	nicht pasteurisiert	pasteurisiert
Bestimmung 1	48,73	49,04	97,86	97,88	97,71	98,98
Bestimmung 2	48,66	48,98	97,93	97,83	97,68	98,78
Mittelwert	48,69	49,01	97,89	97,85	97,70	98,88

4.2.2 Validierung der Extraktion – Bestimmung der Wiederfindung

HPLC-Analysen (jeweils $n = 9$) ergeben bei Anwendung der in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Kalibriergeraden für die Xanthophylle Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester die in Tabelle 4-5 ausgewiesenen Konzentrationen $c_1 - c_3$.

Tab. 4-5: Mittelwerte ($n = 9$) der Konzentrationen $c_1 - c_3$ [$\mu\text{g/l}$] zur Berechnung der Wiederfindungsraten von Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester

Xanthophyll	c_1	c_2	c_3
Lutein	330,20	292,68	11,04
Zeaxanthin	304,16	252,41	54,48
Canthaxanthin	37,78	0*	39,60
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	52,36	0*	55,10

* im nativen Material nicht nachweisbar

Nach dem Einsetzen der in Tab. 4-5 gezeigten Werte in Gleichung 3-2 ergeben sich folgende Wiederfindungsraten W :

- Lutein: W = 95,3 %,
- Zeaxanthin: W = 95,0 %,
- Canthaxanthin: W = 95,4 %,
- β -Apo-8'-Carotinsäureethylester: W = 95,0 %.

4.2.3 Absolute Xanthophyllgehalte

Unter Einbeziehen der jeweiligen Einwaagen, Trockenmassen und Wiederfindungsraten ergeben sich für die aus den Eiern der Chargen 1 und 2 erzeugten Eiprodukte die in den Tabellen 4-6 bis 4-13 dargestellten Xanthophyllgehalte.

Tab. 4-6: Xanthophyllgehalte in nativem und sprühgetrocknetem Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 1, ohne Pasteurisation. Darstellung als Mittelwerte \pm Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

Probe	$\mu\text{g}/100 \text{ g Eigelb}$								gesamt
	1	2	3	4	5	6	7	8	
nativ	729,1 \pm 33,5 ^a	549,2 \pm 27,5 ^a	32,8 \pm 6,0 ^a	111,1 \pm 4,9 ^a	429,7 \pm 26,8 ^{ad}	1111,6 \pm 58,1 ^a	75,3 \pm 5,6 ^{ad}	221,9 \pm 7,2 ^a	3260,9 \pm 154,4
sprühgetrocknet	882,7 \pm 45,9 ^b	689,9 \pm 41,7 ^b	81,1 \pm 5,5 ^b	150,1 \pm 10,1 ^b	460,4 \pm 21,7 ^b	1147,4 \pm 55,5 ^b	75,9 \pm 2,3 ^a	265,8 \pm 23,9 ^{bd}	3753,3 \pm 189,6
2 Wochen	547,3 \pm 31,6 ^c 734,8 \pm 31,6 ^e	338,3 \pm 13,0 ^c 489,5 \pm 31,4 ^e	73,4 \pm 3,8 ^c 83,1 \pm 6,3 ^b	67,3 \pm 5,2 ^c 105,3 \pm 5,1 ^f	400,1 \pm 11,6 ^c 427,2 \pm 13,5 ^d	1043,9 \pm 29,6 ^b 1125,0 \pm 38,9 ^b	74,1 \pm 3,7 ^a 81,6 \pm 4,1 ^{cde}	266,5 \pm 13,7 ^{bd} 295,6 \pm 20,7 ^d	2810,8 \pm 42,6 3342,1 \pm 112,2
4 Wochen	481,3 \pm 47,1 ^d 404,3 \pm 5,2 ^e	344,6 \pm 32,7 ^c 284,0 \pm 6,0 ^f	54,7 \pm 7,9 ^d 44,1 \pm 1,8 ^e	50,9 \pm 13,2 ^d 41,1 \pm 1,7 ^g	433,3 \pm 17,0 ^{ad} 448,4 \pm 6,4 ^{ab}	1004,2 \pm 52,2 ^{bcd} 1006,4 \pm 12,7 ^b	66,9 \pm 3,3 ^b 75,4 \pm 1,9 ^b	261,8 \pm 11,1 ^b 274,3 \pm 5,9 ^e	2697,7 \pm 154,4 2577,9 \pm 22,5
8 Wochen	472,8 \pm 25,7 ^d 382,2 \pm 15,0 ^f	315,7 \pm 5,6 ^d 256,9 \pm 11,3 ^g	59,5 \pm 2,0 ^d 41,7 \pm 1,6 ^f	75,7 \pm 2,5 ^e 40,6 \pm 1,2 ^g	446,0 \pm 9,9 ^{ab} 400,8 \pm 13,7 ^c	962,6 \pm 37,7 ^{cd} 951,4 \pm 23,7 ^d	74,4 \pm 4,9 ^b 79,0 \pm 3,6 ^{de}	243,5 \pm 15,6 ^{cd} 235,8 \pm 4,5 ^f	2650,3 \pm 81,2 2388,6 \pm 62,8
26 Wochen	477,0 \pm 15,1 ^d 372,1 \pm 6,6 ^f	311,4 \pm 5,5 ^d 251,8 \pm 2,8 ^g	58,6 \pm 1,9 ^d 42,4 \pm 1,3 ^f	77,8 \pm 2,3 ^e 43,4 \pm 1,0 ^d	420,7 \pm 12,0 ^d 388,5 \pm 7,8 ^e	955,4 \pm 21,7 ^d 919,8 \pm 9,8 ^f	76,4 \pm 4,6 ^{abd} 79,8 \pm 3,2 ^e	244,0 \pm 6,6 ^c 233,7 \pm 3,8 ^f	2621,3 \pm 50,4 2331,6 \pm 28,1

^{a-f} Mittelwerte einer Spalte mit unterschiedlichen Indices unterscheiden sich signifikant (P < 0,05)

Tab. 4-7: Xanthophyllgehalte in nativem und sprühgetrocknetem Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 1, mit Pasteurisation. Darstellung als Mittelwerte \pm Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

Probe	$\mu\text{g}/100 \text{ g Eigelb}$								gesamt
	1	2	3	4	5	6	7	8	
nativ	729,1 \pm 33,5	549,2 \pm 27,5	32,8 \pm 6,0	111,1 \pm 4,9	429,7 \pm 26,8	1111,6 \pm 58,1	75,3 \pm 5,6	221,9 \pm 7,2	3260,9 \pm 154,4
pasteurisiert	747,6 \pm 20,3 ^a	573,9 \pm 25,7 ^a	31,0 \pm 4,1 ^a	118,6 \pm 7,9 ^a	436,4 \pm 9,6 ^a	1103,9 \pm 45,0 ^{ab}	79,5 \pm 6,6 ^a	234,3 \pm 13,3 ^a	3325,3 \pm 104,9
sprühgetrocknet	954,4 \pm 18,8 ^b	757,1 \pm 19,3 ^b	86,2 \pm 4,1 ^b	162,1 \pm 4,4 ^b	502,9 \pm 10,5 ^b	1232,9 \pm 26,2 ^b	80,6 \pm 3,0 ^a	320,2 \pm 12,3 ^b	4096,5 \pm 87,4
2 Wochen	679,9 \pm 35,0 ^c 769,9 \pm 20,5 ^f	414,3 \pm 27,9 ^c 523,7 \pm 22,8 ^g	77,4 \pm 2,3 ^c 79,9 \pm 5,3 ^c	82,9 \pm 4,9 ^c 105,9 \pm 3,3 ^g	411,2 \pm 8,5 ^c 427,8 \pm 14,4 ^{af}	1069,9 \pm 19,8 ^a 1139,4 \pm 35,8 ^e	73,1 \pm 3,3 ^b 78,5 \pm 3,2 ^e	281,1 \pm 10,5 ^c 303,6 \pm 19,9 ^f	3089,8 \pm 101,4 3428,5 \pm 104,3
4 Wochen	454,8 \pm 15,3 ^d 239,3 \pm 16,5 ^g	306,1 \pm 5,9 ^d 233,3 \pm 3,1 ^h	46,4 \pm 3,4 ^d 26,3 \pm 0,1 ^f	39,3 \pm 1,8 ^d 28,9 \pm 1,6 ^h	468,6 \pm 6,8 ^d 525,7 \pm 7,8 ^f	1003,9 \pm 20,6 ^c 917,3 \pm 9,0 ^{af}	67,2 \pm 1,4 ^c 62,0 \pm 1,8 ^d	275,7 \pm 4,7 ^c 257,5 \pm 5,1 ^d	2662,0 \pm 40,5 2190,2 \pm 28,8
8 Wochen	423,2 \pm 11,3 ^e 239,5 \pm 4,8 ^g	287,9 \pm 9,0 ^e 235,9 \pm 5,4 ^h	49,3 \pm 2,4 ^e 43,1 \pm 2,3 ^g	41,6 \pm 2,2 ^e 39,7 \pm 2,5 ^{gh}	449,0 \pm 11,9 ^e 431,2 \pm 8,4 ^{af}	914,0 \pm 13,9 ^d 929,4 \pm 15,1 ^f	78,5 \pm 2,4 ^a 71,4 \pm 3,0 ^b	256,8 \pm 8,5 ^d 237,6 \pm 6,5 ^c	2500,3 \pm 40,9 2227,6 \pm 34,2
26 Wochen	411,1 \pm 13,2 ^e 237,1 \pm 3,1 ^g	278,6 \pm 6,7 ^f 227,6 \pm 4,4 ^f	51,2 \pm 1,8 ^e 45,3 \pm 2,0 ^d	50,2 \pm 1,9 ^f 46,3 \pm 2,3 ^f	426,7 \pm 6,8 ^f 384,8 \pm 7,4 ^f	902,1 \pm 28,9 ^d 941,3 \pm 3,5 ^g	72,2 \pm 1,9 ^b 85,7 \pm 3,6 ^e	246,8 \pm 8,2 ^e 233,4 \pm 3,2 ^e	2439,0 \pm 62,8 2201,4 \pm 15,1

^{a-i} Mittelwerte einer Spalte mit unterschiedlichen Indices unterscheiden sich signifikant (P < 0,05)

Tab. 4-8: Xanthophyllgehalte in nativem und gefriergetrocknetem Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 1, ohne Pasteurisation. Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

µg/100 g Eigelb									
Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	gesamt
nativ	729,1±33,5 ^a	549,2±27,5 ^a	32,8±6,0 ^{ag}	111,1±4,9 ^a	429,7±26,8 ^{bc}	1111,6±58,1 ^a	75,3±5,6 ^a	221,9±7,2 ^a	3260,9±154,4
gefriergetrocknet	1014,6±10,9 ^b	791,8±12,8 ^b	71,3±3,5 ^b	148,2±4,4 ^b	454,2±6,4 ^b	1233,0±12,9 ^b	73,1±3,6 ^a	325,5±7,4 ^b	4111,8±43,5
2 Wochen	807,2±38,9 ^c 719,2±26,3 ^a	531,5±35,2 ^a 462,8±21,7 ^e	71,7±3,4 ^b 77,0±3,1 ^e	87,3±3,6 ^c 77,2±3,5 ^g	425,4±8,3 ^a 421,8±6,4 ^a	1208,2±17,4 ^c 1176,1±23,5 ^f	72,6±4,1 ^{ad} 69,3±3,9 ^{cd}	325,6±8,3 ^b 317,5±6,2 ^e	3529,5±81,2 3320,8±67,0
4 Wochen	294,4±12,4 ^d 244,7±15,6 ^e	276,2±5,2 ^c 231,0±3,2 ^f	26,8±3,0 ^c 23,0±3,5 ^f	28,4±2,6 ^d 26,4±3,1 ^d	428,6±11,6 ^a 409,0±13,9 ^{cd}	988,0±18,8 ^d 935,1±24,0 ^g	55,0±2,8 ^b 56,9±2,6 ^b	274,0±3,4 ^c 258,9±14,0 ^f	2371,3±34,9 2185,0±44,0
8 Wochen	290,7±12,6 ^d 224,4±6,4 ^f	255,0±8,1 ^d 228,2±9,1 ^g	30,7±2,0 ^a 34,8±2,8 ^{dg}	33,8±1,7 ^e 44,9±1,5 ^h	437,0±24,6 ^{ab} 399,5±11,2 ^d	994,2±46,0 ^{da} 914,3±21,5 ^{gh}	66,2±4,1 ^c 67,0±3,1 ^c	264,5±15,4 ^{cd} 234,6±8,8 ^g	2372,1±94,6 2147,7±52,2
26 Wochen	297,3±2,2 ^d 222,4±2,5 ^f	254,6±2,7 ^d 222,7±2,5 ^g	36,5±1,1 ^d 35,0±1,2 ^g	36,6±1,3 ^f 46,6±1,3 ^f	412,7±7,1 ^c 377,1±5,7 ^e	1021,7±6,2 ^e 911,5±17,0 ^h	68,9±1,6 ^c 86,3±7,3 ^e	281,8±3,0 ^d 228,1±4,9 ^g	2410,1±12,7 2129,7±26,4

^{a-i} Mittelwerte einer Spalte mit unterschiedlichen Indices unterscheiden sich signifikant (P < 0,05)

Tab. 4-9: Xanthophyllgehalte in nativem und gefriergetrocknetem Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 1, mit Pasteurisation. Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

µg/100 g Eigelb									
Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	gesamt
nativ	729,1±33,5	549,2±27,5	32,8±6,0	111,1±4,9	429,7±26,8	1111,6±58,1	75,3±5,6	221,9±7,2	3260,9±154,4
pasteurisiert	747,6±20,3 ^a	573,9±25,7 ^a	31,0±4,1 ^a	118,6±7,9 ^a	436,4±9,6 ^a	1103,9±45,0 ^a	79,5±6,6 ^a	234,3±13,3 ^{af}	3325,3±104,9
gefriergetrocknet	1005,3±9,5 ^b	781,2±29,9 ^b	74,9±3,7 ^b	154,2±5,9 ^b	477,9±13,9 ^b	1229,1±38,9 ^b	71,9±6,0 ^b	324,7±12,5 ^b	4119,1±109,8
2 Wochen	785,1±39,1 ^c 829,7±40,6 ^f	514,7±41,5 ^c 551,2±43,2 ^{bc}	74,1±3,8 ^b 69,8±4,5 ^e	91,9±6,5 ^c 101,3±6,0 ^f	443,8±22,4 ^a 422,0±17,9 ^c	1202,6±51,7 ^{bd} 1162,0±42,7 ^d	72,5±5,5 ^b 71,5±3,3 ^b	327,2±12,2 ^b 316,7±17,5 ^b	3512,0±172,8 3524,2±157,7
4 Wochen	310,1±32,0 ^{de} 246,0±20,5 ^g	279,3±6,7 ^d 239,3±2,0 ^g	29,1±2,1 ^a 25,6±2,7 ^f	26,4±1,8 ^d 26,2±2,2 ^d	438,2±27,9 ^{bc} 400,4±21,4 ^d	995,4±25,5 ^c 897,8±13,5 ^e	57,6±2,2 ^c 54,1±2,2 ^f	275,0±4,1 ^c 246,6±2,5 ^e	2411,0±73,2 2136,1±54,9
8 Wochen	305,5±4,7 ^d 232,0±9,9 ^g	251,2±7,0 ^e 229,5±9,3 ^h	33,9±1,9 ^c 36,7±2,3 ^f	44,3±1,6 ^e 41,3±3,0 ^g	435,6±13,9 ^{bc} 400,6±10,3 ^d	984,3±18,6 ^c 886,1±27,5 ^e	64,8±2,6 ^d 63,3±2,9 ^g	252,7±5,9 ^d 224,0±6,6 ^f	2372,3±35,1 2113,6±63,6
26 Wochen	297,1±4,6 ^e 233,0±3,5 ^g	244,8±4,9 ^f 223,8±2,6 ^h	35,7±1,6 ^d 36,6±1,2 ^d	45,6±1,8 ^{eh} 47,1±2,0 ^h	436,5±5,8 ^a 396,8±6,3 ^d	980,2±14,7 ^c 912,0±9,1 ^f	67,6±3,1 ^e 73,1±2,7 ^g	239,7±4,5 ^f 226,3±2,0 ^f	2347,2±34,5 2148,7±20,6

^{a-h} Mittelwerte einer Spalte mit unterschiedlichen Indices unterscheiden sich signifikant (P < 0,05)

Tab. 4-10: Xanthophyllgehalte in nativem und sprühgetrocknetem Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 2, ohne Pasteurisation. Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

µg/100 g Eigelb									
Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	gesamt
nativ	549,0±17,1 ^a	350,7±19,8 ^a	14,9±4,6 ^a	69,7±4,7 ^a	322,4±11,3 ^a	887,5±37,0 ^a	67,4±3,9 ^a	211,4±12,7 ^a	2473,1±99,2
sprühgetrocknet	594,7±15,2 ^b	349,2±13,9 ^a	42,9±1,6 ^b	90,1±3,6 ^b	322,3±10,5 ^a	809,9±23,9 ^b	66,7±4,4 ^a	186,3±8,1 ^b	2462,1±73,2
2 Wochen	377,3±27,4 ^c 362,1±20,8 ^c	233,4±8,3 ^b 209,5±12,6 ^c	50,9±3,1 ^c 45,4±2,5 ^g	54,4±3,5 ^c 54,3±6,7 ^c	353,1±7,2 ^b 312,0±7,3 ^c	908,5±15,4 ^a 810,3±27,3 ^b	79,1±3,4 ^b 73,4±2,4 ^{cd}	211,4±3,9 ^a 189,8±12,4 ^{bc}	2268,2±51,6 2056,9±81,4
4 Wochen	221,2±35,7 ^d 189,3±24,9 ^e	203,5±3,9 ^c 183,0±6,2 ^e	25,2±2,1 ^d 23,0±2,7 ^d	31,2±1,6 ^d 31,7±2,4 ^d	358,0±26,4 ^b 351,6±22,5 ^b	794,3±21,1 ^b 790,7±22,1 ^b	64,5±2,1 ^a 68,8±2,1 ^a	208,7±3,7 ^a 199,8±3,3 ^d	1906,5±82,2 1838,0±67,9
8 Wochen	188,0±3,8 ^e 165,9±5,4 ^f	195,0±4,2 ^d 174,1±6,3 ^f	28,2±1,9 ^e 28,0±2,2 ^e	36,0±1,1 ^e 37,9±2,3 ^f	325,4±9,8 ^a 316,6±8,3 ^{bc}	764,9±10,0 ^c 771,1±13,4 ^c	71,8±1,7 ^{de} 71,6±0,8 ^e	186,3±4,7 ^b 167,5±2,8 ^e	1795,7±22,4 1732,6±32,5
26 Wochen	185,2±3,0 ^e 161,5±2,3 ^g	193,9±3,2 ^d 174,0±3,3 ^f	33,7±1,1 ^f 33,5±3,7 ^f	38,5±1,0 ^f 39,4±2,8 ^f	311,2±4,7 ^c 310,6±4,9 ^c	753,9±6,5 ^d 772,2±4,1 ^c	74,3±2,6 ^d 79,6±1,4 ^b	191,2±1,8 ^e 168,8±2,2 ^e	1782,0±14,0 1739,7±9,9

^{a-g} Mittelwerte einer Spalte mit unterschiedlichen Indices unterscheiden sich signifikant (P < 0,05)

Tab. 4-11: Xanthophyllgehalte in nativem und sprühgetrocknetem Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 2, mit Pasteurisation. Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

Probe	µg/100 g Eigelb								gesamt
	1	2	3	4	5	6	7	8	
nativ	549,0±17,1	350,7±19,8	14,9±4,6	69,7±4,7	322,4±11,3	887,5±37,0	67,4±3,9	211,4±12,7	2473,1±99,2
pasteurisiert	549,7±10,8 ^a	341,4±6,2 ^a	10,2±5,4 ^a	72,9±3,5 ^a	331,3±7,8 ^a	893,4±19,2 ^a	68,3±3,6 ^a	215,6±12,9 ^a	2482,9±40,5
sprühgetrocknet	701,2±27,2 ^b	429,6±22,3 ^b	38,0±2,9 ^b	94,7±5,2 ^b	356,5±12,7 ^b	920,5±38,0 ^{ab}	57,8±3,2 ^{bdfg}	225,0±13,0 ^{ab}	2823,2±114,0
2 Wochen	434,2±20,4 ^c 384,1±10,5 ^f	256,9±11,4 ^c 210,7±6,5 ^g	48,9±2,4 ^c 46,7±2,2 ^c	51,2±4,5 ^c 51,0±2,4 ^c	357,2±2,6 ^b 315,5±9,7 ^e	941,6±18,9 ^b 831,1±30,4 ^e	63,4±3,0 ^{deg} 62,0±2,4 ^{deg}	234,3±7,4 ^b 201,8±6,1 ^d	2387,6±42,2 2102,9±60,0
4 Wochen	274,9±17,1 ^d 199,7±11,4 ^g	223,0±7,8 ^d 190,8±4,1 ^f	29,8±3,0 ^{deg} 20,9±2,6 ^f	32,2±2,0 ^d 31,4±2,1 ^d	385,0±9,8 ^c 340,2±16,3 ^a	830,4±12,4 ^{ce} 793,2±12,7 ^f	55,9±3,7 ^{bf} 55,1±3,6 ^f	217,8±3,5 ^a 202,7±6,1 ^d	2049,2±26,4 1834,0±35,9
8 Wochen	263,1±5,4 ^d 179,6±3,7 ^h	218,5±4,8 ^d 186,1±4,2 ^g	36,4±3,2 ^b 29,3±2,2 ^d	48,5±4,2 ^c 38,9±1,7 ^f	374,9±11,1 ^{cd} 334,0±8,7 ^e	810,2±10,9 ^{de} 792,2±13,6 ^{df}	59,3±3,7 ^{bddeg} 60,6±4,7 ^g	193,1±7,7 ^c 174,7±3,3 ^e	2003,9±34,7 1800,3±25,1
26 Wochen	251,4±4,6 ^e 177,7±3,2 ^h	211,6±3,4 ^e 184,9±2,7 ^g	43,3±2,2 ^e 32,2±2,7 ^g	56,9±2,6 ^e 45,1±1,9 ^g	368,9±9,2 ^d 323,0±4,9 ^e	804,5±9,2 ^d 804,0±6,8 ^d	60,4±2,2 ^{deg} 72,4±3,4 ^h	190,7±2,0 ^c 175,1±4,5 ^e	1987,8±15,4 1814,4±4,7

^{a-h} Mittelwerte einer Spalte mit unterschiedlichen Indices unterscheiden sich signifikant (P < 0,05)

Tab. 4-12: Xanthophyllgehalte in nativem und gefriergetrocknetem Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 2, ohne Pasteurisation. Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

Probe	µg/100 g Eigelb								gesamt
	1	2	3	4	5	6	7	8	
nativ	549,0±17,1 ^a	350,7±19,8 ^a	14,9±4,6 ^a	69,7±4,7 ^a	322,4±11,3 ^a	887,5±37,0 ^{ad}	67,4±3,9 ^a	211,4±12,7 ^a	2473,1±99,2
gefriergetrocknet	749,1±25,6 ^b	473,2±24,2 ^b	68,2±5,4 ^b	81,8±4,8 ^b	405,4±16,5 ^b	1136,0±50,0 ^b	62,4±3,1 ^b	300,5±20,3 ^b	3276,6±133,8
2 Wochen	444,5±26,7 ^c 518,9±27,5 ^g	230,6±11,2 ^{cg} 276,0±13,6 ^e	46,4±4,5 ^c 52,5±2,9 ^f	50,1±1,5 ^c 58,4±2,7 ^g	304,3±6,1 ^c 328,5±11,7 ^a	864,5±12,1 ^{ae} 915,9±31,8 ^d	51,0±1,9 ^c 55,1±3,4 ^{ef}	222,2±7,5 ^c 223,0±16,6 ^{bc}	2213,6±60,0 2428,2±59,1
4 Wochen	256,1±7,4 ^d 367,5±13,7 ^h	230,5±3,2 ^{cg} 253,5±4,0 ^f	20,5±2,2 ^d 32,3±3,9 ^e	26,4±3,5 ^d 32,5±2,6 ^h	341,6±11,4 ^d 396,9±5,5 ^b	875,4±15,7 ^a 913,7±9,5 ^d	46,6±2,8 ^d 54,1±2,1 ^e	237,5±2,7 ^d 247,9±10,6 ^g	2034,6±33,8 2298,3±16,9
8 Wochen	237,0±5,6 ^e 328,7±16,1 ^f	216,9±7,5 ^{dg} 226,4±13,2 ^{gh}	29,9±1,8 ^e 37,8±4,1 ^g	40,1±2,5 ^e 45,2±4,3 ^f	335,4±29,2 ^{ade} 356,5±12,1 ^{ef}	843,2±19,9 ^{ce} 855,1±20,7 ^{ef}	53,4±1,8 ^e 48,9±1,3 ^g	179,4±12,5 ^e 182,1±8,2 ^e	1935,3±39,5 2080,8±71,1
26 Wochen	241,8±1,6 ^f 331,8±3,0 ^f	213,6±3,2 ^d 228,8±4,0 ^{ch}	30,1±0,9 ^e 40,6±1,3 ^g	46,0±2,1 ^f 52,0±2,2 ^c	324,2±4,9 ^a 359,2±2,8 ^f	839,4±4,2 ^c 866,1±6,7 ^{af}	57,4±1,8 ^f 65,1±3,3 ^b	169,4±2,8 ^f 184,4±3,9 ^e	1921,8±10,0 2128,0±9,4

^{a-i} Mittelwerte einer Spalte mit unterschiedlichen Indices unterscheiden sich signifikant (P < 0,05)

Tab. 4-13: Xanthophyllgehalte in nativem und gefriergetrocknetem Eigelb (gelagerte Pulver: obere Werte entsprechen der Lagerung bei -18 °C, untere Werte entsprechen der Lagerung bei +20 °C) der Charge 2, mit Pasteurisation. Darstellung als Mittelwerte ± Standardabweichung (Mikrogramm pro 100 g Eigelb, n = 9); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

Probe	µg/100 g Eigelb								gesamt
	1	2	3	4	5	6	7	8	
nativ	549,0±17,1	350,7±19,8	14,9±4,6	69,7±4,7	322,4±11,3	887,5±37,0	67,4±3,9	211,4±12,7	2473,1±99,2
pasteurisiert	549,7±10,8 ^a	341,4±6,2 ^a	10,2±5,4 ^a	72,9±3,5 ^a	331,3±7,8 ^{ae}	893,4±19,2 ^{ae}	68,3±3,6 ^a	215,6±12,9 ^a	2482,9±40,5
gefriergetrocknet	692,3±28,6 ^b	428,8±23,3 ^b	67,5±3,2 ^b	77,0±2,4 ^b	395,2±24,9 ^b	1053,1±41,4 ^b	58,9±2,9 ^b	270,8±8,9 ^b	3043,6±117,2
2 Wochen	470,3±32,7 ^c 486,5±12,0 ^c	250,8±24,5 ^{cg} 265,9±7,4 ^c	50,2±1,9 ^c 55,6±2,0 ^g	55,0±3,3 ^c 52,8±1,9 ^c	328,8±21,2 ^{abde} 339,4±9,9 ^e	900,1±46,1 ^{ace} 922,4±38,1 ^{ef}	55,6±3,3 ^c 56,8±4,7 ^{bc}	235,6±15,3 ^c 233,2±10,9 ^c	2346,5±139,6 2412,7±65,3
4 Wochen	261,2±17,5 ^d 375,3±20,3 ^g	233,3±1,8 ^d 248,2±6,3 ^g	22,4±2,4 ^d 31,8±3,8 ^{ef}	27,1±2,0 ^d 32,1±2,7 ^g	349,8±16,8 ^{ce} 422,9±18,3 ^f	876,7±28,4 ^{acd} 943,1±34,0 ^f	46,9±2,3 ^d 57,0±3,7 ^{bc}	239,2±7,3 ^c 256,8±8,7 ^f	2056,6±51,8 2367,2±80,3
8 Wochen	241,8±4,7 ^e 327,7±13,0 ^h	218,4±4,4 ^e 233,8±7,0 ^{cdh}	29,7±1,1 ^e 39,0±1,6 ^h	38,9±1,4 ^e 49,6±4,1 ^h	329,2±6,7 ^a 359,0±9,5 ^c	872,1±16,0 ^{cd} 833,4±17,2 ^g	51,6±2,2 ^e 50,2±1,4 ^e	192,8±5,0 ^d 183,7±4,6 ^e	1974,5±27,3 2076,2±53,0
26 Wochen	233,7±2,4 ^f 328,2±2,9 ^h	213,0±4,2 ^f 228,3±3,9 ^h	30,9±1,1 ^f 40,6±0,9 ^f	42,7±2,4 ^f 53,4±1,6 ^c	322,6±3,8 ^d 353,2±6,5 ^c	862,8±4,8 ^d 828,8±13,6 ^g	57,1±1,7 ^{bc} 62,4±1,1 ^f	187,1±1,6 ^e 178,0±2,9 ^g	1950,0±9,2 2072,9±16,6

^{a-i} Mittelwerte einer Spalte mit unterschiedlichen Indices unterscheiden sich signifikant (P < 0,05)

4.2.4 Pasteurisation

Aus den Werten der Tabellen 4-7, 4-9, 4-11 und 4-13 kann abgeleitet werden, dass der Prozessschritt der Pasteurisation (Parameter s. Kapitel 3.3) keinen signifikanten Einfluss auf die Xanthophyllgehalte hat. Das Pasteurisieren von Eiern der Chargen 1 und 2 verursacht, bei Betrachtung der einzelnen Xanthophylle und der Gesamt-xanthophyllgehalte, in keinem einzigen Fall eine signifikante Änderung. Der Veranschaulichung dieses Sachverhaltes dienen die Abbildungen 4-10 und 4-11.

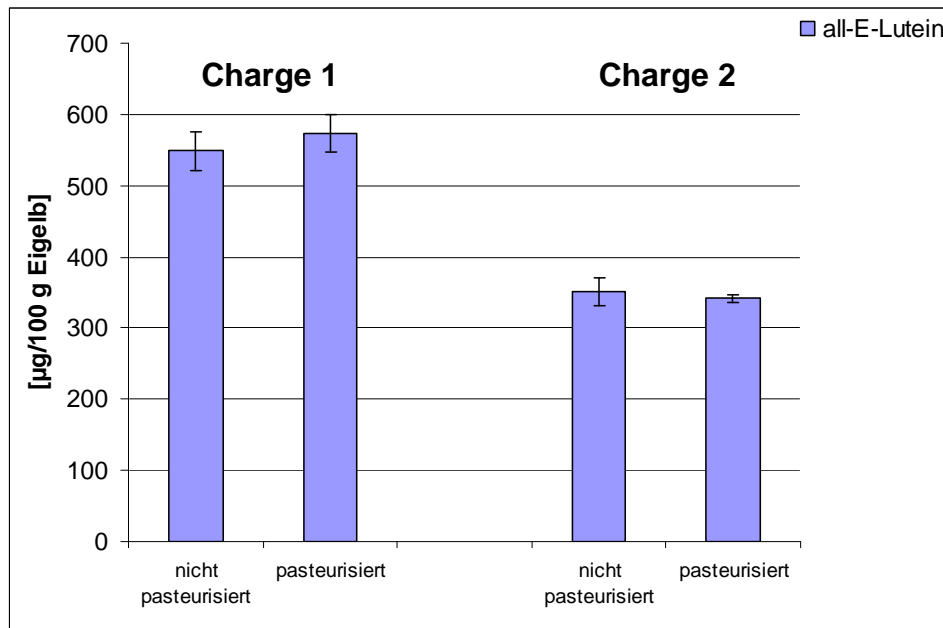


Abb. 4-10: Einfluss der Pasteurisation auf die absoluten Gehalte von *all-E-Lutein*. Darstellung der Mittelwerte (n = 9) und der Standardabweichungen.

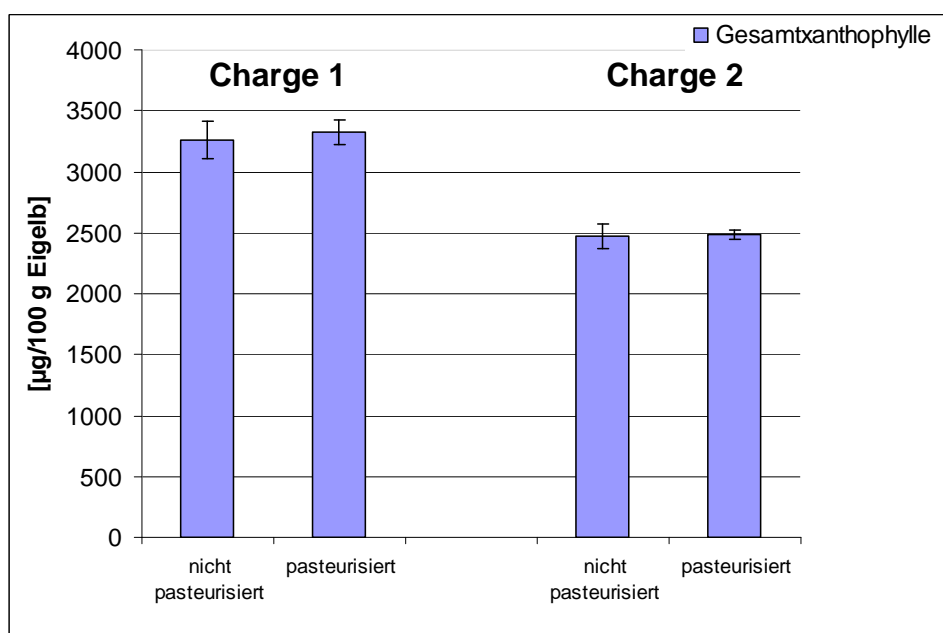


Abb. 4-11: Einfluss der Pasteurisation auf die absoluten Gesamt-xanthophyllgehalte. Darstellung der Mittelwerte (n = 9) und der Standardabweichungen.

4.2.5 Trocknung

Im Folgenden werden die durch das Sprüh- und Gefriertrocknen hervorgerufenen Änderungen in den Gehalten der einzelnen Xanthophylle und der Gesamt-xanthophylle näher betrachtet. Mögliche Erklärungen für die beobachteten Änderungen werden in den Kapiteln 5.2.5 und 5.2.6 gegeben.

4.2.5.1 Sprühtrocknung

Eine Sprühtrocknung unter den in Kapitel 3.4.1 beschriebenen Parametern resultiert in den meisten Fällen in einer signifikanten Änderung der Gehalte der einzelnen Xanthophylle und der Gesamt-xanthophyllgehalte zur Folge. In den Tabellen 4-14 und 4-15 werden die jeweiligen relativen Veränderungen, basierend auf den absoluten Werten der Tabellen 4-6, 4-7, 4-10 und 4-11, und entsprechende Aussagen über eine signifikante Änderung dargestellt.

Tab. 4-14: Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte durch Sprühtrocknung von Eigelb der Charge 1 [%] und Angabe über eine dabei auftretende signifikante Änderung

Xanthophyll	Sprühtrocknung			
	aus nicht pasteurisiertem Eigelb	signifikante Änderung (P < 0,05)?	aus pasteurisiertem Eigelb	signifikante Änderung (P < 0,05)?
<i>all-E</i> -Lutein	+ 21 %	ja	+ 28 %	ja
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	+ 26 %	ja	+ 32 %	ja
<i>13-Z</i> -Lutein	+ 147 %	ja	+ 178 %	ja
<i>13-Z</i> -Zeaxanthin	+ 35 %	ja	+ 37 %	ja
<i>9-Z</i> -Canthaxanthin	+ 7 %	ja	+ 15 %	ja
<i>all-E</i> -Canthaxanthin	+ 3 %	nein	+ 12 %	ja
<i>Z</i> -Isomer Canthaxanthin	+ 1 %	nein	+ 1 %	nein
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	+ 20 %	ja	+ 37 %	ja
gesamt	+ 15 %	ja	+ 23 %	ja

4.2.5.2 Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung von nicht pasteurisiertem bzw. pasteurisiertem Eigelb gleichen Rohmaterials hat ebenso wie die Sprühtrocknung oftmals signifikant veränderte Xanthophyllgehalte zur Folge. Ausgehend von den absoluten Werten der Tabellen 4-8, 4-9, 4-12 und 4-13, erfolgt in den Tabellen 4-16 und 4-17 die Darstellung der jeweiligen relativen Veränderungen der Gehalte.

Tab. 4-15: Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte durch Sprühtrocknung von Eigelb der Charge 2 [%] und Angabe über eine dabei auftretende signifikante Änderung

Xanthophyll	Sprühtrocknung			
	aus nicht pasteurisiertem Eigelb	signifikante Änderung (P < 0,05)?	aus pasteurisiertem Eigelb	signifikante Änderung (P < 0,05)?
<i>all-E</i> -Lutein	+ 8 %	ja	+ 28 %	ja
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	± 0 %	nein	+ 26 %	ja
13-Z-Lutein	+ 188 %	ja	+ 275 %	ja
13-Z-Zeaxanthin	+ 29 %	ja	+ 30 %	ja
9-Z-Canthaxanthin	± 0 %	nein	+ 8 %	ja
<i>all-E</i> -Canthaxanthin	- 9 %	ja	+ 3 %	nein
Z-Isomer Canthaxanthin	- 1 %	nein	- 15 %	ja
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	- 12 %	ja	- 4 %	nein
gesamt	± 0 %	nein	+ 14 %	ja

Tab. 4-16: Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte durch Gefriertrocknung von Eigelb der Charge 1 [%] und Angabe über eine dabei auftretende signifikante Änderung

Xanthophyll	Gefriertrocknung			
	aus nicht pasteurisiertem Eigelb	signifikante Änderung (P < 0,05)?	aus pasteurisiertem Eigelb	signifikante Änderung (P < 0,05)?
<i>all-E</i> -Lutein	+ 39 %	ja	+ 34 %	ja
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	+ 44 %	ja	+ 36 %	ja
13-Z-Lutein	+ 117%	ja	+ 142 %	ja
13-Z-Zeaxanthin	+ 33 %	ja	+ 30 %	ja
9-Z-Canthaxanthin	+ 6 %	ja	+ 10 %	ja
<i>all-E</i> -Canthaxanthin	+ 11 %	ja	+ 11 %	ja
Z-Isomer Canthaxanthin	- 3 %	nein	- 10 %	ja
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	+ 47 %	ja	+ 39 %	ja
gesamt	+ 26 %	ja	+ 24 %	ja

Tab. 4-17: Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte durch Gefriertrocknung von Eigelb der Charge 2 [%] und Angabe über eine dabei auftretende signifikante Änderung

Xanthophyll	Gefriertrocknung			
	aus nicht pasteurisiertem Eigelb	signifikante Änderung (P < 0,05)?	aus pasteurisiertem Eigelb	signifikante Änderung (P < 0,05)?
<i>all-E</i> -Lutein	+ 36 %	ja	+ 26 %	ja
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	+ 35 %	ja	+ 26 %	ja
<i>13-Z</i> -Lutein	+ 358 %	ja	+ 562 %	ja
<i>13-Z</i> -Zeaxanthin	+ 17 %	ja	+ 6 %	ja
<i>9-Z</i> -Canthaxanthin	+ 26 %	ja	+ 19 %	ja
<i>all-E</i> -Canthaxanthin	+ 28 %	ja	+ 18 %	ja
<i>Z</i> -Isomer Canthaxanthin	- 7 %	ja	- 14 %	ja
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	+ 42 %	ja	+ 26 %	ja
gesamt	+ 32 %	ja	+ 23 %	ja

4.2.6 Lagerung

4.2.6.1 Lagerung der sprühgetrockneten Eigelbe

In den Abbildungen 4-12 bis 4-20 werden die jeweiligen relativen Veränderungen der Xanthophylle im Laufe der Lagerung im Dunklen bei -18 °C und +20 °C über einen Zeitraum von sechs Monaten, basierend auf den absoluten Werten der Tabellen 4-6 und 4-7 bzw. 4-10 und 4-11, dargestellt. Zur Ermittlung eines allgemein gültigen Trends erfolgt die Darstellung dabei als Mittelwert der relativen Veränderungen bei den Eier-Chargen 1 und 2. Die Gleichungen der jeweiligen Trendlinien und deren Bestimmtheitsmaße werden in Tabelle 4-18 angegeben.

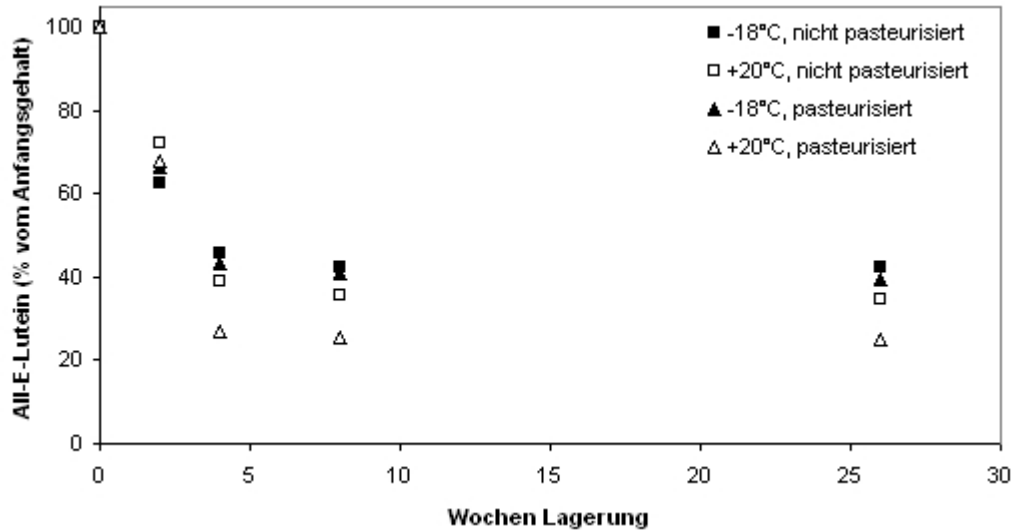


Abb. 4-12: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Lutein in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

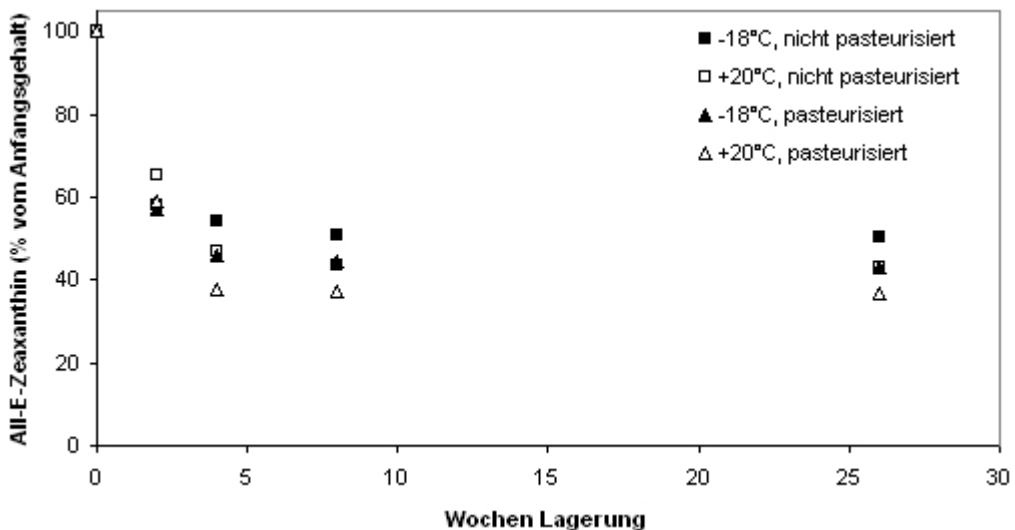


Abb. 4-13: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Zeaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

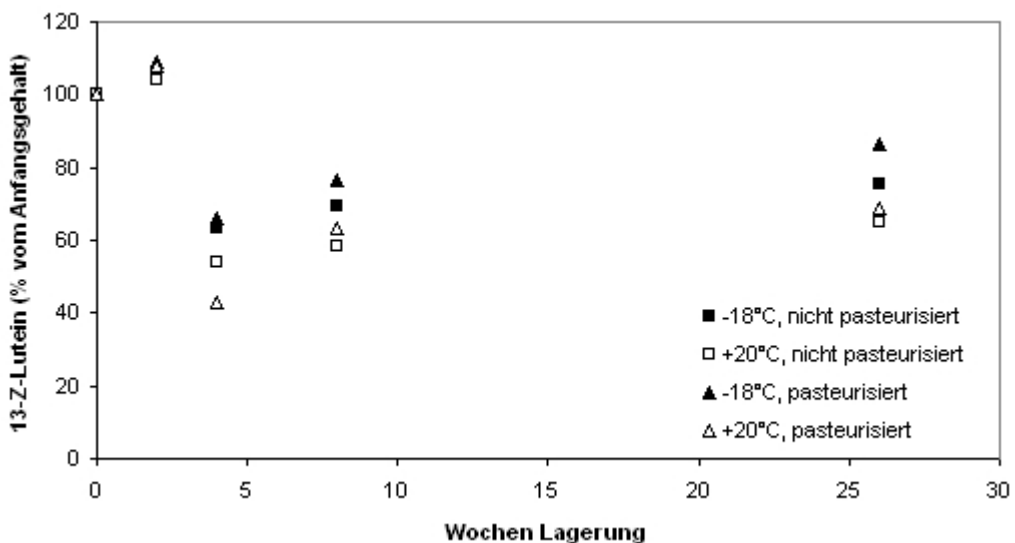


Abb. 4-14: Entwicklung der Gehalte an *13-Z*-Lutein in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

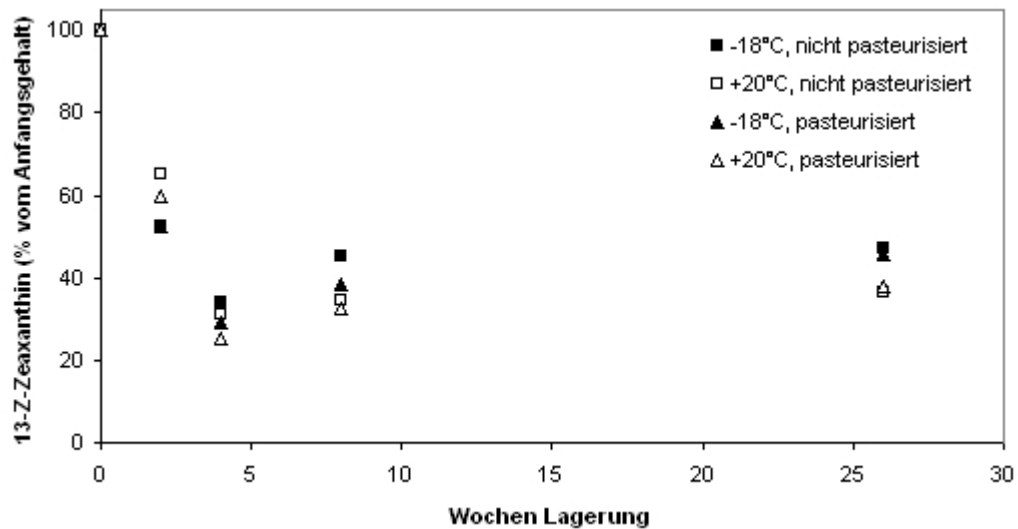


Abb. 4-15: Entwicklung der Gehalte an 13-Z-Zeaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

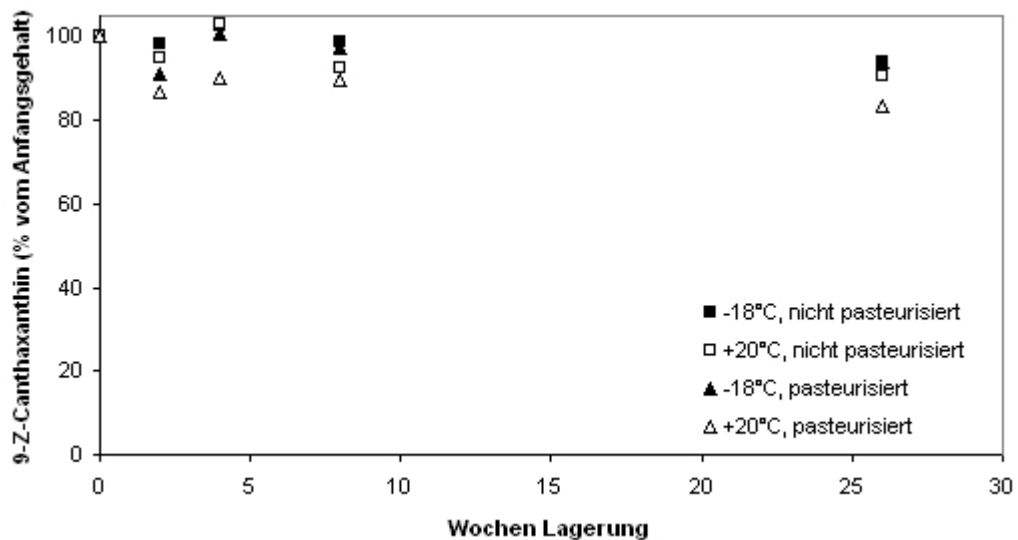


Abb. 4-16: Entwicklung der Gehalte an 9-Z-Canthaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

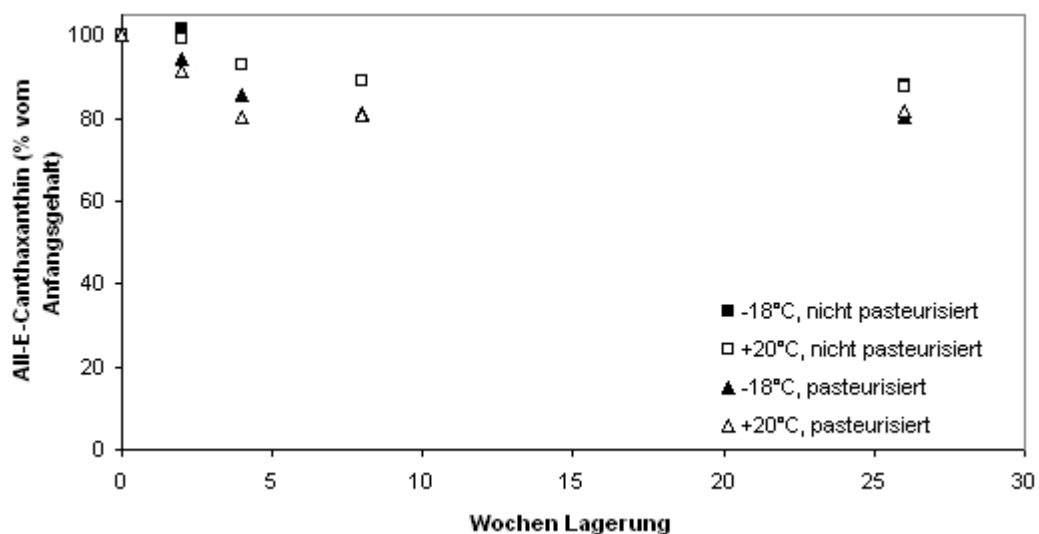


Abb. 4-17: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Canthaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

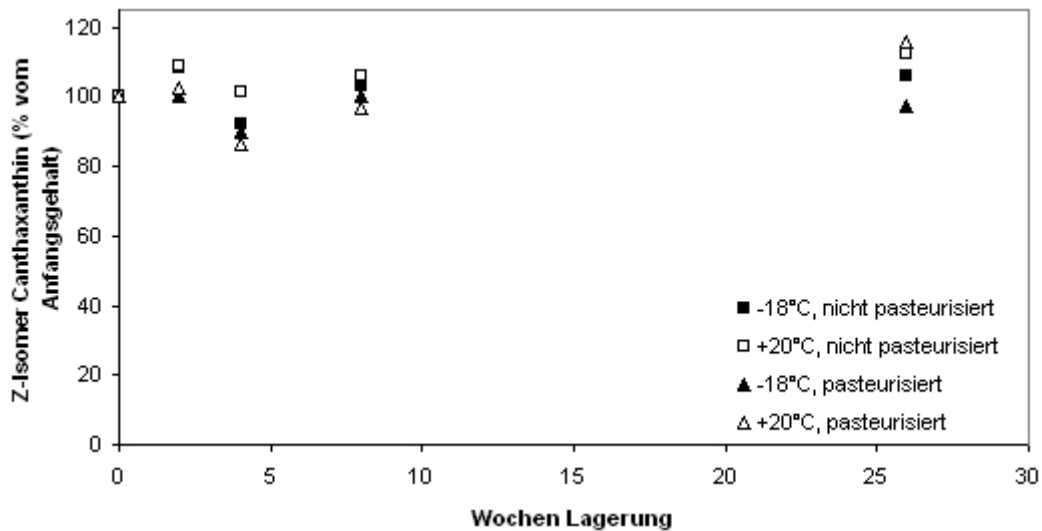


Abb. 4-18: Entwicklung der Gehalte an Z-Isomer Canthaxanthin in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

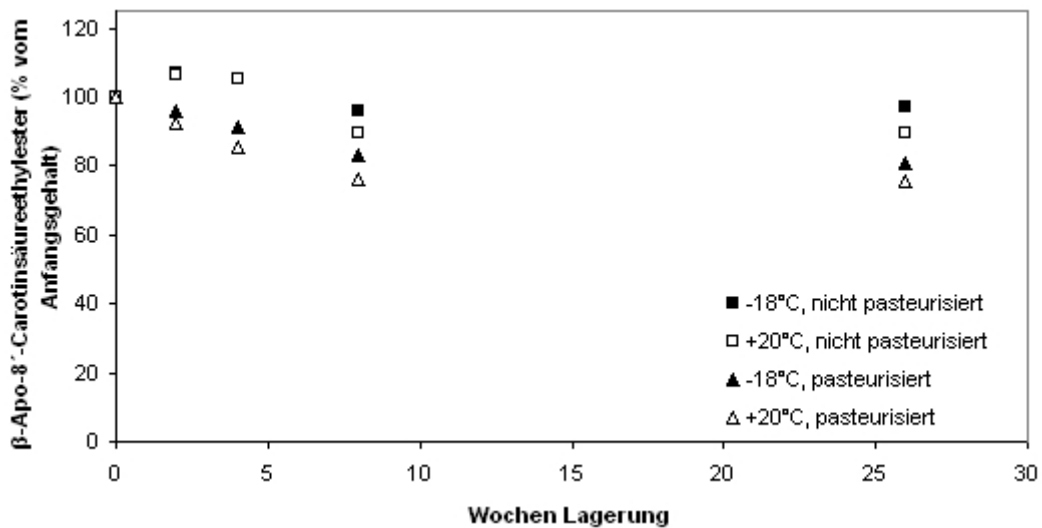


Abb. 4-19: Entwicklung der Gehalte an β-Apo-8'-Carotinsäureethylester in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

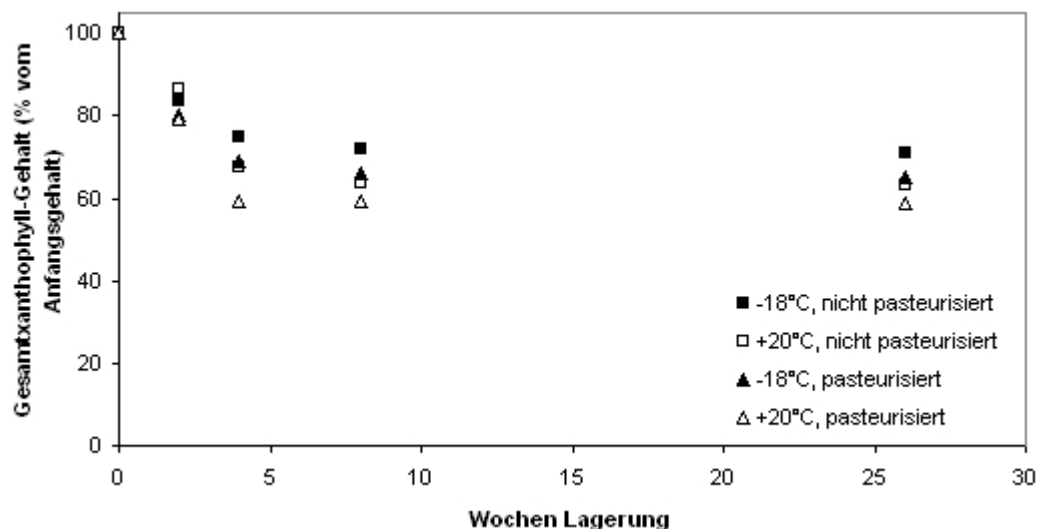


Abb. 4-20: Entwicklung der Gesamt-xanthophyll-Gehalte in Eigelbpulver nach Sprühtrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

Tab. 4-18: Gleichungen der Trendlinien der in den Abbildungen 4-12 bis 4-20 gezeigten Verläufe der Xanthophyllgehalte von Eigelbpulver nach Sprühtrocknung und deren Bestimmtheitsmaße

Xanthophyll	Gleichung der Trendlinie (nach einer Potenzfunktion)	Bestimmtheitsmaß R^2 der Gleichung
all-E-Lutein (vgl. Abbildung 4-12)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$54,044 \cdot x^{-0,0691}$	0,9016
+20 °C, nicht pasteurisiert	$49,523 \cdot x^{-0,0622}$	0,7410
-18 °C, pasteurisiert	$52,781 \cdot x^{-0,0731}$	0,8402
+20 °C, pasteurisiert	$39,393 \cdot x^{-0,1089}$	0,7079
all-E-Zeaxanthin (vgl. Abbildung 4-13)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$59,151 \cdot x^{-0,0569}$	0,9935
+20 °C, nicht pasteurisiert	$55,153 \cdot x^{-0,0673}$	0,8789
-18 °C, pasteurisiert	$53,716 \cdot x^{-0,0686}$	0,9638
+20 °C, pasteurisiert	$48,246 \cdot x^{-0,0818}$	0,8781
13-Z-Lutein (vgl. Abbildung 4-14)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$80,081 \cdot x^{-0,0263}$	0,3496
+20 °C, nicht pasteurisiert	$72,427 \cdot x^{-0,0384}$	0,3939
-18 °C, pasteurisiert	$85,772 \cdot x^{-0,0177}$	0,1962
+20 °C, pasteurisiert	$71,547 \cdot x^{-0,0381}$	0,2632
13-Z-Zeaxanthin (vgl. Abbildung 4-15)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$50,823 \cdot x^{-0,0708}$	0,8064
+20 °C, nicht pasteurisiert	$46,593 \cdot x^{-0,0860}$	0,7498
-18 °C, pasteurisiert	$47,124 \cdot x^{-0,0789}$	0,7446
+20 °C, pasteurisiert	$43,813 \cdot x^{-0,0900}$	0,7047
9-Z-Canthaxanthin (vgl. Abbildung 4-16)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$98,612 \cdot x^{-0,0022}$	0,1229
+20 °C, nicht pasteurisiert	$95,905 \cdot x^{-0,0054}$	0,2510
-18 °C, pasteurisiert	$96,392 \cdot x^{-0,0037}$	0,1950
+20 °C, pasteurisiert	$89,453 \cdot x^{-0,0123}$	0,8537
all-E-Canthaxanthin (vgl. Abbildung 4-17)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$93,897 \cdot x^{-0,0084}$	0,4211
+20 °C, nicht pasteurisiert	$93,272 \cdot x^{-0,0088}$	0,5556
-18 °C, pasteurisiert	$87,503 \cdot x^{-0,0161}$	0,7042
+20 °C, pasteurisiert	$86,043 \cdot x^{-0,0169}$	0,7858
Z-Isomer Canthaxanthin (vgl. Abbildung 4-18)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$101,840 \cdot x^{0,0022}$	0,0337
+20 °C, nicht pasteurisiert	$105,780 \cdot x^{0,0066}$	0,4692
-18 °C, pasteurisiert	$97,301 \cdot x^{-0,0028}$	0,0982
+20 °C, pasteurisiert	$99,862 \cdot x^{0,0021}$	0,0102
β-Apo-8'-Carotinsäureethylester (vgl. Abbildung 4-19)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$100,920 \cdot x^{-0,0005}$	0,0024
+20 °C, nicht pasteurisiert	$97,596 \cdot x^{-0,0052}$	0,0932
-18 °C, pasteurisiert	$89,518 \cdot x^{-0,0140}$	0,5951
+20 °C, pasteurisiert	$84,607 \cdot x^{-0,0203}$	0,6921
gesamt (vgl. Abbildung 4-20)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$78,807 \cdot x^{-0,0269}$	0,9034
+20 °C, nicht pasteurisiert	$73,870 \cdot x^{-0,0355}$	0,7524
-18 °C, pasteurisiert	$74,024 \cdot x^{-0,0341}$	0,8979
+20 °C, pasteurisiert	$68,550 \cdot x^{-0,0428}$	0,8185

4.2.6.2 Lagerung der gefriergetrockneten Eigelbe

In den Abbildungen 4-21 bis 4-29 werden die jeweiligen relativen Konzentrationsänderungen im Laufe der Lagerung im Dunklen bei -18 °C und +20 °C über einen Zeitraum von sechs Monaten, basierend auf den absoluten Werten der Tabellen 4-8 und 4-9 bzw. 4-12 und 4-13, dargestellt. Zur Ermittlung eines allgemein gültigen Trends erfolgt die Darstellung dabei als Mittelwert der relativen Veränderungen der Eier-Chargen 1 und 2. Die Gleichungen der jeweiligen Trendlinien und deren Bestimmtheitsmaße werden in Tabelle 4-19 angegeben.

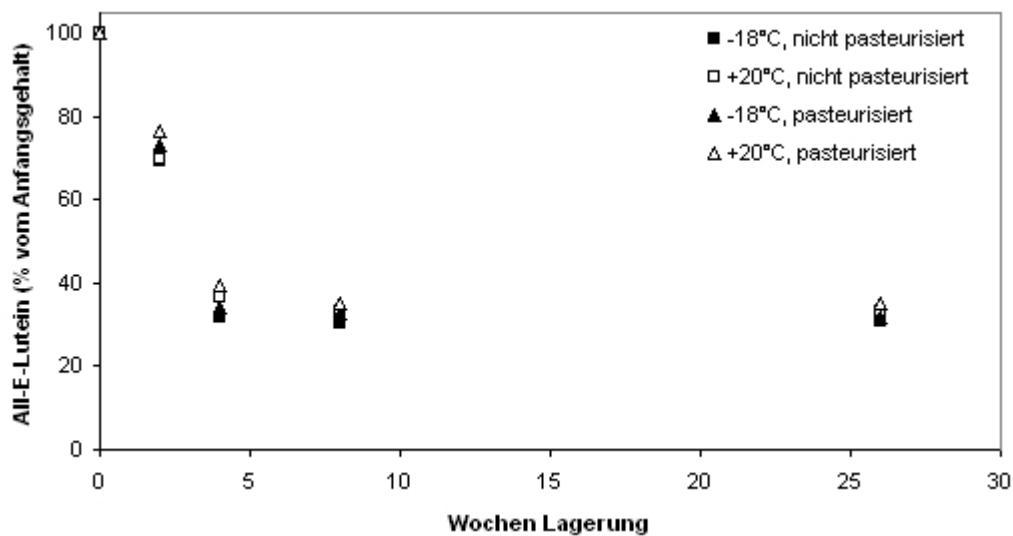


Abb. 4-21: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Lutein in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

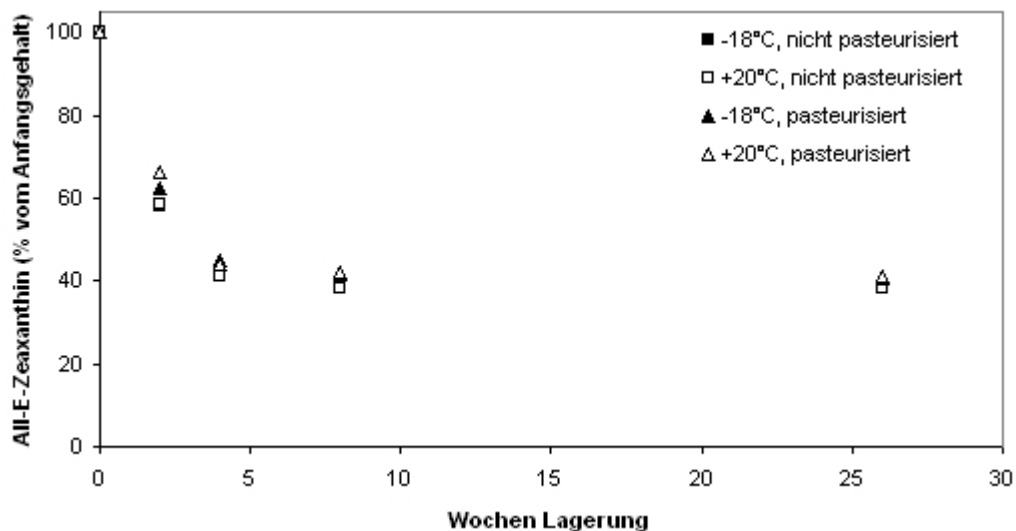


Abb. 4-22: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Zeaxanthin in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

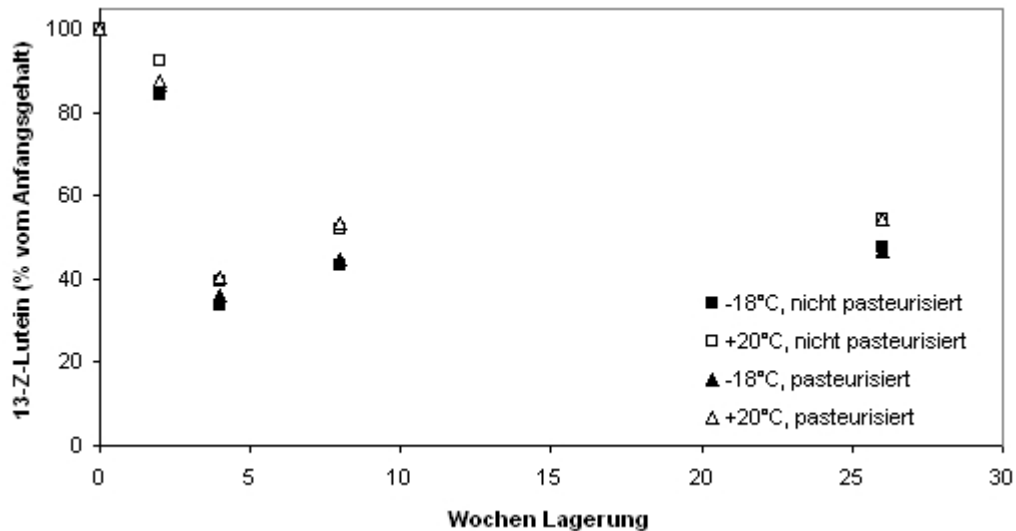


Abb. 4-23: Entwicklung der Gehalte an 13-Z-Lutein in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

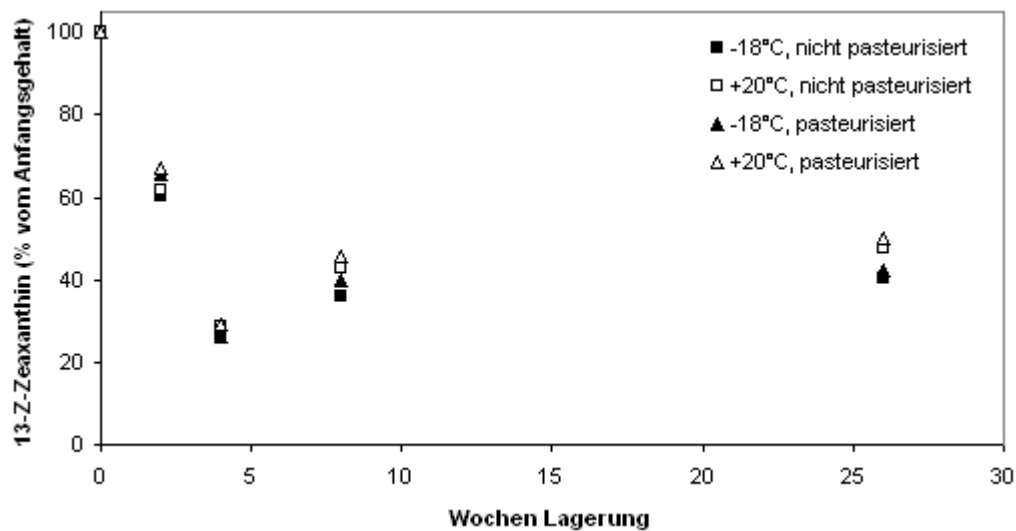


Abb. 4-24: Entwicklung der Gehalte an 13-Z-Zeaxanthin in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

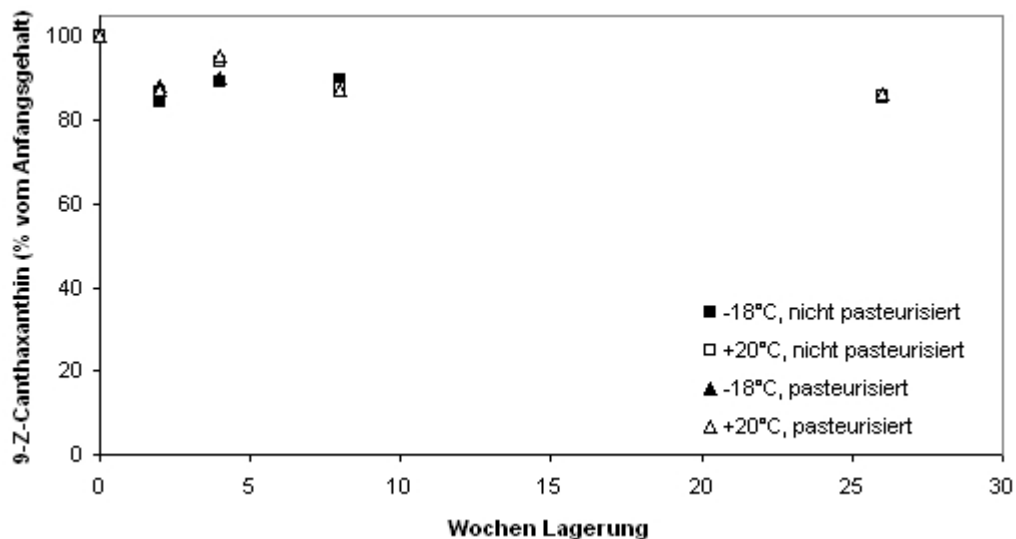


Abb. 4-25: Entwicklung der Gehalte an 9-Z-Canthaxanthin in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

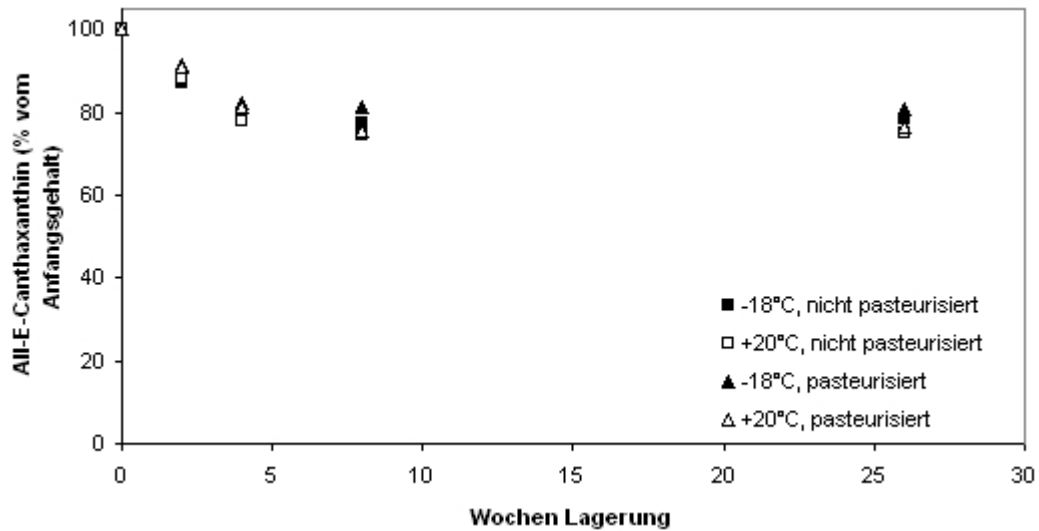


Abb. 4-26: Entwicklung der Gehalte an *all-E*-Canthaxanthin in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

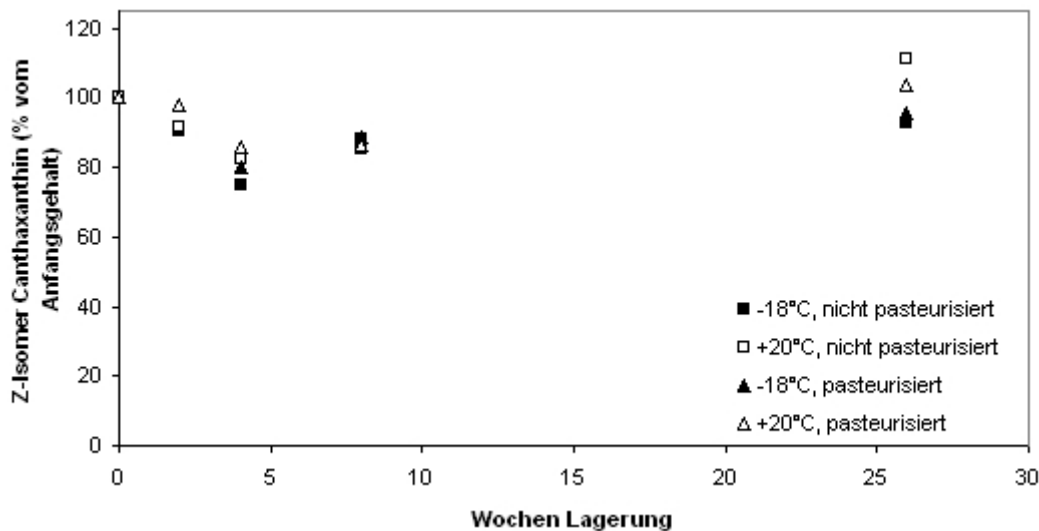


Abb. 4-27: Entwicklung der Gehalte an Z-Isomer Canthaxanthin in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

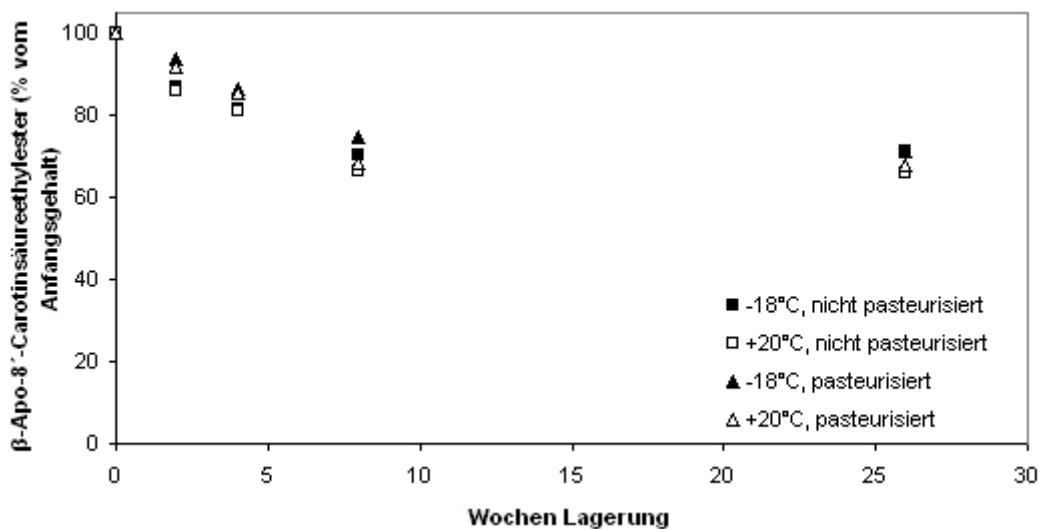


Abb. 4-28: Entwicklung der Gehalte an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

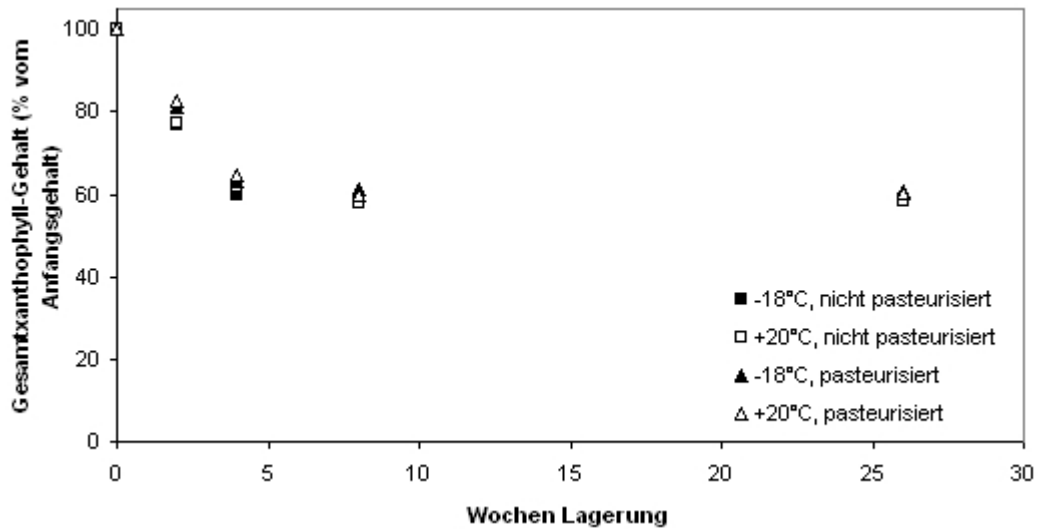


Abb. 4-29: Entwicklung der Gesamt-xanthophyllgehalte in Eigelbpulver nach Gefriertrocknung während 6-monatiger Lagerung. Darstellung der Mittelwerte (n = 18) beider Eier-Chargen.

Tab. 4-19: Gleichungen der Trendlinien der in den Abbildungen 4-21 bis 4-29 gezeigten Verläufe der Xanthophyllgehalte von Eigelbpulver nach Gefriertrocknung und deren Bestimmtheitsmaße

Xanthophyll	Gleichung der Trendlinie (nach einer Potenzfunktion)	Bestimmtheitsmaß R^2 der Gleichung
all-E-Lutein (vgl. Abbildung 4-21)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$44,369 \cdot x^{-0,0943}$	0,7209
+20 °C, nicht pasteurisiert	$47,412 \cdot x^{-0,0870}$	0,7440
-18 °C, pasteurisiert	$46,634 \cdot x^{-0,0895}$	0,7076
+20 °C, pasteurisiert	$50,321 \cdot x^{-0,0810}$	0,6968
all-E-Zeaxanthin (vgl. Abbildung 4-22)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$50,189 \cdot x^{-0,0771}$	0,9190
+20 °C, nicht pasteurisiert	$49,851 \cdot x^{-0,0780}$	0,9090
-18 °C, pasteurisiert	$52,919 \cdot x^{-0,0719}$	0,8995
+20 °C, pasteurisiert	$53,635 \cdot x^{-0,0709}$	0,8517
13-Z-Lutein (vgl. Abbildung 4-23)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$55,344 \cdot x^{-0,0670}$	0,5355
+20 °C, nicht pasteurisiert	$62,344 \cdot x^{-0,0541}$	0,4717
-18 °C, pasteurisiert	$56,538 \cdot x^{-0,0655}$	0,5442
+20 °C, pasteurisiert	$62,352 \cdot x^{-0,0535}$	0,5165
13-Z-Zeaxanthin (vgl. Abbildung 4-24)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$45,400 \cdot x^{-0,0854}$	0,6812
+20 °C, nicht pasteurisiert	$50,130 \cdot x^{-0,0733}$	0,6401
-18 °C, pasteurisiert	$47,846 \cdot x^{-0,0801}$	0,6202
+20 °C, pasteurisiert	$52,466 \cdot x^{-0,0688}$	0,5761
9-Z-Canthaxanthin (vgl. Abbildung 4-25)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$89,179 \cdot x^{-0,0120}$	0,8120
+20 °C, nicht pasteurisiert	$90,432 \cdot x^{-0,0110}$	0,7473
-18 °C, pasteurisiert	$89,867 \cdot x^{-0,0116}$	0,9610
+20 °C, pasteurisiert	$90,694 \cdot x^{-0,0108}$	0,6675
all-E-Canthaxanthin (vgl. Abbildung 4-26)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$83,267 \cdot x^{-0,0204}$	0,8893
+20 °C, nicht pasteurisiert	$81,983 \cdot x^{-0,0228}$	0,8381
-18 °C, pasteurisiert	$86,380 \cdot x^{-0,0168}$	0,8138
+20 °C, pasteurisiert	$83,761 \cdot x^{-0,0208}$	0,7601
Z-Isomer Canthaxanthin (vgl. Abbildung 4-27)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$88,509 \cdot x^{-0,0117}$	0,3043
+20 °C, nicht pasteurisiert	$93,259 \cdot x^{-0,0044}$	0,0329
-18 °C, pasteurisiert	$91,770 \cdot x^{-0,0086}$	0,2251
+20 °C, pasteurisiert	$94,434 \cdot x^{-0,0049}$	0,0824
β-Apo-8'-Carotinsäureethylester (vgl. Abbildung 4-28)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$80,656 \cdot x^{-0,0253}$	0,7700
+20 °C, nicht pasteurisiert	$77,916 \cdot x^{-0,0300}$	0,7171
-18 °C, pasteurisiert	$83,900 \cdot x^{-0,0222}$	0,5950
+20 °C, pasteurisiert	$80,890 \cdot x^{-0,0266}$	0,5832
gesamt (vgl. Abbildung 4-29)		
-18 °C, nicht pasteurisiert	$68,017 \cdot x^{-0,0435}$	0,8601
+20 °C, nicht pasteurisiert	$68,368 \cdot x^{-0,0433}$	0,8548
-18 °C, pasteurisiert	$70,717 \cdot x^{-0,0397}$	0,8176
+20 °C, pasteurisiert	$70,881 \cdot x^{-0,0399}$	0,7924

5 Diskussion

5.1 Qualitative Bestimmung der Xanthophylle

Das Erstellen der Kalibriergeraden auf Basis der Peakhöhen, anstatt auf Grundlage der Peakflächen, ist ein übliches Verfahren in der Carotinoidanalytik. Vor allem beim Aufarbeiten biologischer Matrices mit einer Vielzahl an Carotinoiden und deren Isomeren können über diesen Weg fehlerhafte Quantifizierungen, die sich aus den flächenmäßigen Überlagerungen einzelner Peaks ergeben, vermieden werden [MORTENSEN 2005, SNODDERLY 1997]. Wie den gezeigten Beispielchromatogrammen der Standardsubstanzen Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester (vgl. Abbildungen 4-5 bis 4-8) und vor allem dem Beispielchromatogramm einer Eiprobe (siehe Abbildung 4-9) zu entnehmen ist, treten unter den gewählten chromatographischen Parametern (vgl. Kapitel 3.6.5) in den jeweiligen Chromatogrammen flächenmäßige Überlappungen zwischen *all-E*-Lutein und *all-E*-Zeaxanthin bzw. in geringerem Maße zwischen *13-Z*-Lutein und *13-Z*-Zeaxanthin sowie zwischen *9-Z*-Canthaxanthin und *all-E*-Canthaxanthin auf.

Die Anwendbarkeit der sich aus den Peakhöhen ergebenden Kalibriergeraden (vgl. Abbildungen 4-1 bis 4-4) zur späteren Quantifikation belegen die Werte aus der jeweiligen Kalkulation der Bestimmtheitsmaße R^2 . Da diese Werte oberhalb von 0,9966 liegen (vgl. Tabelle 5-1), kann jeweils von einem nahezu perfekten linearen Zusammenhang zwischen Peakhöhe und Konzentration gesprochen werden.

Tab. 5-1: Bestimmtheitsmaße der Kalibriergeraden von Lutein, Zeaxanthin, Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester

Xanthophyll	Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergeraden
Lutein	0,9987
Zeaxanthin	0,9983
Canthaxanthin	0,9966
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	0,9975

Beim Betrachten der Kalibriergeraden ist auffällig, dass sich die Steigungen beträchtlich voneinander unterscheiden (vgl. Abbildungen 4-1 bis 4-4). Aus diesem Grunde muss geschlussfolgert werden, dass für jedes einzelne Xanthophyll das Erstellen einer eigenen Kalibriergeraden aus Verdünnungsstufen der entsprechenden Standardsubstanz zwingend notwendig ist, da bei der Anwendung von ein und

derselben Kalibriergeraden für die Quantifizierung mehrerer Xanthophylle die Gehalte falsch berechnet werden würden.

Aufgrund der rechtlichen Situation (vgl. Kapitel 2.1.4) und bereits vorliegender Studien, z. B. von SCHLATTERER [SCHLATTERER 2006], ist es nicht überraschend, dass in den untersuchten Eiern aus Bodenhaltung, bei welcher das Verfüttern von synthetischen Farbstoffen an Legehennen in einen gewissen Rahmen gestattet ist, neben *all-E*-Lutein und *all-E*-Zeaxanthin auch *all-E*-Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester nachgewiesen werden können. Einen Überblick über die in frischem unpasteurisiertem Eigelb ermittelten Xanthophyllgehalte, im Vergleich zu den Werten von SCHLATTERER und MAJCHRZAK [SCHLATTERER 2006, MAJCHRZAK 1997], bietet Tabelle 5-2.

Tab. 5-2: Vergleich der ermittelten Gehalte an *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, *all-E*-Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in nativem Eigelb [$\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eigelb] von Legehennen aus Bodenhaltung mit Literaturwerten

Xanthophyll	Charge 1	Charge 2	SCHLATTERER 2006*	MAJCHRZAK 1997**
<i>all-E</i> -Lutein	729,1 \pm 33,5	549,0 \pm 17,1	541,0 \pm 275,6	246,8 \pm 53,4
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	549,2 \pm 27,5	350,7 \pm 19,8	222,0 \pm 81,1	175,9 \pm 90,9
<i>all-E</i> -Canthaxanthin	1111,6 \pm 58,1	887,5 \pm 37,0	873,7 \pm 277,6	88,9 \pm 20,8
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	221,9 \pm 7,2	211,4 \pm 12,7	809,5 \pm 525,7	n.n.

* Mittelwerte \pm Standardabweichung ermittelt aus Eiern verschiedener Eiproduzenten

** Werte in $\mu\text{g}/100\text{ g}$ Vollei

n.n. nicht nachweisbar

Obwohl das ubiquitäre Vorkommen von *Z*-Isomeren der Carotinoide neben deren *all-E*-Form in zahlreichen biologischen Materialien, z. B. Fisch, Obst, Gemüse, Eiernudeln und auch humanen Geweben, unbestritten und nachgewiesen ist [MEGDAL 2009, CORTÉS 2004, HUMPHRIES 2003, BERNSTEIN 2001], liegen bis zum jetzigen Zeitpunkt nur wenige Nachweise in Eiern und Eiprodukten vor, z. B. von DELGADO-VARGAS [DELGADO-VARGAS 1998]. In frischen Schaleneiern steht der Nachweis von *Z*-Isomeren der Xanthophylle bislang noch aus. In beiden Chargen von Eiern aus Bodenhaltung kann das Vorhandensein von *13-Z*-Lutein, *13-Z*-Zeaxanthin und *9-Z*-Canthaxanthin nachgewiesen werden. Darüber hinaus ist aufgrund des Auftretens einer einzelnen (schwachen) UV-VIS-Bande bei 478 nm, einer Molekülmasse von *m/z* 565 und der relativen Nähe zum Peak von *all-E*-

Canthaxanthin der Nachweis eines weiteren Z-Isomeres von Canthaxanthin wahrscheinlich (vgl. Tabelle 4-2 und Abbildung 4-9), eine exaktere Identifikation scheidet jedoch an zu geringen Gehalten im Eimaterial. Des Weiteren werden in jeder mittels HPLC untersuchten Probe, also in nativem, pasteurisiertem oder getrocknetem Eigelb, vier Minorkomponenten detektiert (siehe Abbildung 4-9), bei denen es sich vermutlich um Isomere oder Oxidationsprodukte von Xanthophyllen handelt. Deren aufsummierter Anteil an der Gesamtfläche liegt pro Chromatogramm auf allen Verarbeitungsstufen bei unter einem Prozent.

5.2 Quantitative Bestimmung der Xanthophylle

5.2.1 Trockenmassen

Die zur Quantifizierung der Xanthophylle benötigten Trockenmassen der Eigelbproben bewegen sich, wie Tabelle 5-3 veranschaulicht, allesamt im Bereich der Literaturangaben. Da im Industriemaßstab die Trocknung generell nach einer Pasteurisation des zu trocknenden Eigelbes erfolgt, fließen in den Vergleich mit Literaturwerten nur die eigenen Werte ein, bei denen zuvor auch eine Pasteurisation erfolgt ist (vgl. Tabellen 4-3 und 4-4).

Tab. 5-3: Vergleich der Mittelwerte der Trockenmassen von nativem und getrocknetem Eigelb mit Literaturwerten [g/100 g]

	Charge 1	Charge 2	Literaturwert und zugehörige Quelle
natives Eigelb (nicht pasteurisiert)	49,18	48,69	48,9 [HUOPALAHTI 2007] 51,3 [TERNES 2005, BELITZ 2004]
sprühgetrocknetes Eigelb	98,17	97,85	> 95,0 [BELITZ 2004]
gefriergetrocknetes Eigelb	99,25	98,88	97,0 [KROELL 1989]

Wie den Tabellen 4-3 und 4-4 ebenfalls zu entnehmen ist, führt eine Pasteurisation von Flüssigeigelb unter den in Kapitel 3.3 beschriebenen Bedingungen zu einer leichten Erhöhung der Trockenmasse. Diese minimale Aufkonzentration kann mit der thermischen Einwirkung während der 3,5-minütigen Pasteurisation bei +61,5 °C erklärt werden, welche zu einem Kondensieren geringer Mengen an Wasser in den oberen Bereichen des geschlossenen Laborreaktors führt.

Die sprühgetrockneten Eigelbe aus zuvor nicht pasteurisiertem bzw. pasteurisiertem Flüssigeigelb weisen nahezu identische Trockenmassen auf. Bei den gefriergetrockneten Eigelben ist hingegen auffällig, dass eine vorab erfolgte Pasteurisation der Flüssigeigelbe in allen Fällen in einer höheren Trockenmasse

resultiert. Als Grund dafür kann angeführt werden, dass bereits zum Beginn der 32-stündigen Haupt- und Nachrocknung in den zuvor nicht pasteurisierten Flüssigeigelben minimal höhere Wassergehalte bzw. niedrigere Trockenmassen gemessen werden als in den zuvor pasteurisierten Flüssigeigelben. Bei gleicher Schichtdicke, Prozessauslegung und Prozessdauer bleibt dieser Zustand bis zum Ende der Gefriertrocknung erhalten.

Stichprobenartige Bestimmungen der Trockenmasse aller gelagerten Eigelbpulver bestätigen die Konstanz der ermittelten Werte über den gesamten Lagerungszeitraum.

5.2.2 Bestimmung der Wiederfindung von freien Xanthophyllen

Wie in Kapitel 3.6.2.1 dargelegt wird, werden mit der gewählten Extraktionsmethode (vgl. Abbildung 3-3) die freien und auch gebundenen Xanthophylle quantitativ aus flüssigem und getrocknetem Eigelb herausgelöst, erkennbar am farblosen Rückstand nach der Extraktion (vgl. Abbildung 3-2).

Das Hinzufügen von in Methanol gelösten Xanthophyll-Standardsubstanzen zum Eigelbmaterial führt zu Wiederfindungsraten von jeweils 95,0 % bis 95,4 % (vgl. Kapitel 4.2.2). Aufgrund des vergleichsweise polaren Charakters des Lösungsmittels Methanol sind höhere Wiederfindungsraten bei den Xanthophyllen Lutein und Zeaxanthin erwartet worden, jedoch wurde diese Erwartung nicht erfüllt.

Die ermittelten Wiederfindungsraten, die auf eine nicht vollständige Extraktion freier Xanthophylle schließen lassen, fließen in die Kalkulation der Xanthophyllgehalte ein (siehe Tabellen 4-6 bis 4-13).

5.2.3 Xanthophyllgehalte in nativem Flüssigeigelb

Die Eigelbe beider Eier-Chargen eines Eiproduzenten weisen neben einem identischen Xanthophyllspektrum (vgl. Kapitel 4.1.2 und 4.2.3) signifikante Unterschiede in den jeweiligen Gehalten auf. Wie den Tabellen 4-6 bis 4-13 entnommen werden kann, weisen die Eigelbe der Charge 1 deutlich höhere Gehalte an *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, *13-Z*-Lutein, *13-Z*-Zeaxanthin, *9-Z*-Canthaxanthin und *all-E*-Canthaxanthin auf als die Eigelbe der Charge 2. Die Gehalte an dem nicht identifizierbaren *Z*-Isomer von Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester sind hingegen auf einem vergleichbaren Level. Es kann nur vermutet werden, dass die Legehennen im entsprechenden Legebetrieb zum einen Futter mit leicht

variierendem Xanthophyllmuster erhalten haben, zum anderen mit unterschiedlichen Gehalten an diesen Xanthophyllen.

In beiden Eigelb-Chargen dominiert jeweils quantitativ *all-E*-Canthaxanthin, gefolgt von *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, 9-*Z*-Canthaxanthin, β -Apo-8'-Carotinsäureethylester, 13-*Z*-Zeaxanthin, dem nicht identifizierbarem *Z*-Isomer von Canthaxanthin und 13-*Z*-Lutein. Die relativen Gehalte der identifizierbaren *Z*-Isomere am jeweiligen Xanthophyllgehalt bzw. am Gesamt-xanthophyllgehalt werden in Tabelle 5-4 dargestellt.

Tab. 5-4: Absolute Gehalte [$\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eigelb \pm Standardabweichung] von 13-*Z*-Lutein, 13-*Z*-Zeaxanthin und 9-*Z*-Canthaxanthin und deren relative Anteile am jeweiligen Xanthophyllgehalt (*all-E* + *Z*) und am Gesamt-xanthophyllgehalt [%]

	Z-Isomer		
	13-<i>Z</i>-Lutein	13-<i>Z</i>-Zeaxanthin	9-<i>Z</i>-Canthaxanthin
Gehalt in Charge 1 [$\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eigelb]	32,8 \pm 6,0	111,1 \pm 4,9	429,7 \pm 26,8
Gehalt in Charge 2 [$\mu\text{g}/100\text{ g}$ Eigelb]	14,9 \pm 4,6	69,7 \pm 4,7	322,4 \pm 11,3
Relativer Anteil an der Summe von <i>all-E</i> - und <i>Z</i> -Form in Charge 1 [%]	4,3	16,8	27,9
Relativer Anteil an der Summe von <i>all-E</i> - und <i>Z</i> -Form in Charge 2 [%]	2,6	16,6	26,6
Relativer Anteil am Gesamt-xanthophyllgehalt der Charge 1 [%]	1,0	3,4	13,2
Relativer Anteil am Gesamt-xanthophyllgehalt der Charge 2 [%]	0,6	2,8	13,0

Anhand Tabelle 5-4 wird ersichtlich, dass zum Gesamt-xanthophyllgehalt von nativem Flüssigeigelb bereits zu ca. 16 % bis 18 % die *Z*-Isomere beitragen. Des Weiteren wird ebenso erkennbar, dass 13-*Z*-Lutein nur etwa 3 % bis 4 % des Gesamtluteingehaltes, 13-*Z*-Zeaxanthin bereits ca. 17 % des Gesamtzeaxanthingehaltes und 9-*Z*-Canthaxanthin immerhin ca. 27 % bis 28 % des Gesamtcanthaxanthingehaltes ausmachen. Beim Vergleich dieser Werte mit denen von PERRY aus dem Jahr 2009 kann konstatiert werden, dass diese in einer ähnlichen Dimension liegen [PERRY 2009]. So spricht PERRY von einem Anteil der *Z*-Isomere von Lutein am Gesamtluteingehalt von ca. 14 % und einem Anteil der *Z*-Isomere von Zeaxanthin am Gesamtzeaxanthingehalt von ca. 12 %, ohne dabei zu spezifizieren, um welche *Z*-Isomere es sich handelt.

Da die physiologischen Wirkungen dieser *Z*-Isomere im Körper des Menschen bislang kaum untersucht sind (vgl. Kapitel 2.3.1), können keine Aussagen über mögliche Konsequenzen für die Humanernährung erfolgen.

Die in beiden Eier-Chargen ermittelten *all-E*-Canthaxanthingehalte bewegen sich mit $11,12 \pm 0,58$ mg pro Kilogramm Eigelb bzw. $8,88 \pm 0,37$ mg pro Kilogramm Eigelb deutlich unter dem maximal erlaubten Rückstandshöchstgehalt von 30 mg pro Kilogramm Eigelb (Feuchtgewebe) [EUROPA 2003c].

Der Vergleich der ermittelten Gehalte an *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, *all-E*-Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester mit Literaturwerten für Eier aus Bodenhaltung ergibt eine große Übereinstimmung mit den bereits verfügbaren Daten (vgl. Tabelle 5-2). Während die Gehalte an *all-E*-Lutein und *all-E*-Canthaxanthin sich im Mittelfeld der Literaturwerte bewegen, liegen die Gehalte an *all-E*-Zeaxanthin am oberen Rand und die Gehalte an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester am unteren Ende der bislang beschriebenen Gehalte. Die ermittelten Gesamtxanthophyllgehalte der Eier-Chargen 1 und 2 (vgl. Tabellen 4-6 bis 4-13) befinden sich mit $3260,9 \pm 154,4$ und $2473,1 \pm 99,2$ $\mu\text{g}/100$ g Eigelb im oberen Drittel der Literaturwerte (s. Tabelle 2-3). Dabei darf nicht außer Acht gelassen werden, dass bislang in der Literatur nur selten Gehalte an *Z*-Isomeren in Eiern beschrieben werden und somit auch nicht in die Ausweisung von Gesamtxanthophyll- bzw. Gesamtcarotinoidgehalten einfließen.

5.2.4 Xanthophyllgehalte in pasteurisiertem Flüssigeigelb

Beim Vergleich der Xanthophyllgehalte von nativem Eigelb und daraus resultierendem pasteurisiertem Eigelb wird ersichtlich, dass durch den Prozessschritt der Pasteurisation keine wesentlich veränderte Xanthophyllretention verursacht wird (vgl. Kapitel 4.2.4). Die Konzentrationen aller determinierbaren Xanthophylle weisen nur kleine Unterschiede auf, die jedoch nicht signifikant sind ($P > 0,05$), gleiches trifft auf die jeweiligen Konzentrationen der Gesamtxanthophylle beider Eier-Chargen zu (s. Abbildungen 4-10 und 4-11). In Tabelle 5-5 erfolgt eine Gegenüberstellung der Xanthophyllgehalte der Eier-Chargen 1 und 2, jeweils vor und nach der Pasteurisation.

Tab. 5-5: Absolute Xanthophyllgehalte [$\mu\text{g}/100 \text{ g}$ Eigelb \pm Standardabweichung] der Eier-Chargen 1 und 2 vor und nach der Pasteurisation (jeweils $n = 9$); Peak-Nummerierungen entsprechen denen von Tabelle 4-2.

	$\mu\text{g}/100 \text{ g}$ Eigelb								gesamt
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Charge 1									
nativ	729,1 \pm 33,5	549,2 \pm 27,5	32,8 \pm 6,0	111,1 \pm 4,9	429,7 \pm 26,8	1111,6 \pm 58,1	75,3 \pm 5,6	221,9 \pm 7,2	3260,9 \pm 154,4
pasteurisiert	747,6 \pm 20,3	573,9 \pm 25,7	31,0 \pm 4,1	118,6 \pm 7,9	436,4 \pm 9,6	1103,9 \pm 45,0	79,5 \pm 6,6	234,3 \pm 13,3	3325,3 \pm 104,9
Charge 2									
nativ	549,0 \pm 17,1	350,7 \pm 19,8	14,9 \pm 4,6	69,7 \pm 4,7	322,4 \pm 11,3	887,5 \pm 37,0	67,4 \pm 3,9	211,4 \pm 12,7	2473,1 \pm 99,2
pasteurisiert	549,7 \pm 10,8	341,4 \pm 6,2	10,2 \pm 5,4	72,9 \pm 3,5	331,3 \pm 7,8	893,4 \pm 19,2	68,3 \pm 3,6	215,6 \pm 12,9	2482,9 \pm 40,5

Dieses Ergebnis überrascht nicht, denn eine Pasteurisation unter den gewählten Parametern Temperatur (+61,5 °C) und Zeit (3,5 min) entspricht einer vergleichsweise geringen thermischen Belastung, die dem Inaktivieren vegetativer Keime unter Beibehalt der Produktqualität von Flüssigeigelb dient (s. Kapitel 2.4.1). Offensichtlich wirkt sich diese nicht auf den Xanthophyllgehalt aus. Zwar stehen zum Vergleich in der Literatur keine Ergebnisse zur Evaluierung des Einflusses einer Pasteurisation auf den Xanthophyllgehalt von Flüssigeigelb zur Verfügung, jedoch weisen die Erkenntnisse von SCHLATTERER, SURAI und SUNGPUAG in eine vergleichbare Richtung, die sich u. a. mit dem Einfluss des Kochens von Eiern auf den Xanthophyllgehalt befassen [SCHLATTERER 2006, SURAI 2000, SUNGPUAG 1999]. Während SURAI nach 10-minütigem Kochen von „Designer-Eiern“, also Eiern, die aufgrund der speziellen Fütterung von Legehennen überdurchschnittlich hohe Gehalte an Vitamin E, Lutein, Docosahexaensäure und Selen aufweisen, keine signifikant veränderten Gehalte an Lutein, und SUNGPUAG nach 10-minütigem Kochen von handelsüblichen Eiern geringe Verluste im Gehalt an Retinol in Höhe von 11,0 % \pm 5,8 % konstatieren, ermittelt SCHLATTERER nach 10-minütigem Kochen mehrerer Eier-Chargen verschiedener Haltungsformen mittlere Verluste in den Gehalten an Lutein von 19 % \pm 15 %, an Zeaxanthin von 15 % \pm 11 %, an Canthaxanthin von 12 % \pm 7 % und an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in Höhe von 10 % \pm 1 %. Da die Pasteurisation bei +61,5 °C erfolgt und damit bei einer deutlich niedrigeren Temperatur als beim Kochen der Eier (+100 °C), zudem die Dauer des thermischen Einflusses beträchtlich geringer ist (3,5 min anstatt 10 min), erscheint das Ausbleiben eines messbaren Effektes der Pasteurisation auf den Xanthophyllgehalt von Flüssigeigelb plausibel. In diesem Zusammenhang muss jedoch die Frage nach der Sinnhaftigkeit eines 10-minütigen Kochens von Hühnereiern gestellt werden, da die Kochdauer von 10 Minuten keine haushaltsübliche Zubereitungsweise repräsentiert.

5.2.5 Xanthophyllgehalte in sprühgetrocknetem Eigelb

Basierend auf den in den Tabellen 4-14 und 4-15 aufgezeigten Ergebnissen zu relativen Veränderungen nach Sprühtrocknung von nicht pasteurisiertem bzw. pasteurisiertem Flüssigeigelb erfolgt in Tabelle 5-6 eine Zusammenstellung dieser Beobachtungen. Die dabei, je nach Xanthophyll, determinierten Veränderungen werden im Anschluss zunächst beschrieben und anschließend diskutiert.

Tab. 5-6: Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte nach Sprühtrocknung von Eigelb der Chargen 1 und 2 [%]

Xanthophyll	Sprühtrocknung			
	Charge 1	Charge 2	Charge 1	Charge 2
	aus <u>nicht</u> pasteurisiertem Eigelb	aus <u>nicht</u> pasteurisiertem Eigelb	aus pasteurisiertem Eigelb	aus pasteurisiertem Eigelb
<i>all-E</i> -Lutein	+ 21 %	+ 8 %	+ 28 %	+ 28 %
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	+ 26 %	± 0 %	+ 32 %	+ 26 %
13- <i>Z</i> -Lutein	+ 147 %	+ 188 %	+ 178 %	+ 275 %
13- <i>Z</i> -Zeaxanthin	+ 35 %	+ 29 %	+ 37 %	+ 30 %
9- <i>Z</i> -Canthaxanthin	+ 7 %	± 0 %	+ 15 %	+ 8 %
<i>all-E</i> -Canthaxanthin	+ 3 %	- 9 %	+ 12 %	+ 3 %
<i>Z</i> -Isomer Canthaxanthin	+ 1 %	- 1 %	+ 1 %	- 15 %
β-Apo-8'-Carotinsäureethylester	+ 20 %	- 12 %	+ 37 %	- 4 %
gesamt	+ 15 %	± 0 %	+ 23 %	+ 14 %

all-E-Lutein

Nach der Durchführung der Sprühtrocknung liegen die Gehalte an *all-E*-Lutein allgemein signifikant höher als im jeweiligen Ausgangsmaterial für die Trocknung, die relativen Veränderungen bewegen sich dabei zwischen +8 % und +28 %. Tendenziell verstärkt eine vorangegangene Pasteurisation eine relative Veränderung.

all-E-Zeaxanthin

Die Retention von *all-E*-Zeaxanthin ist sprühtrocknungsbedingt oftmals signifikant erhöht (+26 % bis +32 %). Als Ausnahme muss die Sprühtrocknung aus unpasteurisiertem Material der Eier-Charge 2 hervorgehoben werden, bei der die

Gehalte unverändert bleiben. Das Ausmaß der relativen Veränderung liegt dabei in etwa in der Dimension, welche bereits bei *all-E*-Lutein beobachtet wird.

13-Z-Lutein

Eine Sprühtrocknung bewirkt ausnahmslos eine erhebliche Veränderung der Gehalte an 13-Z-Lutein. Die relativen Veränderungen liegen im Bereich von +147 % bis +275 %, höhere prozentuale Veränderungen können dabei nach der Trocknung von pasteurisiertem Flüssigeigelb konstatiert werden.

13-Z-Zeaxanthin

Ebenso wie der Gehalt am 13-Z-Isomer von Lutein unterliegt auch der Gehalt an 13-Z-Zeaxanthin, bedingt durch die Sprühtrocknung, einer signifikanten Veränderung. Die dabei auftretenden Änderungen sind vergleichsweise einheitlich und unabhängig von einer zuvor erfolgten Pasteurisation im Bereich von +29 % bis +37 %.

9-Z-Canthaxanthin

Die Sprühtrocknung bewirkt tendenziell eine signifikante Veränderung der Gehalte an 9-Z-Canthaxanthin (+7 % bis +15%). Eine Ausnahme bildet die Sprühtrocknung aus unpasteurisiertem Material der Eier-Charge 2, bei der es zu keiner signifikanten Abweichung kommt. Im Vergleich zu den Veränderungen im Xanthophyllgehalt an 13-Z-Zeaxanthin und erst recht zum Gehalt an 13-Z-Lutein, fällt die Veränderung im Gehalt an 9-Z-Canthaxanthin moderat aus.

all-E-Canthaxanthin

Ein vergleichsweise heterogenes Bild zeigt der Einfluss der Sprühtrocknung auf die Gehalte an *all-E*-Canthaxanthin. Während die Sprühtrocknung von unpasteurisiertem Material keine Veränderung (Eier-Charge 1) bzw. sogar eine signifikante Abnahme (Eier-Charge 2) verursacht, führt die Sprühtrocknung von vorher pasteurisiertem Material zu Veränderungen im Rahmen von +3 % bis +12 %.

Z-Isomer Canthaxanthin

Nach der Sprühtrocknung kann tendenziell eine gleichbleibende Retention dieser Verbindung festgestellt werden. Einzig die Sprühtrocknung von pasteurisiertem Material der Eier-Charge 2 bewirkt eine signifikante Veränderung (-15 %).

β -Apo-8'-Carotinsäureethylester

Ein uneinheitliches Bild ist bei Betrachtung des Einflusses der Sprühtrocknung auf den Gehalt an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester zu beobachten. Während die Trocknung von Eigelb der Charge 1 zu signifikanten Veränderungen im Bereich von +20 % (nicht pasteurisiertes Eigelb) bis +37 % (pasteurisiertes Eigelb) führt, verursacht die Sprühtrocknung von Eigelb der zweiten Eier-Charge signifikant niedrigere (-12 %, nicht pasteurisiertes Eigelb) bzw. nahezu unveränderte Gehalte (-4 %, pasteurisiertes Eigelb).

Gesamtxanthophylle

Bei Betrachtung des Gesamtxanthophyllgehaltes führt das Sprühtrocknen zum Teil zu einem signifikanten Anstieg, wobei die relativen Veränderungen im Bereich von +14 % bis +23 % liegen. Eine Ausnahme stellt das unpasteurisierte Material der Eier-Charge 2 dar, bei dem nach Sprühtrocknung keine signifikante Änderung des Gesamtxanthophyllgehaltes konstatiert werden kann.

Es wird zudem festgestellt, dass eine vorausgegangene Pasteurisation eine höhere Xanthophyllretention zur Folge hat. Allein das nicht identifizierbare Z-Isomer von Canthaxanthin stellt sich gegen diesen Trend. Des Weiteren ist auffällig, dass die sprühtrocknungsbedingten Veränderungen im Gehalt der einzelnen Xanthophylle bei Betrachtung der Chargen 1 und 2 nicht immer identisch sind und sich teilweise sogar gegensätzlich verhalten (siehe Tabelle 5-6). Da die Sprühtrocknung und die zugehörige Probenvorbereitung der Flüssigeigelbe beider Eier-Chargen hinsichtlich der Prozessparameter identisch abläuft (s. Kapitel 3.4.1) und eine hohe Reproduzierbarkeit der vollständigen Extraktion aus dem Probenmaterial gegeben ist (vgl. Kapitel 3.6.2 und 4.2), ist ein matrixabhängiger Einfluss als Erklärung für die Unterschiede der sprühtrocknungsbedingten Veränderungen sehr wahrscheinlich.

Bereits 1996 belegt LAI, dass nach Sprühtrocknung von Flüssigvollei in den Proben mit höherem α -Tocopherolgehalt signifikant höhere Gehalte an Carotinoiden in den erzeugten Pulvern determiniert werden als in den Pulvern mit niedrigerem Gehalt an α -Tocopherol [LAI 1996]. Der protektive Einfluss eines höheren Antioxidanziengehaltes auf die Erhaltung von Carotinoiden bei der Trocknung ist auch von anderen Matrices aus dem Lebensmittelbereich bekannt, z. B. Mangos und Paprika [CHEN 2007, DAOOD 2006]. Des Weiteren belegen Untersuchungen von PÉREZ-GÁLVEZ, dass auch das Fettsäurespektrum in der Lebensmittelmatrix einen großen Einfluss

auf die Stabilität von Carotinoiden haben kann [PÉREZ-GÁLVEZ 2000]. Als Ursache nennt PÉREZ-GÁLVEZ, dass mit steigendem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren eine höhere Anfälligkeit für Oxidationsprozesse einhergeht, was wiederum eine Bildung von Hydroperoxiden begünstigt.

Wie aus den Tabellen 4-6 bis 4-13 hervorgeht, weisen die Eigelbe beider Eier-Chargen eines Eiproduzenten zwar ein identisches Xanthophyllspektrum, jedoch nicht identische absolute Gehalte an den determinierten Xanthophyllen auf. Es ist daher davon auszugehen, dass sich auch die Gehalte an potenziellen Antioxidanzien im (Trocken-)Eigelb, z. B. Vitamin E und bestimmte Eigelbproteine [SAKANAKA 2004], unterscheiden, ebenso die Zusammensetzung der Fettsäuren in der Eigelbmatrix und deren Gehalte.

Bei Betrachtung der relativen Veränderungen der Xanthophyllgehalte nach Sprühtrocknung von Eigelb (siehe Tabelle 5-6) ist auffällig, dass diese je nach Xanthophyll variieren. Während sprühtrocknungsbedingt im Falle von *all-E*-Lutein und *all-E*-Zeaxanthin in etwa 20 % bis 30 % vermehrt freigesetzt werden, sind die relativen Veränderungen der Gehalte von *all-E*-Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester weniger stark ausgeprägt. Die wahrscheinlichste Ursache für dieses Verhalten ist die Form, in der die Xanthophylle im Eigelb vorliegen. Neben den jeweils freien Formen können diese auch in veresterter Form vorliegen, letzteres heißt gebunden an eine (Monoester) oder zwei (Diester) Fettsäuren. Zum Veresterungsgrad von Xanthophyllen im Eigelb sind deutlich variierende Ergebnisse in der Literatur zu finden. Während GOODWIN von einem Veresterungsgrad von mehr als 90 % spricht, liegen laut SURAI weniger als 1 % der Xanthophylle in gebundener Form vor [SURAI 2001, GOODWIN 1984]. Aus den Werten von Tabelle 5-6 können natürlich keine Rückschlüsse auf den jeweiligen Veresterungsgrad der einzelnen Xanthophylle gezogen werden, jedoch weisen die unterschiedlichen relativen Veränderungen darauf hin, dass es aufgrund der variierenden Freisetzungsraten Xanthophyll-spezifische Unterschiede gibt. Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es in der Literatur keine Angaben über Xanthophyll-spezifische Verteilungen zwischen freier bzw. veresterter Form im Eigelb.

Die beschriebenen relativen „Erhöhungen“ im Xanthophyllgehalt können dabei nicht auf eine Neubildung im Zuge der Sprühtrocknung zurückgeführt werden, da die enzymatische Ausstattung im Eigelb dies nicht zulässt (vgl. Kapitel 2.3). Stattdessen scheint eine Reaktion vorstellbar, die beispielsweise von CHANG, DEWANTO und

BALOCH im Zuge der Trocknung von Tomaten und Karotten beschrieben wird [CHANG 2007, DEWANTO 2002, BALOCH 1977]. Diese Autoren konstatieren, dass die thermische Belastung im Zuge der Trocknung zu einer Degradation von äußeren Zellwänden und inneren Membranen der Zellorganellen führt, was ein Freisetzen von Xanthophyllen bewirkt, die zuvor im Verlauf der Extraktion nicht freigesetzt werden konnten. Laut JAEKEL ist bei der Trocknung von Eigelb aufgrund des thermischen Einflusses und dem Entzug von Wasser auch eine Denaturierung von Proteinen möglich [JAEKEL 2008], folglich auch von Lipoproteinen, an welche die Carotinoide im Eigelb maßgeblich assoziiert vorliegen [TERNES 1995]. Werden diese Carotinoid-Lipoprotein-Bindungen aufgrund einer Denaturierung des Proteinanteils gelöst, stehen für die Extraktion mehr freie Carotinoide zur Verfügung, die quantitativ erfasst werden können.

Nach Durchführung der Sprühtrocknung von Flüssigeigelb können in allen Fällen deutlich erhöhte Gehalte an determinierbaren *Z*-Isomeren detektiert werden (s. Tabelle 5-6), wobei insbesondere die Veränderungen der Gehalte an *13-Z*-Lutein auffällig sind, welche sich in einem Bereich von +147 % bis +275 % bewegen. Die Veränderungen der Gehalte an *13-Z*-Zeaxanthin und *9-Z*-Canthaxanthin fallen hingegen deutlich geringer aus, im Falle des nicht exakt determinierbaren *Z*-Isomers von Canthaxanthin bleiben die Gehalte nahezu konstant und sind teilweise sogar leicht sinkend. Dies kann mit dem individuellen Isomerisierungsverhalten eines jeden Carotinoids in Abhängigkeit von der Matrix erklärt werden [AMAN 2005].

Wie in Kapitel 2.3.2.1 dargestellt wird, unterliegen die in der Natur häufig in der stabileren *all-E*-Form vorliegenden Carotinoide einem komplexen Isomerisierungsverhalten, welches durch die Zufuhr von Energie (Wärme, Licht) und das Vorhandensein von Sauerstoff, Säure und Metallionen (Katalysatoren) maßgeblich bestimmt wird. Eine Konsequenz dieses Verhaltens könnte sein, dass die entstehenden *Z*-Verbindungen aufgrund ihrer sterischen Hinderung (Abstoßungskräfte) energiereicher und damit instabiler sind als die gestreckten *all-E*-Verbindungen. Der Vorgang der Umwandlung von *all-E*-Konformation zu *Z*-Konformation verlief folglich endotherm, machte demnach die Zufuhr von Wärme und/oder Licht (Aktivierungsenergie) erforderlich und könnte durch Katalysatoren beschleunigt werden. Eine Untermauerung dieser Hypothese mit tatsächlichen thermodynamischen Daten steht in der Literatur für die meisten Carotinoide noch aus. In Untersuchungen zum Einfluss von Wärme und Licht auf das Isomerisierungsverhalten von Lutein (Standardsubstanz) in wässrigen Lösungen wird durch AMAN

festgestellt, dass sich nach 60-minütiger Einwirkung einer Temperatur von +98 °C der Gehalt an 13-Z-Lutein von zuvor 1,1 % auf 18,3 % erhöht [AMAN 2005]. HADDEN setzt sogar gezielt das Erhitzen von *all-E*-Lutein ein, um relevante Mengen an 9-Z-Lutein, 9'-Z-Lutein, 13-Z-Lutein, 13'-Z-Lutein und 15-Z-Lutein zu synthetisieren [HADDEN 1999]. Ebenso liegen zahlreiche Nachweise, zumeist in Modellsystemen oder pflanzlichen Matrices, für eine thermisch bedingte Erhöhung der Gehalte an Z-Isomeren von Carotinoiden vor, z. B. für β -Carotin, Lycopin und Zeaxanthin [UNLU 2007, MILANOWSKA 2005, UPDIKE 2003, LESSIN 1997]. Es ist daher nachvollziehbar, dass auch in der Matrix Eigelb nach Durchführung der Sprühtrocknung aufgrund der thermischen Belastung höhere Gehalte an Z-Isomeren detektiert werden als im Rohmaterial (siehe Tabelle 5-6).

5.2.6 Xanthophyllgehalte in gefriergetrocknetem Eigelb

Auf Grundlage der in den Tabellen 4-16 und 4-17 gezeigten Ergebnisse zu relativen Veränderungen nach Gefriertrocknung von nicht pasteurisiertem bzw. pasteurisiertem Flüssigeigelb erfolgt in Tabelle 5-7 eine Zusammenfassung dieser Beobachtungen. Je nach Xanthophyll, werden die determinierten Veränderungen nachfolgend zunächst noch einmal kurz beschrieben und anschließend diskutiert.

Tab. 5-7: Relative Veränderungen der Xanthophyllgehalte nach Gefriertrocknung von Eigelb der Chargen 1 und 2 [%]

	Gefriertrocknung			
	Charge 1	Charge 2	Charge 1	Charge 2
Xanthophyll	aus nicht pasteurisiertem Eigelb	aus nicht pasteurisiertem Eigelb	aus pasteurisiertem Eigelb	aus pasteurisiertem Eigelb
<i>all-E</i> -Lutein	+ 39 %	+ 36 %	+ 34 %	+ 26 %
<i>all-E</i> -Zeaxanthin	+ 44 %	+ 35 %	+ 36 %	+ 26 %
13-Z-Lutein	+ 117%	+ 358 %	+ 142 %	+ 562 %
13-Z-Zeaxanthin	+ 33 %	+ 17 %	+ 30 %	+ 6 %
9-Z-Canthaxanthin	+ 6 %	+ 26 %	+ 10 %	+ 19 %
<i>all-E</i> -Canthaxanthin	+ 11 %	+ 28 %	+ 11 %	+ 18 %
Z-Isomer Canthaxanthin	- 3 %	- 7 %	- 10 %	- 14 %
β -Apo-8'-Carotinsäureethylester	+ 47 %	+ 42 %	+ 39 %	+ 26 %
gesamt	+ 26 %	+ 32 %	+ 24 %	+ 23 %

all-E-Lutein

Im Zuge der Gefriertrocknung steigen die Gehalte an *all-E*-Lutein allgemein signifikant an, die relativen Veränderungen bewegen sich dabei zwischen +26 % und +39 %. Tendenziell bewirkt eine vorherige Pasteurisation eine geringere Zunahme.

all-E-Zeaxanthin

Die Retention von *all-E*-Zeaxanthin ist nach der Gefriertrocknung generell signifikant erhöht (+26 % bis +44 %). Ebenso wie bei *all-E*-Lutein führt eine vorherige Pasteurisation zu einer weniger ausgeprägten Zunahme.

13-Z-Lutein

Eine Gefriertrocknung bewirkt ausnahmslos eine erhebliche Erhöhung der Gehalte an 13-Z-Lutein. Die relativen Veränderungen liegen im Bereich von +117 % bis +562 %, wobei die stärker ausgeprägten Veränderungen beim zuvor pasteurisierten Material zu beobachten sind.

13-Z-Zeaxanthin

Ebenso wie für die Gehalte des 13-Z-Isomers von Lutein ist auch für die Gehalte an 13-Z-Zeaxanthin, bedingt durch die Gefriertrocknung, eine signifikante Erhöhung zu beobachten, wobei die Änderungen im Bereich von +6 % bis +33 % liegen. Im Gegensatz zu 13-Z-Lutein sind beim zuvor nicht pasteurisierten Material stärkere Zunahmen festzustellen.

9-Z-Canthaxanthin

Nach Durchführung der Gefriertrocknung können allgemein signifikant höhere Gehalte an 9-Z-Canthaxanthin (+6 % bis +26%) konstatiert werden. Während bei Betrachtung der Charge 1 eine höhere Retention beim zuvor pasteurisierten Material auffällt, sind bei Charge 2 die höheren Gehalte beim zuvor nicht pasteurisierten Material zu finden.

all-E-Canthaxanthin

Ein vergleichsweise homogenes Bild entsteht bei Betrachtung des Einflusses der Gefriertrocknung auf die Gehalte an *all-E*-Canthaxanthin. Während die Gefriertrocknung von nicht pasteurisiertem und pasteurisiertem Material der Eier-Charge 1 keine großen Unterschiede verursacht (jeweils +11 %), führt bei Betrachtung der

Eier-Charge 2 die Gefriertrocknung von vorher nicht pasteurisiertem Material (+28 %) zu einer stärker ausgeprägten Änderung des *all-E*-Canthaxanthingehaltes als von zuvor pasteurisiertem Material (+18 %).

Z-Isomer Canthaxanthin

Die Gefriertrocknung bewirkt tendenziell eine signifikant niedrigere Retention dieser Verbindung (-7 % bis -14 %). Einzig die Gefriertrocknung von nicht pasteurisiertem Material der Eier-Charge 1 bewirkt keine signifikante Veränderung. Die höheren Verluste treten hier bei der Gefriertrocknung von zuvor pasteurisiertem Material auf.

β -Apo-8'-Carotinsäureethylester

Bei Betrachtung des Einflusses der Gefriertrocknung auf den Gehalt an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester ist ein einheitliches Bild zu erkennen. So kommt es bei der Trocknung von Material der Chargen 1 und 2 durchweg zu signifikanten Veränderungen im Bereich von +26 % bis +47 %. Eine höhere Retention zeigt sich dabei beim nicht pasteurisierten Material.

Gesamtanthophylle

Die Gefriertrocknung führt bei Betrachtung des Gesamtanthophyllgehaltes zu einer signifikanten Erhöhung, wobei die relativen Veränderungen recht einheitlich im Bereich von +23 % bis +32 % liegen. Die größten Änderungen treten dabei bei der Gefriertrocknung von vorher nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb auf.

Des Weiteren kann konstatiert werden, dass eine vorherige Pasteurisation tendenziell eine niedrigere Xanthophyllretention zur Folge hat (siehe Tabelle 5-7). Allein die Gehalte an 13-Z-Lutein (bei Betrachtung beider Eier-Chargen), 9-Z-Canthaxanthin (nur Eier-Charge 1) und *all-E*-Canthaxanthin (nur Eier-Charge 1) stellen sich gegen diesen Trend.

Zudem wird festgestellt, dass nach Durchführung der Gefriertrocknung die Veränderungen im Gehalt der einzelnen Xanthophylle bei Betrachtung der Eier-Chargen 1 und 2 nicht einheitlich sind (siehe Tabelle 5-7). Wie in Kapitel 5.2.5 dargestellt wird, kommen vermutlich, aufgrund der identischen Durchführung von Probenvorbereitung und Gefriertrocknung, nur matrixabhängige Faktoren, wie der Gehalt an Antioxidanzien und ungesättigten Fettsäuren, als Erklärung für diese Unterschiede in Frage. Wie bereits bei der Sprühtrocknung beschrieben (s. Kapitel

5.2.5), können auch nach Durchführung der Gefriertrocknung unterschiedliche relative Veränderungen im Gehalt der determinierten Xanthophylle festgestellt werden. Im Falle der Gehalte an *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin und *all-E*-Canthaxanthin werden nach der Gefriertrocknung sogar noch etwas höhere Werte beobachtet als nach der Sprühtrocknung. Bei Betrachtung des Gehaltes an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester fällt auf, dass nach dem Gefriertrocknen deutlich höhere Zunahmen zu verzeichnen sind als nach dem Sprühtrocknen (Gefriertrocknen: +26 % bis +47 %, Sprühtrocknen: -4 % bis +37 %).

Im Gegensatz zur Sprühtrocknung kommt als Ursache für diese Erhöhung der Gehalte kein thermischer Einfluss in Frage. Die höchste Temperatur, der das Eigelb im Zuge der Gefriertrocknung ausgesetzt ist, beträgt +22 °C im Verlauf der Nachtrocknung (vgl. Kapitel 3.4.2). Wie jedoch in Kapitel 5.2.5 dargelegt wird, kann ein zu hoher Gehalt an Trockenmasse zu einer Denaturierung von (Lipo-)Proteinen im Eigelb, aufgrund des Entzuges an stabilisierendem Hydratwasser, führen [JAEKEL 2008]. Für diese Theorie spricht, dass nach Durchführung der Gefriertrocknung von Flüssigeigelb der zweiten Eier-Charge Trockenmassegehalte von 97,70 g/100 g (nicht pasteurisiert) und 98,88 g/100 g (pasteurisiert) relative Veränderungen im Gesamt-xanthophyllgehalt von +24 % und +23 % beobachtet, hingegen nach Gefriertrocknung von Flüssigeigelb der ersten Eier-Charge mit Trockenmassegehalten von 98,79 g/100 g (nicht pasteurisiert) und 99,25 g/100 g (pasteurisiert) etwas ausgeprägtere relative Veränderungen im Gesamt-xanthophyllgehalt in Höhe von +26 % und +32 % (vgl. Kapitel 4.2.1 mit Tabelle 5-7) ermittelt werden.

Bei der Betrachtung der relativen Veränderungen der jeweiligen Gehalte an *Z*-Isomeren durch die Gefriertrocknung fällt auf, dass diese sich den nach Durchführung der Sprühtrocknung beschriebenen Veränderungen tendenziell ähneln (siehe Tabelle 5-8). Unterschiede von mehr als 10 % liegen dabei vor allem bei der Betrachtung der relativen Veränderungen der Gehalte an 13-*Z*-Lutein vor, aber auch der Gehalte an 13-*Z*-Zeaxanthin in Eigelbpulvern aus zuvor pasteurisiertem Eigelb der Eier-Charge 2, der Gehalte am nicht exakt bestimmbareren *Z*-Isomer von Canthaxanthin in Eigelbpulvern aus nicht pasteurisiertem Eigelb der Eier-Charge 1 und allgemein der Gehalte an 9-*Z*-Canthaxanthin in Eigelbpulvern der Eier-Charge 2. Da im Zuge der Gefriertrocknung keine wesentliche Einwirkung von Wärme auf die

Xanthophylle im Eigelb erfolgt, müssen die Ursachen für eine offensichtlich stattfindende Isomerisierung in anderen Bereichen liegen (vgl. Kapitel 2.3.2.1).

Tab. 5-8: Vergleich der relativen Veränderungen der jeweiligen Gehalte an Z-Isomeren nach Sprüh- und Gefriertrocknung von Eigelb der Chargen 1 und 2 [%]

	Sprühtrocknung (obere Werte)/Gefriertrocknung (untere Werte)			
	Charge 1	Charge 2	Charge 1	Charge 2
Xanthophyll	aus <u>nicht</u> pasteurisiertem Eigelb	aus <u>nicht</u> pasteurisiertem Eigelb	aus pasteurisiertem Eigelb	aus pasteurisiertem Eigelb
13-Z-Lutein	+ 147 % + 117 %	+ 188 % + 358 %	+ 178 % + 142 %	+ 275 % + 562 %
13-Z-Zeaxanthin	+ 35 % + 33 %	+ 29 % + 17 %	+ 37 % + 30 %	+ 30 % + 6 %
9-Z-Canthaxanthin	+ 7 % + 6 %	± 0 % + 26 %	+ 15 % + 10 %	+ 8 % + 19 %
Z-Isomer Canthaxanthin	+ 1 % - 3 %	- 1 % - 7 %	+ 1 % - 10 %	- 15 % - 14 %

Einfluss von Licht:

Das Bestücken des Gefriertrockners kann nicht im Dunklen erfolgen, eine mehrminütige Einwirkung von Licht auf das vorgefrorene Flüssigeigelb kann nicht vermieden werden.

Einfluss von Sauerstoff:

Während des 2-stündigen Vorfrierens des Flüssigeigelbes, aber auch beim mehrminütigen Bestücken des Gefriertrockners, ist das Trocknungsgut der Umgebungsluft ausgesetzt.

Einfluss von Metallionen: Frisches Eigelb enthält nach Daten des Bundeslebensmittelschlüssels (BLS) in der Version II.3 bereits 7,2 mg Eisen pro 100 g, wovon jedoch 95 % an Phosvitin gebunden vorliegen [HUOPALAHTI 2007]. Da das Dotterprotein Phosvitin zudem in der Lage ist, neben Fe^{2+} eine Vielzahl von reaktiven Metallionen (Mn^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+}) zu chelieren [HUOPALAHTI 2007], werden ihm antioxidative Eigenschaften zugeschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit können in frischem Eigelb etwa 2,5 mg bis 3,3 mg Xanthophylle (mehrheitlich *all-E*-Xanthophylle) pro 100 g nachgewiesen werden (vgl. Kapitel 4.2.3). Laut LI kann

bereits ab einem Masseverhältnis von Fe(II) zu *all-E*-Xanthophyll in Höhe von 4:1 unter Ausschluss von Sauerstoff eine signifikante Umbildung zu *Z*-Isomeren beobachtet werden, bei Verhältnissen von 32:1 und 64:1 steigen die Gehalte an *Z*-Isomeren um teilweise über 200 % [Li 2008]. Da im Zuge der Gefriertrocknung von Eigelb, aufgrund des fortschreitenden Wasserverlustes, der relative Gehalt an Eisen und weiterer potenziell als Katalysator der Isomerisierung wirkender Metallionen weiter ansteigt, zudem zur Freisetzung von chelierten Metallionen führende Denaturierungseffekte von bindenden Proteinen im Bereich des Möglichen liegen, sind Einflüsse auf die Bildung von *Z*-Isomeren nicht ausgeschlossen.

Werden die jeweils direkt nach der Sprüh- bzw. Gefriertrocknung desselben Flüssigeigelbes ermittelten absoluten Gesamt-xanthophyllgehalte miteinander verglichen, kann generell eine höhere Retention der Xanthophylle nach der Gefriertrocknung konstatiert werden (vgl. Tabellen 4-6 bis 4-13). In diesem Zusammenhang müssen jedoch die jeweils am Ende der Trocknung determinierten unterschiedlichen Trockenmassen, aufgrund des möglichen Einflusses auf das Denaturierungsverhalten von (Lipo-)Proteinen (siehe Kapitel 5.2.5 und 5.2.6), genannt werden, die einen direkten Vergleich der nach Sprüh- und Gefriertrocknung ermittelten Xanthophyllgehalte erschweren.

5.2.7 Entwicklung der Xanthophyllgehalte während 6-monatiger Lagerung von sprühgetrocknetem Eigelb

Aus den in den Abbildungen 4-12 bis 4-20 gezeigten Verläufen, der aus den Eier-Chargen 1 und 2 gemittelten, einzelnen Xanthophyllgehalten bzw. Gesamt-xanthophyllgehalten über einen Lagerungszeitraum von 6 Monaten bei -18 °C und +20 °C im Dunklen, kann geschlossen werden, dass mit zunehmender Lagerungsdauer die Konzentrationen kontinuierlich sinken. Während sich die Gehalte von *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, *13-Z*-Lutein, *13-Z*-Zeaxanthin, *all-E*-Canthaxanthin und auch der Gesamt-xanthophylle nach einer kinetischen Gleichung zweiter Ordnung entwickeln, d. h. diese nehmen nach einer exponentiellen (nicht linearen) Zeitfunktion ab und nähern sich asymptotisch einem von Null verschiedenen Gehalt an, verlaufen die Gehalte von *9-Z*-Canthaxanthin, vom nicht exakt determinierbaren *Z*-Isomer von Canthaxanthin und vom β -Apo-8'-Carotinsäureethylester auf den ersten Blick linear, ohne dabei merklich zu sinken. Im Folgenden werden die Verläufe der Gehalte der

einzelnen Xanthophylle und der Gesamt-xanthophylle näher beleuchtet (vgl. Tabellen 4-6 und 4-7 bzw. 4-10 und 4-11 mit Abbildungen 4-12 bis 4-20).

all-E-Lutein

Nach 6 Monaten Lagerung werden, im Vergleich zum relativen Ausgangsgehalt in Höhe von 100 % zum Zeitpunkt Null, Retentionsraten von 42,6 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 39,5 % (-18 °C, pasteurisiert), 34,7 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) und 25,1 % (+20 °C, pasteurisiert) beobachtet. Bei der alleinigen Betrachtung des Gehaltes an *all-E-Lutein* in sprühgetrocknetem Eigelb bietet eine Kühlung Lagerung einen messbaren protektiven Effekt. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien liegen allesamt oberhalb von 0,70, im Fall von sprühgetrocknetem Eigelb aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,90 (siehe Tabelle 4-18).

all-E-Zeaxanthin

Die Retentionsraten für *all-E-Zeaxanthin* bewegen sich nach 6-monatiger Lagerung bei 50,3 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 43,0 % (-18 °C, pasteurisiert), 43,2 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 36,6 % (+20 °C, pasteurisiert) und liegen damit immer wenige Prozentpunkte oberhalb der Retentionsraten von *all-E-Lutein*. Bei alleiniger Betrachtung des Gehaltes an *all-E-Zeaxanthin* in sprühgetrocknetem Eigelb bietet eine Kühlung Lagerung einen messbaren protektiven Effekt, jedoch fällt dieser geringer aus als bei *all-E-Lutein*. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien liegen allesamt oberhalb von 0,87, im Fall von sprühgetrocknetem Eigelb aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,99 (siehe Tabelle 4-18).

13-Z-Lutein

Nach 6-monatiger Lagerung werden Retentionsraten in Höhe von 75,3 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 86,6 % (-18 °C, pasteurisiert), 65,1 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 68,7 % (+20 °C, pasteurisiert) ermittelt. Demnach erweist sich bei alleiniger Betrachtung des Gehaltes an *13-Z-Lutein* in sprühgetrocknetem Eigelb eine Kühlung Lagerung als protektiv. Die Gehalte an *13-Z-Lutein* unterliegen während der Lagerung recht großen Schwankungen (s. Abbildung 4-14). Aus diesem Grund liegen die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien für die Gehalte an *13-Z-Lutein*

generell unter 0,40 und damit auf einem vergleichsweise niedrigen Niveau (siehe Tabelle 4-18).

13-Z-Zeaxanthin

Im Vergleich zu den Gehalten am 13-Z-Isomer von Lutein werden nach 6 Monaten Lagerung für die Gehalte an 13-Z-Zeaxanthin generell niedrigere Retentionsraten ermittelt. Diese liegen bei 47,3 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 45,5 % (-18 °C, pasteurisiert), 36,4 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 38,1 % (+20 °C, pasteurisiert), eine Lagerung bei -18 °C bietet dem nach bzgl. der Xanthophyllgehalte messbare Vorteile. Die Entwicklung der Gehalte unterliegt dabei nicht den Schwankungen, wie sie bei den Gehalten an 13-Z-Lutein festgestellt werden. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien für die Gehalte an 13-Z-Zeaxanthin über den gesamten Lagerungszeitraum liegen daher generell oberhalb von 0,70, im Falle von sprühgetrocknetem Eigelb aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,80 (siehe Tabelle 4-18).

9-Z-Canthaxanthin

Während des Lagerzeitraumes von 6 Monaten weist 9-Z-Canthaxanthin eine hohe Stabilität auf. Die Retentionsraten liegen bei 94,0 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 94,2 % (-18 °C, pasteurisiert), 90,4 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 83,6 % (+20 °C, pasteurisiert), folglich bietet eine Kühlung Lagerung bei Betrachtung der Gehalte an 9-Z-Canthaxanthin in sprühgetrocknetem Eigelb einen, wenn auch geringen, Vorteil. Die Schwankungen im Verlauf der Lagerung sind relativ gering, jedoch liegen die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien beim Anlegen einer exponentiellen Zeitfunktion, aufgrund des eher linearen Verlaufes, allesamt deutlich unterhalb von 0,30. Einen Ausreißer stellt dabei der 9-Z-Canthaxanthingehalt in sprühgetrocknetem Eigelb aus zuvor pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von +20 °C dar, bei diesem wird ein Bestimmtheitsmaß der Trendlinie beim Anlegen einer exponentiellen Zeitfunktion von ca. 0,85 ermittelt (siehe Tabelle 4-18).

all-E-Canthaxanthin

Bei Betrachtung der Gehalte an all-E-Canthaxanthin in sprühgetrocknetem Eigelb kann kein protektiver Effekt der Kühlung Lagerung beobachtet werden. Die Retentionsraten liegen nach 6 Monaten bei 88,2 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 80,3 % (-18 °C, pasteurisiert), 87,8 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 81,8 %

(+20 °C, pasteurisiert). Die Ermittlung der Bestimmtheitsmaße der Trendlinien ergibt Werte oberhalb von 0,55, im Falle der Trendlinie von *all-E*-Canthaxanthin in sprühgetrocknetem Eigelb aus zuvor pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von +20 °C sogar oberhalb von 0,78. Eine Ausnahme bildet das Bestimmtheitsmaß der Trendlinie von *all-E*-Canthaxanthin in sprühgetrocknetem Eigelb aus zuvor nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C, welches aufgrund der vergleichsweise großen Schwankungen der Gehalte im Verlaufe der Lagerung nur bei ca. 0,42 liegt (siehe Tabelle 4-18).

Z-Isomer Canthaxanthin

Einen bemerkenswerten Verlauf nehmen die Gehalte am nicht exakt bestimmbareren Z-Isomer von Canthaxanthin in sprühgetrocknetem Eigelb während 6-monatiger Lagerung im Dunklen, da diese tendenziell gegen den Trend leicht zunehmen. So liegen die Retentionsraten nach 6 Monaten bei 106,1 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 97,1 % (-18 °C, pasteurisiert), 112,3 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 115,8 % (+20 °C, pasteurisiert). Die Lagerung bei +20 °C führt nachvollziehbar zu noch etwas höheren Gehalten an dieser Substanz, was einen Hinweis auf fortlaufende Oxidations- bzw. Isomerisierungsvorgänge darstellt. Bereits 1988 schließt MAYNE nach der Beobachtung, dass während 2-monatiger Gefrierlagerung von in Methanol gelösten Canthaxanthinkristallen der Anteil an Z-Isomeren von ursprünglich 7 % auf 16 % steigt, auf einen fortlaufenden Isomerisierungsprozess bis zu einem *all-E/Z*-Gleichgewichtslevel (Equilibrium), in dem 40 % bis 60 % von Canthaxanthin als Z-Isomere vorliegen [MAYNE 1988]. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien ergeben beim Anlegen einer exponentiellen Zeitfunktion, aufgrund des eher linearen Verlaufes, tendenziell Werte von ca. 0,10 und darunter. Nicht konform damit ist der Gehalt in sprühgetrocknetem Eigelb aus zuvor nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von +20 °C, bei welchem ein Bestimmtheitsmaß der Trendlinie von etwa 0,47 ermittelt wird (siehe Tabelle 4-18).

β -Apo-8'-Carotinsäureethylester

Die Gehalte an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester sinken während 6-monatiger Lagerung im Dunklen vergleichsweise gering, wobei ein protektiver Einfluss der Kühlung auf die Retention nachgewiesen werden kann. Die ermittelten Retentionsraten liegen nach diesem Zeitraum bei 97,2 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 80,9 % (-18 °C, pasteurisiert), 89,3 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 75,4 %

(+20 °C, pasteurisiert). Wie bei den Gehalten an *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, *all-E*-Canthaxanthin und zum Teil auch den Gehalten an *13-Z*-Lutein, *13-Z*-Zeaxanthin, *9-Z*-Canthaxanthin und am nicht exakt bestimmbareren *Z*-Isomer von Canthaxanthin, scheint sich auch bei Betrachtung der Gehalte an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in sprühgetrocknetem Eigelb eine zuvor erfolgte Pasteurisation negativ auf die Retention auszuwirken. Die Bestimmtheitsmaße der beiden Trendlinien für die Gehalte in den sprühgetrockneten Eigelben liegen bei zuvor nicht erfolgter Pasteurisation, aufgrund der Schwankungen während des Lagerungszeitraumes, unterhalb eines Wertes von 0,10. Die Bestimmtheitsmaße der beiden Trendlinien für die Gehalte der zuvor pasteurisierten Proben liegen hingegen oberhalb von 0,59 (siehe Tabelle 4-18).

Gesamt-xanthophylle

Aufgrund der relativen hohen Stabilität von β -Apo-8'-Carotinsäureethylester und vor allem des quantitativ dominierenden Xanthophylls *all-E*-Canthaxanthin halten sich die Verluste bei Betrachtung des Gesamt-xanthophyllgehaltes in sprühgetrocknetem Eigelb während 6-monatiger Lagerung in Grenzen. Nach 6 Monaten werden Retentionsraten von 71,2 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 65,0 % (-18 °C, pasteurisiert), 63,0 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 59,0 % (+20 °C, pasteurisiert) ermittelt. Die Lagerung bei -18 °C bringt, im Vergleich zur Lagerung bei +20 °C, bezüglich der Retention der Xanthophylle einen geringen Vorteil mit sich. Eine vorherige Pasteurisation der Flüssigeigelbe bewirkt dabei eine um wenige Prozentpunkte niedrigere Retention. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien liegen allesamt oberhalb von 0,75, im Falle von sprühgetrocknetem Eigelb aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,90 (siehe Tabelle 4-18).

5.2.8 Entwicklung der Xanthophyllgehalte während 6-monatiger Lagerung von gefriergetrocknetem Eigelb

Die in den Abbildungen 4-21 bis 4-29 gezeigten Verläufe, der aus den Eier-Chargen 1 und 2 gemittelten, einzelnen Xanthophyllgehalte bzw. Gesamt-xanthophyllgehalte über einen Lagerungszeitraum von 6 Monaten bei -18 °C und +20 °C im Dunklen, lassen den Schluss zu, dass mit fortschreitender Lagerungsdauer die Konzentrationen kontinuierlich sinken. Während sich auch im Falle der gefriergetrockneten Proben und wie bereits in Kapitel 5.2.7 beschrieben, die Gehalte von *all-E*-Lutein, *all-*

E-Zeaxanthin, *13-Z*-Lutein, *13-Z*-Zeaxanthin, *all-E*-Canthaxanthin und der Gesamt-xanthophylle nach einer kinetischen Gleichung zweiter Ordnung entwickeln, trifft dies im vorliegenden Fall auch auf die Gehalte an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester zu. Ebenso wie bei den sprühgetrockneten Proben entwickeln sich die Gehalte an *9-Z*-Canthaxanthin und am nicht exakt bestimmbareren *Z*-Isomer von Canthaxanthin eher linear. Im Anschluss erfolgt eine nähere Betrachtung der Entwicklung der Gehalte der einzelnen Xanthophylle und des Gesamt-xanthophyllgehaltes (vgl. Tabellen 4-8 und 4-9 bzw. 4-12 und 4-13 mit Abbildungen 4-21 bis 4-29).

all-E-Lutein

Nach 6 Monaten Lagerung werden, im Vergleich zum relativen Ausgangsgehalt in Höhe von 100 % zum Zeitpunkt Null, Retentionsraten von 30,8 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 31,7 % (-18 °C, pasteurisiert), 33,1 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) und 35,2 % (+20 °C, pasteurisiert) beobachtet. Bei einer isolierten Betrachtung der *all-E*-Lutein-Konzentration in gefriergetrocknetem Eigelb bietet eine Kühlung keinen messbaren protektiven Effekt. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien zeigen ähnliche Verläufe und liegen allesamt oberhalb von 0,69, im Fall von gefriergetrocknetem Eigelb aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von +20 °C sogar oberhalb von 0,74 (siehe Tabelle 4-19).

all-E-Zeaxanthin

Die Retentionsraten für *all-E*-Zeaxanthin betragen nach 6-monatiger Lagerung bei 38,6 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 40,5 % (-18 °C, pasteurisiert), 38,2 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 41,0 % (+20 °C, pasteurisiert) und liegen damit immer, wie bereits im Falle der sprühgetrockneten Proben beschrieben, wenige Prozentpunkte oberhalb derer von *all-E*-Lutein. Bei alleiniger Betrachtung des Gehaltes an *all-E*-Zeaxanthin in gefriergetrocknetem Eigelb bietet eine Kühlung keinen messbaren protektiven Effekt. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien liegen allesamt oberhalb von 0,85, im Falle von gefriergetrocknetem Eigelb aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,91 (siehe Tabelle 4-19).

13-Z-Lutein

Nach 6-monatiger Lagerung werden Retentionsraten in Höhe von 47,5 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 46,7 % (-18 °C, pasteurisiert), 54,3 % (+20 °C, nicht pasteurisiert)

bzw. 54,5 % (+20 °C, pasteurisiert) ermittelt. Demnach sind bei isolierter Betrachtung von 13-Z-Lutein in gefriergetrocknetem Eigelb keine Unterschiede zwischen einer Lagerung bei -18 °C und +20 °C auszumachen. Die Gehalte an 13-Z-Lutein unterliegen geringen Schwankungen während der Lagerung (s. Abbildung 4-23). Aus diesem Grund errechnen sich die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien für die Gehalte an 13-Z-Lutein mit etwa 0,50 und damit ergibt sich ein vergleichsweise unbefriedigendes Niveau (siehe Tabelle 4-19).

13-Z-Zeaxanthin

Im Vergleich zu den Gehalten am 13-Z-Isomer von Lutein werden, wie bereits im Fall der sprühgetrockneten Proben beobachtet, nach 6 Monaten Lagerung für 13-Z-Zeaxanthin generell niedrigere Retentionsraten ermittelt. Diese liegen bei 40,5 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 42,5 % (-18 °C, pasteurisiert), 47,5 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 49,9 % (+20 °C, pasteurisiert); eine Lagerung bei +20 °C bietet demnach bzgl. des Gehaltes an 13-Z-Zeaxanthin messbare Vorteile. Die Entwicklung der Gehalte während der Lagerung unterliegt dabei geringeren Schwankungen, wie sie bei 13-Z-Lutein festgestellt werden. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien für 13-Z-Zeaxanthin zeigen über den gesamten Lagerungszeitraum daher generell Werte oberhalb von 0,57, im Fall von gefriergetrocknetem Eigelb aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,68 (siehe Tabelle 4-19).

9-Z-Canthaxanthin

Während des Lagerzeitraumes von 6 Monaten ist für 9-Z-Canthaxanthin eine hohe Stabilität nachzuweisen. Die Retentionsraten betragen 85,4 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 86,5 % (-18 °C, pasteurisiert), 85,8 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 86,2 % (+20 °C, pasteurisiert), folglich bietet eine Kühlung bei Betrachtung der Gehalte an 9-Z-Canthaxanthin in gefriergetrocknetem Eigelbpulver keinen Vorteil. Die Schwankungen im Verlauf der Lagerung sind relativ gering, daher liegen die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien beim Anlegen einer exponentiellen Zeitfunktion tendenziell oberhalb von 0,66 und im Fall von gefriergetrocknetem Eigelb aus zuvor pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,96 (siehe Tabelle 4-19).

all-E-Canthaxanthin

Bei Betrachtung der Gehalte an *all-E*-Canthaxanthin in gefriergetrocknetem Eigelbpulver kann nur ein geringer protektiver Effekt der Kühlung beobachtet werden. Die Retentionsraten liegen nach 6 Monaten bei 78,4 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 80,8 % (-18 °C, pasteurisiert), 75,1 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 76,5 % (+20 °C, pasteurisiert). Die Ermittlung der Bestimmtheitsmaße der Trendlinien ergibt recht einheitliche Werte oberhalb von 0,76, im Falle der Trendlinie von *all-E*-Canthaxanthin in gefriergetrocknetem Eigelb aus zuvor nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und bei einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,88 (siehe Tabelle 4-19).

Z-Isomer Canthaxanthin

Ebenso wie bei den sprühgetrockneten Proben, nehmen die Gehalte am nicht exakt bestimmbareren Z-Isomer von Canthaxanthin in gefriergetrocknetem Eigelb während 6-monatiger Lagerung im Dunklen einen abweichenden Verlauf, da diese teilweise gegen den Trend sogar leicht zunehmen. So liegen die Retentionsraten nach 6 Monaten bei 93,0 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 95,5 % (-18 °C, pasteurisiert), 111,1 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 103,8 % (+20 °C, pasteurisiert). Die Lagerung bei +20 °C führt zu etwas höheren Gehalten an dieser Substanz, was wieder einen Hinweis auf fortlaufende Oxidations- bzw. Isomerisierungsvorgänge darstellt. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien ergeben beim Anlegen einer exponentiellen Zeitfunktion, aufgrund des eher linearen Verlaufes, tendenziell Werte von ca. 0,30 und darunter (siehe Tabelle 4-19).

β -Apo-8'-Carotinsäureethylester

Die Gehalte an β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in gefriergetrocknetem Eigelb sinken während 6-monatiger Lagerung im Dunklen deutlich stärker als in sprühgetrocknetem Eigelb, wobei ein geringer protektiver Einfluss der Kühlung auf die Retention nachgewiesen werden kann. Die ermittelten Retentionsraten betragen nach diesem Zeitraum 71,5 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 71,5 % (-18 °C, pasteurisiert), 65,7 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 67,7 % (+20 °C, pasteurisiert). Wie schon für *all-E*-Lutein, *all-E*-Zeaxanthin, 13-Z-Zeaxanthin, 9-Z-Canthaxanthin, *all-E*-Canthaxanthin und zum Teil auch für 13-Z-Lutein und dem nicht exakt bestimmbareren Z-Isomer von Canthaxanthin dargestellt, scheint sich auch bei β -Apo-8'-Carotinsäureethylester in gefriergetrocknetem Eigelb eine zuvor erfolgte Pasteurisation positiv auf die

Retention auszuwirken. Die Bestimmtheitsmaße der beiden Trendlinien für die Gehalte in den nicht pasteurisierten gefriergetrockneten Proben liegen oberhalb eines Wertes von 0,71. Die Bestimmtheitsmaße der beiden Trendlinien für die Gehalte der zuvor pasteurisierten Proben liegen hingegen nur bei etwa 0,59 (siehe Tabelle 4-19).

Gesamt-xanthophylle

Die relativ hohe Stabilität des quantitativ dominierenden Xanthophylls *all-E*-Canthaxanthin trägt wesentlich dazu bei, dass die Verluste im Blick auf den Gesamt-xanthophyllgehalt in gefriergetrocknetem Eigelb während 6-monatiger Lagerung begrenzt werden. Nach 6 Monaten werden Retentionsraten von 58,7 % (-18 °C, nicht pasteurisiert), 60,6 % (-18 °C, pasteurisiert), 58,4 % (+20 °C, nicht pasteurisiert) bzw. 60,2 % (+20 °C, pasteurisiert) ermittelt. Die Lagerung bei -18 °C bringt, im Vergleich zur Lagerung bei +20 °C, bzgl. der Retention der Xanthophylle keinen Vorteil mit sich. Eine vorherige Pasteurisation des Flüssigeigelbes bewirkt dabei eine um wenige Prozentpunkte höhere Wiederfindung. Die Bestimmtheitsmaße der Trendlinien liegen allesamt oberhalb von 0,79, bei gefriergetrocknetem Eigelb aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und einer Lagertemperatur von -18 °C sogar oberhalb von 0,86 (siehe Tabelle 4-19).

5.2.9 Vergleich der Ergebnisse aus den Lagerungsversuchen von sprüh- und gefriergetrocknetem Eigelb unter Einbezug von Literaturwerten

Bei Betrachtung der mittleren Retentionsraten für die Gesamt-xanthophylle werden, in aus einer gemeinsamen Ausgangsmatrix (vgl. Kapitel 3.4) produziertem, sprühgetrocknetem bzw. gefriergetrocknetem Eigelb, nach einer Lagerungsdauer von 6 Monaten und Lagertemperaturen von -18 °C und +20°C im Dunklen nachfolgende Erkenntnisse gewonnen.

- Die mittleren Retentionsraten der Gesamt-xanthophylle in sprühgetrocknetem Eigelb bewegen sich im Fall der bei -18 °C gelagerten Proben 12,5 Prozentpunkte (nicht pasteurisiert) bzw. 4,4 Prozentpunkte (pasteurisiert) oberhalb der mittleren Retentionsraten der Gesamt-xanthophylle in gefriergetrocknetem Eigelb, unabhängig von einer zuvor (nicht) erfolgten Pasteurisation des Flüssigeigelbes. Dabei muss jedoch auf die geringfügig

unterschiedlichen absoluten Ausgangskonzentrationen in sprüh- und gefriergetrocknetem Eigelb zu Beginn der Lagerung hingewiesen werden (siehe Tabellen 4-6 bis 4-13). Bei isolierter Betrachtung des absoluten Gesamt-xanthophyllgehaltes sind dennoch leicht höhere Werte beim sprühgetrockneten Eigelb der Charge 1 zu beobachten, im Fall der Charge 2 werden dagegen bei den gefriergetrockneten Proben leicht höhere Gehalte ermittelt.

- Im Fall der bei +20 °C gelagerten Proben nehmen die Unterschiede geringere Ausmaße an. In sprühgetrocknetem bzw. gefriergetrocknetem Eigelb werden bei zuvor nicht erfolgter Pasteurisation des Flüssigeigelbes nach 6 Monaten im Mittel 63,0 % bzw. 58,4 % des Ausgangsgehaltes an Gesamt-xanthophyllen wiedergefunden, bei zuvor erfolgter Pasteurisation werden nach 6-monatiger Lagerung mittlere Retentionsraten von 59,0 % (sprühgetrocknet) bzw. 60,2 % (gefriergetrocknet) ermittelt. Wird der Fokus auf die absoluten Gehalte gelegt, ergibt sich unter Einbezug der geringfügig variierenden absoluten Ausgangsgehalte (siehe Tabellen 4-6 bis 4-13) der Befund, dass sich bei den Gesamt-xanthophyllen beider Eier-Chargen gegensätzliche Entwicklungen einstellen. Während im Fall von Charge 1 nach 6-monatiger Lagerung geringfügig höhere Gehalte bei den sprühgetrockneten Eigelben determiniert werden, sind es bei Charge 2 die gefriergetrockneten Proben, welche die höheren absoluten Gehalte nach 6 Monaten aufweisen.
- Beim Vergleich der jeweils absoluten Gesamt-xanthophyllgehalte des sprüh- und gefriergetrockneten Eigelbes der Charge 1 und des sprühgetrockneten Eigelbes der Charge 2 bzgl. der Lagertemperatur wird jeweils ein geringfügig protektiver Effekt der Lagerung bei -18 °C festgestellt. Im Gegensatz dazu werden im Fall des gefriergetrockneten Eigelbes der Charge 2 etwas höhere absolute Gehalte bei einer Lagertemperatur von +20 °C ermittelt. Der erwartete deutliche protektive Einfluss einer Lagerung bei -18 °C, gegenüber der Lagerung bei +20 °C, kann demnach nur eingeschränkt bestätigt werden .
- Nach 6-monatiger Lagerung von getrocknetem Eigelb können in den Proben mit zuvor erfolgter Pasteurisation im Fall von Charge 1 geringfügig niedrigere Gesamt-xanthophyllgehalte detektiert werden als in den Proben, bei denen zuvor keine Pasteurisation erfolgte. Bei Betrachtung der Proben aus Charge 2 ergibt sich dazu ein gegensätzlicher Befund. Nach Mittelung dieser Ergebnisse kann

kein signifikanter Einfluss der Pasteurisation auf den späteren Verlauf der Xanthophyllgehalte in getrocknetem Eigelb konstatiert werden.

Wie bereits aus Studien mit Lagerversuchen von SHI und LIN bekannt ist, unterliegen freie Xanthophylle in wässrigen Lösungen, aber auch in Flüssigkeiten ohne nennenswerte Gehalte an Antioxidanzien, einem rapiden und vollständigen Abbau [LIN 2005, SHI 1997]. Während LIN mit zunehmender Temperatur einen verstärkten Abbau von *all-E*-Lutein, sowie *9-Z*-Lutein und *13-Z*-Lutein in Tomatensaft nach einer kinetischen Gleichung nullter Ordnung beobachtet, beschreibt SHI Abbauprozesse von reinem Lutein in wässrigen Lösungen während einer Lagerung bei Temperaturen zwischen -30 °C und $+50\text{ °C}$ nach einer kinetischen Gleichung erster Ordnung. Abbildung 5-1 verdeutlicht schematisch die Unterschiede zwischen den Verläufen von Carotinoidgehalten nach kinetischen Gleichungen nullter, erster und zweiter Ordnung. Während Verläufe nach einer kinetischen Gleichung nullter Ordnung von einer konstanten Zerfallsrate pro Zeiteinheit geprägt sind, verringert sich bei Betrachtung einer kinetischen Gleichung erster Ordnung, wie sie z. B. für Zerfallsprozesse von Radionukliden typisch ist (Halbwertszeit), die Menge an degradiertes Substanz pro Zeiteinheit kontinuierlich bis keine Substanz mehr verfügbar ist. Bei Degradationsprozessen nach einer kinetischen Gleichung zweiter Ordnung verringert sich ebenfalls kontinuierlich die Menge an degradiertes Substanz pro Zeiteinheit, jedoch setzt nach einer gewissen Zeit eine Art Bodenbildung (Asymptote) ein, begünstigt durch stabilisierende Einflüsse, wie z. B. das Vorhandensein von Antioxidanzien.

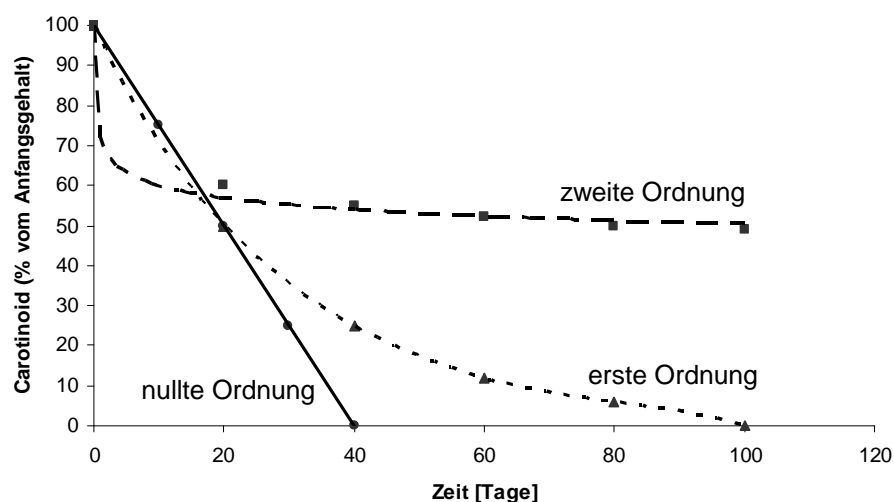


Abb. 5-1: Schematische Darstellung des Abbauprozesses von Carotinoiden während der Lagerung nach Reaktionen nullter, erster und zweiter Ordnung

Dass die Gehalte diverser Xanthophylle in fettreichen Matrices in Verbindung mit natürlichen oder synthetischen Antioxidanzien oftmals einen Verlauf nach kinetischen Gleichungen zweiter Ordnung folgen, ist aus den Studien von PÉREZ-GÁLVEZ, SHEEHAN und LAI bekannt [PÉREZ-GÁLVEZ 2000, SHEEHAN 1998, LAI 1996]. Während PÉREZ-GÁLVEZ mit steigendem Gehalt an zugesetzten gesättigten Fettsäuren eine erhöhte Stabilität von Carotinoiden in Pulvern von Paprika (*Capsicum annuum*) beobachtet, beschreibt SHEEHAN eine sehr hohe Lagerstabilität von Canthaxanthin und insb. Astaxanthin während Gefrierlagerung von Atlantischem Lachs (*Salmo salar*) über mehrere Monate. LAI berichtet von Verlusten im Bereich von 22 % bis 39 % im Gesamtgehalt an natürlich vorkommenden Carotinoiden (bzw. im Gesamtgehalt nach dem Hinzufügen von Carotinoiden aus Paprika-Extrakten zu Flüssigvollei) in sprühgetrocknetem Vollei während einer Lagerung über 4 Monate bei +22 °C im Dunklen und hebt in diesem Zusammenhang einen protektiven Einfluss von zuvor dem Flüssigvollei zugesetztem α -Tocopherol hervor.

Wie den Abbildungen 4-12 bis 4-29 entnommen werden kann, folgt die Entwicklung der Xanthophyllgehalte während 6-monatiger Lagerung von sprühgetrocknetem und gefriergetrocknetem Eigelb bei -18 °C und +20 °C im Dunklen in den überwiegenden Fällen kinetischen Gleichungen zweiter Ordnung, gleiches gilt für die entsprechenden Gesamtxanthophyllgehalte. Die wahrscheinlichste Ursache für dieses Verhalten ist der recht hohe Fettanteil in der Matrix Trockeneigelb (vgl. Tabelle 2-1) mit einem Anteil, laut BLS II.3, von 30 % gesättigten Fettsäuren, in Verbindung mit nennenswerten Konzentrationen an Antioxidanzien, wie z. B. Vitamin E und bestimmten Eigelbproteinen [SAKANAKA 2004]. Als weiterer stabilisierender Faktor kommt die intakte Assoziation der Xanthophylle im getrockneten Eigelb an bindende (Lipo-)Proteine in Frage, welche sich hemmend auf eine Degradation auswirken könnte, da die für Oxidations- und Zerfallsprozesse notwendigen Bindungs- und Angriffsstellen im Xanthophyllmolekül durch Bindungen und Wechselwirkungen mit den (Lipo-)Proteinen und darin eingebetteten Substanzen (z. B. Antioxidanzien) weitestgehend geschützt sind. Dies könnte die noch relativ hohen Xanthophyllgehalte, die im Laufe einer mehrmonatigen Lagerung von degradierenden Prozessen offenbar verschont bleiben, und die daraus resultierenden asymptotischen Verläufe erklären (vgl. Abbildungen 4-12 bis 4-29 mit Abbildung 5-1).

5.3 Empfehlungen für spätere Studien

Im Rahmen dieser Arbeit werden die Einflüsse von Pasteurisation, Trocknung und Lagerung auf die Carotinoidgehalte von sprüh- und gefriertrockneten Eigelbpulvern, die mit Equipment im Technikumsmaßstab erzeugt werden, umfassend und systematisch betrachtet.

In diesem Zusammenhang sind einige offene Fragen zu nennen, die sich konsequenterweise aus dieser Studie ergeben.

Eine Begleitung der HPLC-Analysen der Eigelbproben auf allen Verarbeitungs- und Lagerungsstufen mit mikrobiologischen Tests erscheint wünschenswert, um neben Betrachtungen der Stabilität der Farbstoffe Aussagen zur mikrobiologischen Stabilität zu gewinnen (Produktsicherheit). Zudem bietet sich der begleitende Einsatz von Farbmessgeräten, die nach dem CIELab-System arbeiten, zur näheren Beschreibung von Farbveränderungen, vor allem während der Lagerversuche, an.

Ebenso erscheint es sinnvoll, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen auf Proben aus großtechnischen Anlagen der Eiproduktenindustrie auszuweiten, damit der Aspekt der Praxisnähe noch verbessert werden kann. In diesem Zusammenhang sind auch Lagerversuche unter Umgebungsluft denkbar. Darüber hinaus sind auch Lagertests bei verschiedenen Temperaturen unter reiner O₂-Atmosphäre möglich (Provokationsversuch), um den Einfluss von Sauerstoff auf Oxidations- und Isomerisierungsprozesse von Xanthophyllen näher zu betrachten.

Da in der Lebensmittelindustrie Eier und Eiprodukte vor allem wegen ihrer technofunktionellen Eigenschaften eingesetzt werden, erscheint es sehr interessant, in einer zukünftigen Studie die in der Literatur beschriebenen, optimierten Trocknungsparameter zur Erhaltung der Technofunktionalität [JAEKEL 2008, FRANKE 2002] auf eine Eignung zur Bewahrung der farblichen und Nährstoff-Stabilität hin zu untersuchen. Für ausgewählte Bereiche der Lebensmittelindustrie, in denen der farbgebende Aspekt von Eiprodukten Vorrang hat, könnte zudem eine verfahrenstechnische Optimierung der Trocknungsverfahren bezüglich der Schonung der Carotinoide erfolgen.

Eine im Rahmen der vorliegenden Studie nicht angesprochene Fragestellung ist die Identifikation und Quantifikation von Abbauprodukten der Carotinoide, welche zweifellos durch das Einwirken von Temperatur und Zeit entstehen. Aufgrund der Vielzahl an Carotinoiden, die bei der Fütterung von Legehennen zulässig sind, erscheint zunächst eine Betrachtung des komplexen Isomerisierungs-, Oxidations-

und Degradationsverhaltens eines jeden Carotinoids in Reinform mittels LCMS und Kernspinresonanz (Strukturaufklärung) sinnvoll. Erst nach dem Vorliegen dieser Erkenntnisse erscheint eine Untersuchung von Abbauprodukten ausgewählter Carotinoidmischungen, wie sie beispielsweise im Eigelb vorliegen, sinnvoll. Laut Studien von PÉREZ-GÁLVEZ, NONIER und WALSH ist bei Abbauprozessen von Carotinoiden mit einer sehr großen Anzahl an verschiedenen Verbindungen zu rechnen [PÉREZ-GÁLVEZ 2005, NONIER 2004, WALSH 1998]. Dazu zählen neben den klassischen Abbauprodukten Toluol, Xylen und Dimethylcyclodecapentaen auch verschiedenste Epoxide, aliphatische Kohlenwasserstoffe unterschiedlicher Kettenlänge, aromatische Substanzen auf Basis von Naphthalin und durch enzymatische Einwirkung entstandene Norisoprenoide, wie z. B. α - und β -Ionon.

Des Weiteren könnte durch gezielte Fraktionierung und Aufkonzentrierung möglicherweise eine eindeutige Charakterisierung der im Zuge der vorliegenden Arbeit nicht identifizierten (Minor-)Komponenten erfolgen. Interessant erscheint auch die Fragestellung, in welchem Umfang die Gehalte an Antioxidanzien im Eigelb, z. B. Vitamin E, tatsächlich einen protektiven Einfluss auf die Carotinoide aufweisen. Dazu erforderliche Untersuchungen könnten auf HPLC-Methoden aufbauen, mit denen eine simultane Detektion von Carotinoiden und Vitamin E möglich ist [ZHAO 2004].

Von besonderem Interesse wäre eine, alle für die Legehennenfütterung zulässigen Xanthophylle umfassende, Grundlagenstudie zur Untersuchung ihres Vorliegens (frei bzw. verestert) im Eigelb. Diese Erkenntnisse könnten auch wesentlich zur Klärung der Fragestellung beitragen, inwieweit die im Zuge der Trocknung stark variierenden Änderungen in den Gehalten der jeweiligen Carotinoide auch auf die Art der Bindung im Eigelb zurückzuführen sind.

6 Zusammenfassung

Die Bundesrepublik Deutschland gilt bei weltweiter Betrachtung als zweitgrößter Exporteur von Trockeneigelb [vTI 2008], welches von der Lebensmittelindustrie, z. B. bei der Produktion von Backwaren, Nudeln und Mayonnaise, nach teilweise mehrmonatiger Lagerung eingesetzt wird.

Im Fokus der wissenschaftlichen Betrachtung des Einflusses einer Trocknung auf die Eigenschaften von Eigelb stehen bislang physikalische und technofunktionelle Untersuchungen, welche sich beispielsweise mit dem Aufschlagverhalten und der Emulgierfähigkeit befassen. Die systematische Untersuchung des Einflusses der Pasteurisation von Flüssigeigelb und anschließender Sprüh- und Gefriertrocknung von Flüssigeigelb und der Lagerung der resultierenden Eigelbpulver bei unterschiedlichen Temperaturen auf die Gehalte an Xanthophyllen ist bislang in der Literatur nicht beschrieben. Die Xanthophylle, insb. Lutein und Zeaxanthin, sind aufgrund ihrer antioxidativen Eigenschaften als potente Substanzen in der Prävention vor AMD im Gespräch, darüber hinaus werden ihre farbgebenden Eigenschaften auch von der Lebensmittelindustrie genutzt.

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgt eine industrienaher Simulation der Prozessschritte Pasteurisation von Flüssigeigelb von Eiern aus Bodenhaltung, Sprüh- und Gefriertrocknung von pasteurisiertem und nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb und Lagerung der sprüh- und gefriergetrockneten Eigelbpulver im Dunklen unter Stickstoff-Atmosphäre bei Lagertemperaturen von -18 °C und $+20\text{ °C}$.

Zur qualitativen und quantitativen Beschreibung der Xanthophylle auf allen Verarbeitungsstufen wird eine HPLC-Anlage mit Kopplung an ein Massenspektrometer genutzt, die statistische Betrachtung der jeweils ermittelten Xanthophyllgehalte erfolgt mittels einseitiger Varianzanalyse (ANOVA).

Die Pasteurisation von homogenisiertem Flüssigeigelb führt, wie erwartet, aufgrund der vergleichsweise geringen thermischen Belastung zu keiner signifikanten Veränderung der Xanthophyllgehalte. Zudem sind nach erfolgter Pasteurisation von Flüssigeigelb während der Lagerung von daraus gewonnenem Eigelbpulver über 6 Monate keine wesentlichen Veränderungen im Xanthophyllgehalt, im Vergleich zu

den Gehalten von gelagerten Eigelbpulvern aus nicht pasteurisiertem Flüssigeigelb, festzustellen.

Trocknungsbedingt werden erwartungsgemäß vermehrt Xanthophylle aus der Eigelbmatrix freigesetzt, vermutlich einer Degradation von Zellwänden und Denaturierung von Lipoproteinen geschuldet, an welche die Xanthophylle im Eigelb maßgeblich assoziiert vorliegen [TERNES 1995]. Ebenso werden in den Trockeneigelben signifikant höhere Gehalte an Z-Isomeren von Xanthophyllen detektiert, angegeben in μg pro 100 g entsprechendem Frischeigelb, als in den nativen Proben. In diesem Zusammenhang erfolgt eine Darstellung der möglichen Ursachen für diese Beobachtung.

Bei Betrachtung des kompletten Lagerungszeitraumes bzgl. der Stabilität von Xanthophyllen erweist sich die Gefriertrocknung von Eigelb, im Vergleich zur Sprühtrocknung von Eigelb, entgegen der Erwartung nicht als vorteilhafter, da in den sprüh- und gefriergetrockneten Proben einer gemeinsamen Ausgangsmatrix nach 6 Monaten ähnliche Xanthophyllgehalte determiniert werden.

Wie erwartet, sinken die Xanthophyllgehalte während der 6-monatigen Lagerung oftmals signifikant und folgen dabei kinetischen Gleichungen zweiter Ordnung. Dabei erweisen sich die synthetischen Xanthophylle Canthaxanthin und β -Apo-8'-Carotinsäureethylester deutlich stabiler als die natürlichen Xanthophylle Lutein und Zeaxanthin. Dabei kann kein genereller protektiver Einfluss der Gefrierlagerung, im Vergleich zur Lagerung bei Raumtemperatur, auf den Erhalt an Xanthophyllen festgestellt werden. Zwar weist sprühgetrocknetes Eigelb beider Eier-Chargen bei Lagertemperaturen von $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ tendenziell höhere Gehalte auf als bei $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagertes, im Falle des gefriergetrockneten Eigelbes werden jedoch bei Betrachtung beider Eier-Chargen gegensätzliche Entwicklungen beobachtet. Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie, hängt die Erhaltung der Gesamtxanthophyllkonzentration während 6-monatiger Lagerung im Dunklen maßgeblich von dem Gehalt an natürlichen und synthetischen Pigmenten ab und weniger von der Lagertemperatur. Ebenso erscheint ein protektiver Einfluss von Antioxidanzien im Eigelb, z. B. Vitamin E und bestimmten Eigelbproteinen, sehr wahrscheinlich.

Zudem kann das Wissen über die Entwicklung der Xanthophyllgehalte in Eigelbpulvern auf allen Stufen der Lagerung dabei helfen, in der Humanernährung die Aufnahme von Xanthophyllen aus Lebensmitteln, die teilweise oder komplett aus verarbeitetem Eigelb hergestellt werden, einzuschätzen.

7 Literatur

- [ABDEL-AAL 2007] Abdel-Aal E-S M, Young J C, Rabalski I, Hucl P, Fregeau-Reid J: Identification and Quantification of Seed Carotenoids in Selected Wheat Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (2007):787-794.
- [AMAN 2005] Aman R, Schieber A, Carle R: Effects of Heating and Illumination on *Trans-Cis* Isomerization and Degradation of β -Carotene and Lutein in Isolated Spinach Chloroplasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (2005):9512-9518.
- [AMIALI 2007] Amiali M, Ngadi M O, Smith J P, Raghavan G S V: Synergistic effect of temperature and pulsed electric field on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* in liquid egg yolk. *Journal of Food Engineering* 79 (2007):689-694.
- [ANANTH 1998] Ananth V, Dickson J S, Olson D G, Murano E A: Shelf life extension, safety, and quality of fresh pork loin treated with high hydrostatic pressure. *Journal of Food Protection* 61 (1998):1649-1656.
- [ARDEN 1991] Arden G B, Barker F M: Canthaxanthin and the eye: a critical ocular toxicologic assessment. *Cutaneous and Ocular Toxicology* 10 (1991):115-155.
- [AUGUSTIN 2009] Augustin A J, Kirchhof J: Inflammation and the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 13 (2009):641-651.
- [AYADI 2008] Ayadi M A, Khemakhem M, Belgith H, Attia H: Effect of moderate spray drying conditions on functionality of dried egg white and whole egg. *Journal of Food Science E: Food Engineering and Physical Properties* 73 (2008):E281-E287.
- [BALOCH 1977] Baloch A K, Buckle K A, Edwards R A: Effect of processing variables on the quality of dehydrated carrot. *Journal of Food Technology* 12 (1977):285-293.
- [BELITZ 2004] Belitz H D, Grosch W, Schieberle P: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 3. Auflage. Berlin, Heidelberg, Springer:2004.
- [BERNSTEIN 2001] Bernstein P S, Khachik F, Carvalho L S, Muir G J, Zhao D-Y, Katz N B: Identification and Quantitation of Carotenoids and their Metabolites in the Tissues of the Human Eye. *Experimental Eye Research* 72 (2001):215-223.
- [BLANCH 2000] Blanch A: Use of red carotenoids for yolk pigmentation. *International Poultry Production* 8 (2000):25-29.
- [BÖHM 1998] Böhm F, Edge R, Lange L, Truscott T G: Enhanced protection of human cells against ultraviolet light by antioxidant combinations involving dietary carotenoids. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 44 (1998):211-215.
- [BRACKETT 1992] Brackett R E, Beuchat L R: Survival of *Listeria monocytogenes* on the surface of egg shells and during frying of whole and scrambled eggs. *Journal of Food Protection* 55 (1992):862-865.
- [BRITTON 1995] Britton G: Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal* 9 (1995):1551-1558.
- [BUCHNER 1999] Buchner N: *Verpackung von Lebensmitteln – Lebensmitteltechnologische, verpackungstechnische und mikrobiologische Grundlagen*. 1. Auflage. Berlin, Heidelberg, Springer:1999.
- [BUDZIKIEWICZ 2005] Budzikiewicz H, Schäfer M: *Massenspektrometrie*. 5. Auflage. Weinheim, WILEY-VCH:2005.
- [BUSTAMANTE-RANGEL 2007] Bustamante-Rangel M, Delgado-Zamarreño M M, Sánchez-Pérez A, Carabias-Martínez R: Determination of tocopherols and tocotrienols in cereals by pressurized liquid extraction-liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 587 (2007):216-221.
- [CABEZA 2005] Cabeza M C, García M L, de la Hoz L, Cambero I, Ordóñez J A: Destruction of *Salmonella* Senftenberg on the Shells of Intact Eggs by Thermoultrasonication. *Journal of Food Protection* 68 (2005):841-844.
- [CALDERÓN-MIRANDA 1999] Calderón-Miranda M L, Barbosa-Cánovas G V, Swanson B G: Inactivation of *Listeria innocua* in liquid whole egg by pulsed electric fields and nisin. *International Journal of Food Microbiology* 51 (1999):7-17.
- [CARPENTIER 2009] Carpentier S, Knaus M, Suh M: Associations between lutein, zeaxanthin, and age-related macular degeneration: an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49 (2009):313-326.

- [CHANG 2007] Chang C-H, Liu Y-C: Study on Lycopene and Antioxidant Contents Variations in Tomatoes under Air-Drying Process. *Journal of Food Science E: Food Engineering and Physical Properties* 72 (2007):E532-E540.
- [CHEN 2007] Chen J P, Tai C Y, Chen B H: Effects of different drying treatments on the stability of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry* 100 (2007):1005-1010.
- [CLARK 2006] Clark J P: Pulsed Electric Field Processing. *Food Technology* 60 (2006):66-67.
- [COUFAL 2003] Coufal C D, Chavez C, Knape K D, Carey J B: Evaluation of a Method of Ultraviolet Light Sanitation of Broiler Hatching Eggs. *Poultry Science* 82 (2003):754-759.
- [CORTÉS 2004] Cortés C, Esteve M J, Frígola A, Torregrosa F: Identification and Quantification of Carotenoids Including Geometrical Isomers in Fruit and Vegetable Juices by Liquid Chromatography with Ultraviolet-Diode Array Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (2004):2203-2212.
- [CRAFT 1993] Craft N E, Wise S A: Individual Carotenoid Content of SRM 1548 Total Diet and Influence of Storage Temperature, Lyophilization, and Irradiation on Dietary Carotenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41 (1993):208-213.
- [DACHTLER 1998] Dachtler M, Kohler K, Albert K: Reversed-phase high-performance liquid chromatographic identification of lutein and zeaxanthin stereoisomers in bovine retina using a C₃₀ bonded phase. *Journal of Chromatography B* 720 (1998):211-216.
- [DAOOD 2006] Daood H G, Kapitány J, Biacs P, Albrecht K: Drying temperature, endogenous antioxidants and capsaicinoids affect carotenoid stability in paprika (red pepper spice). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86 (2006):2450-2457.
- [DEHNE 2000] Dehne L I, Pfister M, Bögl K W: Neuere physikalische Verfahren zur Haltbarmachung von Lebensmitteln. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 43 (2000):33-40.
- [DELGADO-VARGAS 1998] Delgado-Vargas F, Paredes-López O, Avila-González E: Effects of Sunlight Illumination of Marigold Flower Meals on Egg Yolk Pigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (1998):698-706.
- [DEWANTO 2002] Dewanto V, Wu X, Adom K K, Liu R H: Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (2002):3010-3014.
- [DUGO 2008] Dugo P, Herrero M, Giuffrida D, Ragonese C, Dugo G, Mondello L: Analysis of native carotenoid composition in orange juice using C30 columns in tandem. *Journal of Separation Science* 31 (2008):2151-2160.
- [DUTREUX 2000] Dutreux N, Notermans S, Wijtzes T, Góngora-Nieto M M, Barbosa-Cánovas G V, Swanson B G: Pulsed electric fields inactivation of attached and free-living *Escherichia coli* and *Listeria innocua* under several conditions. *International Journal of Food Microbiology* 54 (2000):91-98.
- [EBERMANN 2008] Ebermann R, Elmadfa I: *Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung*. 1. Auflage. Wien, New York, Springer:2008.
- [EFSA 2009] European Food Safety Authority: SCIENTIFIC OPINION - Safety of use of colouring agents in animal nutrition - Part III: β -apo-8'-carotenal, ethyl ester of β -apo-8'-carotenoic acid, lutein, zeaxanthin and concluding remarks. *The EFSA Journal* 1098 (2009):1-48.
- [EFSA 2006] European Food Safety Authority: Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the request from the Commission on the safety of use of colouring agents in animal nutrition - PART II. Capsanthin, Citranaxanthin, and Cryptoxanthin. *The EFSA Journal* 386 (2006):1-40.
- [EITENMILLER 2008] Eitenmiller R R, Ye L, Landen, Jr. W O: *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences*. 2. Auflage. Boca Raton, CRC press:2008.
- [EUROPA 2008a] VERORDNUNG (EG) Nr. 775/2008 DER KOMMISSION vom 4. August 2008 zur Festlegung der Rückstandshöchstgehalte für den Futtermittelzusatzstoff Canthaxanthin zusätzlich zu den in der Richtlinie 2003/7/EG enthaltenen Bedingungen.
- [EUROPA 2008b] VERORDNUNG (EG) Nr. 589/2008 DER KOMMISSION vom 23. Juni 2008 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 1234/2007 des Rates hinsichtlich der Vermarktungsnormen für Eier.

- [EUROPA 2007] VERORDNUNG (EG) Nr. 834/2007 DES RATES vom 28. Juni 2007 über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91.
- [EUROPA 2004] Mitteilung 2004/C 50/1 der Kommission vom 25. Februar 2004 im Amtsblatt der Europäischen Union: Verzeichnis der zugelassenen Futtermittel-Zusatzstoffe, veröffentlicht gemäß Artikel 9t Buchstabe b) der Richtlinie 70/524/EWG des Rates über Zusatzstoffe in der Tierernährung.
- [EUROPA 2003a] VERORDNUNG (EG) Nr. 2052/2003 DES RATES vom 17. November 2003 zur Änderung der Verordnung (EWG) Nr. 1907/90 über bestimmte Vermarktungsnormen für Eier.
- [EUROPA 2003b] VERORDNUNG (EG) Nr. 1831/2003 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 22. September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung.
- [EUROPA 2003c] RICHTLINIE 2003/7/EG DER KOMMISSION vom 24. Januar 2003 zur Änderung der Bedingungen für die Zulassung von Canthaxanthin in Futtermitteln gemäß der Richtlinie 70/524/EWG des Rates.
- [EUROPA 2001] VERORDNUNG (EG) Nr. 1651/2001 DER KOMMISSION vom 14. August 2001 zur Änderung der Verordnung (EWG) 1274/91 mit Durchführungsvorschriften für die Verordnung (EWG) Nr. 1907/90 des Rates über bestimmte Vermarktungsnormen für Eier.
- [EUROPA 1999a] RICHTLINIE 1999/74/EG DES RATES vom 19. Juli 1999 zur Festlegung von Mindestanforderungen zum Schutz von Legehennen.
- [EUROPA 1999b] RICHTLINIE 1999/3/EG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 22. Februar 1999 über die Festlegung einer Gemeinschaftsliste von mit ionisierenden Strahlen behandelten Lebensmitteln und Lebensmittelbestandteilen.
- [EUROPA 1999c] RICHTLINIE 1999/2/EG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 22. Februar 1999 zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über mit ionisierenden Strahlen behandelte Lebensmittel und Lebensmittelbestandteile.
- [EUROPA 1997] VERORDNUNG (EG) Nr. 258/97 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 27. Januar 1997 über neuartige Lebensmittel und neuartige Lebensmittelzutaten.
- [EUROPA 1970] RICHTLINIE 70/524/EWG DES RATES vom 23. November 1970 über Zusatzstoffe in der Tierernährung.
- [FDA 2008] The Food and Drug Administration (FDA): Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food. Federal Register 73 (2008):49593-49603.
- [FEHLHABER 1992] Fehlhaber K, Janetschke P: Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene. Jena, Stuttgart, Gustav-Fischer:1992.
- [FRANKE 2002] Franke K, Kießling M: Influence of spray drying conditions on functionality of dried whole egg. Journal of the Science of Food and Agriculture 82 (2002):1837-1841.
- [FRANKE 2000] Franke K: Neue Konservierungsmethoden - Bericht über eine Auswertung der wissenschaftlichen Literatur. Hannover, Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten:2000.
- [FREDE 2006] Frede W: Taschenbuch für Lebensmittelchemiker: Lebensmittel - Bedarfsgegenstände - Kosmetika - Futtermittel. 2. Auflage. Berlin, Heidelberg, Springer:2006.
- [GALANO 2010] Galano A, Vargas R, Martínez A: Carotenoids can act as antioxidants by oxidizing the superoxide radical anion. Physical Chemistry, Chemical Physics 12 (2010):193-200.
- [GAO 1996] Gao G, Wei C C, Jeevarajan A S, Kispert L D: Geometrical Isomerization of Carotenoids Mediated by Cation Radical/Dication Formation. The Journal of Physical Chemistry 100 (1996):5362-5366.
- [GEHRMANN 2009] Gehrman D, Esper G, Schuchmann H: Trocknungstechnik in der Lebensmittelindustrie. 1. Auflage. Hamburg, Behrs:2009.
- [GIOVANNUCCI 2002] Giovannucci E: A review of epidemiologic studies of tomatoes, lycopene, and prostate cancer. Experimental Biology and Medicine 227 (2002):852-859.
- [GLASER 2001] Glaser T: Bioverfügbarkeit von Carotinoiden und deren Metabolisierung in Serum und Retina: Anwendung von HPLC-NMR- und HPLC-APCI-MS-Kopplung. Dissertation an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen 2001.
- [GODTHAAB 2008] Godthaab N: Abwasser-/Abfallverwertung und Energieeffizienz in der Eiproduktenindustrie. Vortrag DLG-Fachtagung 14.-15. April 2008, Leinfelden-Echterdingen (Deutschland).

- [GÓNGORA-NIETO 2003] Góngora-Nieto M M, Pedrow P D, Swanson B G, Barbosa-Cánovas G V: Energy analysis of liquid whole egg pasteurized by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering* 57 (2003):209-216.
- [GOODWIN 1984] Goodwin T W: *The Biochemistry of the Carotenoids*. 2. Auflage. Volume II *Animals*, London, New York, Chapman and Hall:1984.
- [GORALCZYK 2000] Goralczyk R, Barker F M, Buser S, Liechti H, Bausch J: Dose Dependency of Canthaxanthin Crystals in Monkey Retina and Spatial Distribution of its Metabolites. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 41 (2000):1513-1522.
- [GOTTWALD 2000] Gottwald W: *Statistik für Anwender*. 1. Auflage. Weinheim, WILEY-VCH:1999.
- [GRANADO 2001] Granado F, Olmedilla B, Gil-Martinez E, Blanco I: A Fast, Reliable and Low-cost Saponification Protocol for Analysis of Carotenoids in Vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* 14 (2001):479-489.
- [GUERRERO 2006] Guerrero A: Egg white-based bioplastics developed by thermomechanical processing. Vortrag COST923-Tagung 29.-30. Juni 2006, Turku (Finnland).
- [GÜZEL-SEYDIM 2004] Güzel-Seydim Z, Bever P I, Greene A K: Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiology* 21 (2004):475-479.
- [HADDEN 1999] Hadden W L, Watkins R H, Levy L W, Regalado E, Rivadeneira D M, van Breemen R B, Schwartz S J: Carotenoid Composition of Marigold (*Tagetes erecta*) Flower Extract Used as Nutritional Supplement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (1999):4189-4194.
- [HAMMERSHØJ 2004] Hammershøj M, Peters L V, Andersen H J: The significance of critical processing steps in the production of dried egg albumen powder on gel textural and foaming properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84 (2004):1039-1048.
- [HARTMANN 2001] Hartmann C, Wilhelmson M: The hen's egg yolk: a source of biologically active substances. *World's Poultry Science Journal* 57 (2001):13-28.
- [HAYAKAWA 2008] Hayakawa K, Katsumata N, Hirano M, Yoshikawa K, Ogata T, Tanaka T, Nagamine T: Determination of biotin (vitamin H) by the high-performance affinity chromatography with a trypsin-treated avidin-bound column. *Journal of Chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* 869 (2008):93-100.
- [HEINRICH 2003] Heinrich U, Gärtner C, Wiebusch M, Eichler O, Sies H, Tronnier H, Stahl W: Supplementation with β -Carotene or a Similar Amount of Mixed Carotenoids Protects Humans from UV-Induced Erythema. *The Journal of Nutrition* 133 (2003):98-101.
- [HEINZ 2002] Heinz V, Alvarez I, Angersbach A, Knorr D: Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields - basic concepts for process design. *Trends in Food Science & Technology* 12 (2002):103-111.
- [HENDRICKX 2003] Hendrickx M E G, Knorr D: *Ultra High Pressure Treatments of Foods*. 1. Auflage. New York, Kluwer:2003.
- [HIERRO 2009] Hierro E, Manzano S, Ordóñez J A, de la Hoz L, Fernández M: Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by pulsed light technology. *International Journal of Food Microbiology* 135 (2009):125-130.
- [HUMPHRIES 2003] Humphries J M, Khachik F: Distribution of Lutein, Zeaxanthin, and Related Geometrical Isomers in Fruit, Vegetables, Wheat, and Pasta Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2003):1322-1327.
- [HUOPALAHTI 2007] Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R: *Bioactive Egg Compounds*. Berlin, Heidelberg, Springer:2007.
- [INBARAJ 2010] Inbaraj B S, Lu H, Kao T H, Chen B H: Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-ESI-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51 (2010):549-556.
- [JAEKEL 2008] Jaekel T, Dautel K, Ternes W: Preserving functional properties of hen's egg yolk during freeze-drying. *Journal of Food Engineering* 87 (2008):522-526.
- [JEANTET 1999] Jeantet R, Baron F, Nau F, Roignant M, Brulé G: High intensity pulsed electric fields applied to egg white: effect on *Salmonella* Enteritidis inactivation and protein denaturation. *Journal of Food Protection* 62 (1999):1381-1386.
- [JOHNSON 2010] Johnson E J: Age-related macular degeneration and antioxidant vitamins: recent findings. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 13 (2010):28-33.
- [KHACHIK 2002] Khachik F, De Moura F F, Zhao, D-Y, Aebischer C-P, Bernstein P S: Transformations of Selected Carotenoids in Plasma, Liver, and Ocular Tissues of Humans and in Nonprimate Animal Models. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 43 (2002):3383-3392.

- [KHACHIK 1992] Khachik F, Englert G, Daitch C E, Beecher G R, Tonucci L H, Lusby W R: Isolation and structural elucidation of the geometrical isomers of lutein and zeaxanthin in extracts from human plasma. *Journal of Chromatography – Biomedical Applications* 582 (1992):153-166.
- [KIM 2003] Kim J G, Yousef A E, Khadre M A: Ozone and its current and future application in the food industry. *Advances in Food and Nutrition Research* 45 (2003):167-218.
- [KOZEMPEL 1998] Kozempel M F, Annous B A, Cook R D, Scullen O J, Whiting R C: Inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures. *Journal of Food Protection* 61 (1998):582-585.
- [KRINSKY 2003] Krinsky N I, Landrum J T, Bone R A: Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annual Review of Nutrition* 23 (2003):171-201.
- [KROELL 1989] Kroell K, Kast W: *Trocknungstechnik Dritter Band, Trocknen und Trockner in der Produktion*. Heidelberg, Springer:1989.
- [KROMIDAS 2000] Kromidas S: *Handbuch Validierung in der Analytik*. 1. Auflage. Weinheim, WILEY-VCH:2000.
- [LAI 1996] Lai S-M, Gray J I, Partridge J A, Flegal C J: Stability of Cholesterol and Paprika Carotenoids in Egg Powders as Influenced by Dietary and Processing Treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 72 (1996):171-178.
- [LAKINS 2008] Lakins D G, Alvarado C Z, Thompson L D, Brashears M T, Brooks J C, Brashears M M: Reduction of *Salmonella* Enteritidis in Shell Eggs Using Directional Microwave Technology. *Poultry Science* 87 (2008):985-991.
- [LANGE 2007] Lange R: Egg Lecithins. Vortrag Symposium "Egg Nutrition for Health promotion" 18.-21. April 2004, Alberta (Kanada).
- [LARSEN 2005] Larsen E, Christensen L P: Simple Saponification Method for the Quantitative Determination of Carotenoids in Green Vegetable. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (2005):6598-6602.
- [LECHEVALIER 2007] Lechevalier V, Jeantet R, Arhaliass A, Legrand J, Françoise N: Egg white drying: Influence of industrial processing steps on protein structure and functionalities. *Journal of Food Engineering* 83 (2007):404-413.
- [LEE 2003] Lee D U, Heinz V, Knorr D: Effects of combination treatments of nisin and high-intensity ultrasound with high pressure on the microbial inactivation in liquid whole egg. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 4 (2003): 387-393.
- [LEESON 2004] Leeson S, Caston L: Enrichment of Eggs with Lutein. *Poultry Science* 83 (2004):1709-1712.
- [LEL 2009] Landesanstalt für Entwicklung der Landwirtschaft und der Ländlichen Räume: *Agrarmärkte 2008*. 1. Auflage. Stuttgart, Ministerium für Ernährung und Ländlichen Raum:2009.
- [LESSIN 1997] Lessin W J, Catigani G L, Schwartz S J: Quantification of *cis-trans* Isomers of Provitamin A Carotenoids in Fresh and Processed Fruits and Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (1997):3728-3732.
- [LI 2008] Li X-X, Han L-J: Iron(II)-induced isomerization of (*all-E*)-xanthophyll pigments lutein, zeaxanthin, and β cryptoxanthin in acetone. *European Food Research and Technology* 227 (2008):1307-1313.
- [LIAAEN-JENSEN 1997] Liaaen-Jensen S: Stereochemical aspects of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry* 69 (1997):2027-2038.
- [LIAN 2006] Lian F, Hu K-Q, Russell R M, Wang X-D: β -Cryptoxanthin suppresses the growth of immortalized human bronchial epithelial cells and non-small-cell lung cancer cells and up-regulates retinoic acid receptor β expression. *International Journal of Cancer* 119 (2006):2084-2089.
- [LIN 2005] Lin C H, Chen B H: Stability of carotenoids in tomato juice during storage. *Food Chemistry* 90 (2005):837-846.
- [LÓPEZ-FANDIÑO 2006] Lopez-Fandiño R: Egg derived peptides with cardiovascular activity. Vortrag COST923-Tagung 29.-30. Juni 2006, Turku (Finnland).
- [LÓPEZ-PEDEMONTE 2006] López-Pedemonte T, Brinez W J, Roig-Sagués A X, Guamis B: Fate of *Staphylococcus aureus* in Cheese Treated by Ultrahigh Pressure Homogenization and High Hydrostatic Pressure. *Journal of Dairy Science* 89 (2006):4536-4544.
- [MAIANI 2009] Maiani G, Caston M J P, Catasta G, Toti E, Cambrodón I G, Bysted A, Granado-Lorenzo F, Olmedilla-Alonso B, Knuthsen P, Valoti M, Böhm V, Mayer-Miebach E, Behnlian D, Schlemmer U: Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and

- bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition & Food Research* 53 (2009):S194-S218.
- [MAJCHRZAK 1997] Majchrzak D, Elmadfa I: Carotinoid- und Retinolgehalt in Hühnereiern. *Fett/Lipid* 99 (1997):365-368.
- [MAÑAS 2003] Mañas P, Pagán R, Alvarez I, Usón S C: Survival of *Salmonella senftenberg* 775 W to current liquid whole egg pasteurization treatments. *Food Microbiology* 20 (2003):593-600.
- [MARES-PERLMAN 2001] Mares-Perlman J A, Fisher A I, Klein R, Palta M, Block G, Millen A E, Wright J D: Lutein and Zeaxanthin in the Diet and Serum and Their Relation to Age-related Maculopathy in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *American Journal of Epidemiology* 153 (2001):424-432.
- [MARSELLÉS-FONTANET 2009] Marsellés-Fontanet A R, Puig A, Olmos P, Mínguez-Sanz S, Martín-Belloso O: Optimising the inactivation of grape juice spoilage organisms by pulse electric fields. *International Journal of Food Microbiology* 130 (2009):159-165.
- [MASON 1996] Mason J T, Paniwnyk L, Lorimer J P: The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry* 3 (1996):S253-S260.
- [MAYNE 1996] Mayne S T: Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *The FASEB Journal* 10 (1996):690-701.
- [MAYNE 1988] Mayne S T, Parker R S: *cis*-Canthaxanthin and Other Carotenoid-like Compounds in Canthaxanthin Preparations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36(1988):478-482.
- [MEGDAL 2009] Megdal P A, Craft N A, Handelman G J: A Simplified Method to Distinguish Farmed (*Salmo salar*) from Wild Salmon: Fatty Acid Ratios Versus Astaxanthin Chiral Isomers. *Lipids* 44 (2009):569-576.
- [MELÉNDEZ-MARTÍNEZ 2009] Meléndez-Martínez A J, Vicario I M, Heredia F J: Effect of ascorbic acid on deterioration of carotenoids and colour in ultrafrozen orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis* 22 (2009):295-302.
- [MELÉNDEZ-MARTÍNEZ 2003] Meléndez-Martínez A J, Vicario I M, Heredia F J: A Routine High-Performance Liquid Chromatography Method for Carotenoid Determination in Ultrafrozen Orange Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(2003):4219-4224.
- [MIELKE 2008] Mielke K: persönliche Mitteilung vom 25.07.2008. OVOBEST Eiprodukte GmbH & Co. KG, Hörsten 3, 49434 Neuenkirchen-Vörden.
- [MILANOWSKA 2005] Milanowska J, Gruszecki W I: Heat-induced and light-induced isomerization of the xanthophyll pigment zeaxanthin. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 80 (2005):178-186.
- [MIN 2005] Min B R, Nam K C, Lee E J, Ko G Y, Trampel D W, Ahn D U: Effect of Irradiating Shell Eggs on Quality Attributes and Functional Properties of Yolk and White. *Poultry Science* 84 (2005):1791-1796.
- [MORALES 2006] Morales P, Calzada J, Nuñez M: Effect of high-pressure treatment on the survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in sliced vacuum-packaged Iberian and Serrano cured hams. *Journal of Food Protection* 69 (2006):2539-2543.
- [MORTENSEN 2005] Mortensen A: Analysis of a complex mixture of carotenes from oil palm (*Elaeis guineensis*) fruit extract. *Food Research International* 38 (2005):847-853.
- [MOSQUEDA-MELGAR 2008] Mosqueda-Melgar J, Elez-Martínez P, Raybaudi-Massilia R M, Martín-Belloso O: Effects of Pulsed Electric Fields on Pathogenic Microorganisms of Major Concern in Fluid Foods: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48 (2008):747-759.
- [MOULY 1999] Mouly P P, Gaydou E M, Lapierre L, Corsetti J: Differentiation of Several Geographical Origins in Single-Strength Valencia Orange Juices Using Quantitative Comparison of Carotenoid Profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(1999):4038-4045.
- [MUZHINGI 2008] Muzhingi T, Yeum K J, Russell R M, Johnson E J, Qin J, Tang G: Determination of carotenoids in yellow maize, the effects of saponification and food preparations. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 78 (2008):112-120.
- [NA 2004] Na J-C, Song J-Y, Lee B-D, Lee S-J, Lee C-Y, An G-H: Effect of polarity on absorption and accumulation of carotenoids by laying hens. *Animal Feed Science and Technology* 117 (2004):305-315.
- [NARVAIZ 1992] Narvaiz P, Lescano G, Kairiyama E: Physicochemical and sensory analyses on egg powder irradiated to inactivate *Salmonella* and reduce microbial load. *Journal of Food Safety* 12 (1992):263-282.

- [NONIER 2004] Nonier M-F, Vivas De Gaulejac N, Vivas N, Vitry C: Characterization of carotenoids and their degradation products in oak wood. Incidence on the flavour of wood. *Comptes Rendus Chimie* 7 (2004):689-698.
- [ÖKOKENNZV 2005] Öko-Kennzeichenverordnung vom 06.02.2002 (BGBl. I S. 589), geändert am 30.11.2005 (BGBl. I S. 3384).
- [OLLILAINEN 1989] Ollilainen V, Heinonen M, Linkola E, Varo P, Koivistoinen P: Carotenoids and Retinoids in Finnish Foods: Dairy Products and Eggs. *Journal of Dairy Science* 72 (1989):2257-2265.
- [PANFILI 2004] Panfili G, Fratianni A, Irano M: Improved Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography Procedure for the Determination of Carotenoids in Cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (2004):6373-6377.
- [PEREDA 2007] Pereda J, Ferragut V, Quevedo J M, Guamis B, Trujillo A J: Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk. *Journal of Dairy Science* 90 (2007):1081-1093.
- [PÉREZ-GÁLVEZ 2005] Pérez-Gálvez A, Rios J J, Mínguez-Mosquera M I: Thermal Degradation Products Formed from Carotenoids during a Heat-Induced Degradation Process of Paprika Oleoresins (*Capsicum annum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (2005):4820-4826.
- [PÉREZ-GÁLVEZ 2000] Pérez-Gálvez A, Garrido-Fernández J, Mínguez-Mosquera M I: Effect of High-Oleic Sunflower Seed on the Carotenoid Stability of Ground Pepper. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77 (2000):79-83.
- [PERRY 2009] Perry A, Rasmussen H, Johnson E J: Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. *Journal of Food Composition and Analysis* 22 (2009):9-15.
- [PERRY 2008] Perry J J, Rodriguez-Romo L A, Yousef A E: Inactivation of *Salmonella enterica* serovar enteritidis in shell eggs by sequential application of heat and ozone. *Letters in Applied Microbiology* 46 (2008):620-625.
- [PIYASENA 2003] Piyasena P, Mohareb E, McKellar R C: Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology* 87 (2003):207-216.
- [PONCE 1999] Ponce E, Pla R, Sendra E, Guamis B, Mor-Mur M: Destruction of *Salmonella enteritidis* inoculated in liquid whole egg by high hydrostatic pressure: comparative study in selective and non-selective media. *Food Microbiology* 16 (1999):357-365.
- [PONCE 1998] Ponce E, Pla R, Capellas M, Guamis B, Mor-Mur M: Inactivation of *Escherichia coli* inoculated in liquid whole egg by high hydrostatic pressure. *Food Microbiology* 15 (1998):265-272.
- [RAHMAN 2007] Rahman M S: *Handbook of Food Preservation*. 2. Auflage. Boca Raton, CRC press:2007.
- [RASO 2003] Raso J, Barbosa-Cánovas G V: Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43 (2003):265-285.
- [REGIER 2005] Regier M, Mayer-Miebach E, Behnsilian D, Neff E, Schuchmann H P: Influences of drying and storage of lycopenerich carrots on the carotenoid content. *Drying Technology* 23 (2005):989-998.
- [RHONE 2008] Rhone M, Basu A: Phytochemicals and age-related eye diseases. *Nutrition Reviews* 66 (2008):465-472.
- [RODRIGUEZ-ROMO 2005] Rodriguez-Romo L A, Yousef A E: Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by ozone and UV radiation. *Journal of Food Protection* 68 (2005):711-717.
- [RUSSELL 2003] Russell S M: The Effect of Electrolyzed Oxidative Water Applied Using Electrostatic Spraying on Pathogenic and Indicator Bacteria on the Surface of Eggs. *Poultry Science* 82 (2003):158-162.
- [SAKANAKA 2004] Sakanaka S, Tachibana Y, Ishihara N, Juneja L R: Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. *Food Chemistry* 86 (2004):99-103.
- [SANDER 2000] Sander L C, Sharpless K E, Pursch M: C₃₀ Stationary phases for the analysis of food by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 880 (2000):189-202.
- [SANTOS-BOCANEGRA 2004] Santos-Bocanegra E, Ospina-Osorio X, Oviedo-Rondón E O: Evaluation of Xanthophylls Extracted from *Tagetes erectus* (Marigold Flower) and *Capsicum Sp.* (Red

- Pepper Paprika) as a Pigment for Egg-yolks Compare with Synthetic Pigments. International Journal of Poultry Science 3 (2004):685-689.
- [SATTLER 2001] Sattler K: Thermische Trennverfahren: Grundlagen, Auslegung, Apparate. 3. Auflage. Weinheim, WILEY-VCH:2001.
- [SCHIEBER 2005] Schieber A, Carle R: Occurrence of carotenoid *cis*-isomers in food: Technological, analytical, and nutritional implications. Trends in Food Science & Technology 16 (2005):416-422.
- [SCHILLING 2008] Schilling S, Schmid S, Jäger H, Ludwig M, Dietrich H, Toepfl S, Knorr D, Neidhart S, Schieber A, Carle R: Comparative Study of Pulsed Electric Field and Thermal Processing of Apple Juice with Particular Consideration of Juice Quality and Enzyme Deactivation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56 (2008):4545-4554.
- [SCHLATTERER 2006] Schlatterer J, Breithaupt D E: Xanthophylls in Commercial Egg Yolks: Quantification and Identification by HPLC and LC-(APCI)MS Using a C30 Phase. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54 (2006):2267-2273.
- [SCHUCHMANN 2005] Schuchmann H P, Schuchmann H: Lebensmittelverfahrenstechnik - Rohstoffe, Prozesse, Produkte. 1. Auflage. Weinheim, WILEY-VCH:2005.
- [SERRANO 1997] Serrano L E, Murano E A, Shenoy K, Olson D G: D Values of *Salmonella enteritidis* Isolates and Quality Attributes of Shell Eggs and Liquid Whole Eggs Treated with Irradiation. Poultry Science 76 (1997):202-205.
- [SHEEHAN 1998] Sheehan E M, O'Connor T P, Sheehy P J A, Buckley D J, FitzGerald R: Stability of astaxanthin and canthaxanthin in raw and smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. Food Chemistry 63 (1998):313-317.
- [SHEN 2009] Shen Y, Hu Y, Huang K, Yin S, Chen B, Yao S: Solid-phase extraction of carotenoids. Journal of Chromatography A 1216 (2009):5763-5768.
- [SHI 1997] Shi X-M, Chen F: Stability of lutein under various storage conditions. Nahrung 41 (1997):38-41.
- [SIES 2004] Sies H, Stahl W: Nutritional protection against skin damage from sunlight. Annual Review of Nutrition 24 (2004):173-200.
- [SMITH 2009] Smith K, Mendonca A, Jung S: Impact of high-pressure processing on microbial shelf-life and protein stability of refrigerated soymilk. Food Microbiology 26 (2009):794-800.
- [SNODDERLY 1997] Snodderly D M, Shen B, Land R I, Krinsky N I: Dietary Manipulation of Plasma Carotenoid Concentrations of Squirrel Monkeys (*Saimiri sciureus*). The Journal of Nutrition 127 (1997):122-129.
- [SOUCI 2000] Souci SW, Fachmann W, Kraut H: Die Zusammensetzung der Lebensmittel. 6. Auflage. Stuttgart, medpharm Scientific Publishers & Boca Raton, CRC press:2000.
- [STABU 2008] Statistisches Bundesamt (Hrsg.): Pressemitteilung Nr. 110. Publikation auf der Homepage des Statistischen Bundesamtes vom 13.03.2008. http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Presse/pm/2008/03/PD08__110__413,templateId=renderPrint.psml.
- [STABU 2009] Statistisches Bundesamt (Hrsg.): Pressemitteilung Nr. 071. Publikation auf der Homepage des Statistischen Bundesamtes vom 02.03.2009. http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Presse/pm/2009/03/PD09__071__413.psml.
- [STADELMAN 1995] Stadelman J, Cotterill J: Egg Science and Technology. 4. Auflage. Boca Raton, CRC press:1995.
- [STAHL 2005] Stahl W, Sies H: Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. Biochimica et Biophysica Acta 1740 (2005):101-107.
- [STAHL 2002] Stahl W, Ale-Agha N, Polidori M C: Non-antioxidant properties of carotenoids. Biological Chemistry 383 (2002):553-558.
- [STAHL 1997] Stahl W, Nicolai S, Briviba K, Hanusch M, Broszeit G, Peters M, Martin H D, Sies H: Biological activities of natural and synthetic carotenoids: induction of gap junctional communication and singlet oxygen quenching. Carcinogenesis 18 (1997):89-92.
- [SUJAK 2009] Sujak A: Interactions between canthaxanthin and lipid membranes - possible mechanisms of canthaxanthin toxicity. Cellular & Molecular Biology Letters 14 (2009):395-410.
- [SUN 2006] Sun D-W: Thermal Food Processing – New Technologies and Quality Issues. 1. Auflage. Boca Raton, CRC press:2006.

- [SUNGPUAG 1999] Sungpuag P, Tangchitpianvit S, Chittchang U, Wasantwisut E: Retinol and beta carotene content of indigenous raw and home-prepared foods in Northeast Thailand. *Food Chemistry* 64 (1999):163-167.
- [SURAI 2001] Surai P F, Speake B K, Sparks N H C: Carotenoids in Avian Nutrition and Embryonic Development. 1. Absorption, Availability and Levels in Plasma and Egg Yolk. *Journal of Poultry Science* 38 (2001):1-27.
- [SURAI 2000] Surai P F, MacPherson A, Speake B K, Sparks N H C: Designer egg evaluation in a controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition* 54 (2000):298-305.
- [TERNES 2005] Ternes W, Täufel A, Tunger L, Zobel M: *Lebensmittel-Lexikon*. 4. Auflage. Hamburg, Behrs:2005.
- [TERNES 1995] Ternes W, Krämer P, Menzel R, Zeilfelder K: Verteilung von fettlöslichen Vitaminen (A, E, D₂, D₃) und Carotinoiden (Lutein, Zeaxanthin) in den Lipiden von Granula und Plasma des Eigelbes. *Archiv für Geflügelkunde* 5 (1995):261-268.
- [TERNES 1994] Ternes W, Acker L, Scholtyssek S : *Ei und Eiprodukte*. Berlin, Paul Parey:1994.
- [THURNHAM 2007] Thurnham D I: Macular zeaxanthins and lutein - a review of dietary sources and bioavailability and some relationships with macular pigment optical density and age-related macular disease. *Nutrition Research Reviews* 20 (2007):163-179.
- [TIERSCHNUTZTV 2006] Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung vom 01.08.2006 (BGBl. I S. 1804).
- [UNLU 2007] Unlu N Z, Bohn T, Francis D M, Nagaraja H N, Clinton S K, Schwartz S J: Lycopene from heat-induced *cis*-isomer-rich tomato sauce is more bioavailable than from all-*trans*-rich tomato sauce in human subjects. *British Journal of Nutrition* 98 (2007):140-146.
- [UPDIKE 2003] Updike A A, Schwartz S J: Thermal Processing of Vegetables increases *Cis* Isomers of Lutein and Zeaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2003):6184-6190.
- [VAN BREEMEN 1995] van Breemen R B: Electrospray Liquid Chromatography-Mass Spectrometry of Carotenoids. *Analytical Chemistry* 67 (1995):2004-2009.
- [VENUGOPALAN 2009] Venugopalan V, Verma N, Gautam H K, Saradhi P P, Das R H: 9-*cis*-canthaxanthin exhibits higher pro-apoptotic activity than all-*trans*-canthaxanthin isomer in THP-1 macrophage cells. *Free Radical Research* 43 (2009):100-105.
- [VTI 2008] Johann Heinrich von Thünen-Institut: *Landbauforschung Sonderheft 322 - Legehuhnzucht und Eierzeugung*. Braunschweig, Johann Heinrich von Thünen-Institut:2008.
- [VUILLEUMIER 1969] Vuilleumier J P: The „Roche Colour Fan“ – an instrument for measuring yolk colour. *Poultry Science* 48 (1969):767-779.
- [WALSH 1998] Walsh K, Jones G J, Dunstan R H: Effect of high irradiance and iron on volatile odour compounds in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Phytochemistry* 49 (1998):1227-1239.
- [WINDHORST 2003] Windhorst H W: Perspektiven für die Veredelungswirtschaft. *Nutztierpraxis aktuell* 4 (2003):42-49.
- [XIANQUAN 2005] Xianquan S, Shi J, Kakuda Y, Yueming J: Stability of lycopene during food processing and storage. *Journal of Medicinal Food* 8 (2005):413-422.
- [YUE 2006] Yue X, Xu Z, Prinyawiwatkul W, King J M: Improving Extraction of Lutein from Egg Yolk Using an Ultrasound-Assisted Solvent Method. *Journal of Food Science* 71 (2006):C239-C241.
- [ZENKER 2004] Zenker M: *Ultraschall-kombinierte Prozessführung bei der Pasteurisierung und Sterilisierung flüssiger Lebensmittel*. Dissertation an der Technischen Universität Berlin 2004.
- [ZHAO 2006] Zhao L, Zhao G, Chen F, Wang Z, Wu J, Hu X: Different Effects of Microwave and Ultrasound on the Stability of (*all-E*)-Astaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (2006):8346-8351.
- [ZHAO 2005] Zhao L, Chen F, Zhao G, Wang Z, Liao X, Hu X: Isomerization of *trans*-Astaxanthin Induced by Copper(II) Ion in Ethanol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (2005):9620-9623.
- [ZHAO 2004] Zhao B, Tham S-Y, Lu J, Lai M H, Lee L K H, Mochhala S M: Simultaneous determination of vitamins C, E and β -carotene in human plasma by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* 7 (2004):200-204.

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Allen, die zum erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr.-Ing. Elmar Schlich für die spontane Übernahme des Promotionsthemas und die stets reibungslose und intensive Betreuung während der Erstellung der Arbeit und Herrn Prof. Dr. Uwe Wenzel für das Übernehmen des zweiten Gutachtens.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Ingrid Seuß-Baum vom Fachbereich Lebensmitteltechnologie der Hochschule Fulda für die jederzeit fachliche und kritische Auseinandersetzung mit der Thematik und die daraus resultierenden unzähligen fruchtbaren Gespräche.

Herrn PD Dr. Ralf Pätzold und vor allem Herrn Dr. Jochen Kirschbaum für die einwandfreie Einarbeitung in die wissenschaftliche Herangehensweise an Lösungen analytischer Problemstellungen während meiner Diplomarbeit.

Weiterhin den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Fachbereiches Lebensmitteltechnologie der Hochschule Fulda für die stets sehr angenehme Arbeitsatmosphäre. Ausdrücklich erwähnen möchte ich dabei die Promovierenden des Fachbereiches Lebensmitteltechnologie Dipl.-Ing. (FH) Frank Euring, Dipl.-Ing. (FH) Christoph Luckhardt, Dipl.-Ing. (FH) Jens Herrmann und Apothekerin Nicole Müller. Ich danke Euch für die zahllosen fachlichen und auch nicht fachlichen Gespräche, die erzielten kulinaristischen Meilensteine und gemeinsamen unterhaltsamen Aktivitäten.

Darüber hinaus möchte ich mich bei meinen Eltern und auch Großeltern bedanken, die mich während der letzten Jahre jederzeit uneingeschränkt unterstützt haben.

Mein außerordentlicher Dank gilt meiner Freundin Stefanie, die in den vergangenen Jahren immer für mich da war und den besten Rückhalt geboten hat, den man sich nur wünschen kann.