



universität
wien

MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

**Einfluss der Proteinaufnahme auf die Trockenmasse von
Stuhl und Konservierung von Stuhlproben für
molekularbiologische Untersuchungen**

verfasst von / submitted by
Stefanie Reichstam, BSc

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Master of Science (MSc)

Wien, 2020 / Vienna 2020

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

A 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Masterstudium
Ernährungswissenschaften

Betreut von / Supervisor:

Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner

Gender Erklärung

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird in dieser Masterarbeit die Sprachform des generischen Maskulinums angewendet. Es wird an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass die ausschließliche Verwendung der männlichen Form geschlechtsunabhängig verstanden werden soll und Frauen dabei ausdrücklich mitgemeint werden.

Inhaltsverzeichnis

I.	Abbildungsverzeichnis	VII
II.	Tabellenverzeichnis	IX
III.	Abkürzungsverzeichnis	XIII
1.	Einleitung	1
2.	Literaturübersicht	3
2.1.	Protein	3
2.1.1.	Proteinquellen und Aufnahmeempfehlung	3
2.1.2.	Proteinmetabolismus	4
2.1.3.	Proteinverdaulichkeit.....	7
2.1.4.	Proteinwirkung	8
2.2.	Die Darmmikrobiota.....	12
2.3.	Stuhl und Trockenmasse.....	16
2.3.1.	Zusammensetzung von Stuhl	16
2.3.2.	Stickstoff.....	18
2.3.3.	Die Stuhltrockenmasse	19
2.3.4.	Stuhlproben	21
2.4.	Gefriertrocknung.....	23
2.4.1.	Aufbau des Geräts	25
2.4.2.	Methode	26
2.4.3.	Das Gefriertrocknungsprodukt.....	30
2.4.4.	Einsatzgebiete.....	33
2.4.5.	Gefriertrocknung für mikrobiologische Untersuchungen.....	35
2.4.6.	Verluste an Inhaltsstoffen durch die Gefriertrocknung	37
2.5.	Bombenkalorimetrie	39
3.	Material und Methoden.....	40
3.1.	Die „NutriAging“ Studie.....	40
3.1.1.	Studiendesign	40
3.1.2.	Probandenrekrutierung	41
3.2.	Die Gefriertrocknung und Bombenkalorimetrie	43
3.2.1.	Probenmaterial	43
3.2.2.	Probenaufbereitung.....	43
3.3.	Statistische Auswertung	45
4.	Ergebnisse	46

4.1.	Die Probanden.....	46
4.2.	Entwicklung innerhalb der Interventionsgruppen.....	48
4.3.	Entwicklung innerhalb der Alterskategorien	61
4.4.	Einfluss des Messzeitpunkts	72
4.5.	Gruppenunterschiede zu den einzelnen Zeitpunkten	92
5.	Diskussion.....	97
6.	Schlussbetrachtung	101
7.	Zusammenfassung	103
8.	Summary.....	105
9.	Literaturverzeichnis.....	107
10.	Anhang.....	117

I. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Phasendiagramm [Labconco, 2004]	24
Abbildung 2: Gefriertrockner „FreezeZone 2.5“ der Firma Labconco (eigenes Bild) ..	25
Abbildung 3: Kondensatorspule [Labconco, 2004].....	25
Abbildung 4: Aufnahme einer 10% gefriergetrockneten Zuckerlösung mit einem Elektronenmikroskop [Franks, 1998]	32
Abbildung 5: Aufnahme einer 10% gefriergetrockneten Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer Lösung, die gerade dabei ist zu kollabieren [Franks, 1998].....	32
Abbildung 6: Studiendesign	41
Abbildung 7: Schräg eingefrorene Probenröhrchen.....	44
Abbildung 8: Proben im Gefriertrocknungsständer	44
Abbildung 9: Boxplot der Trockenmasse der Interventionsgruppen.....	48
Abbildung 10: Trockenmasse der Interventionsgruppen über die Zeit mit Kennzeichnung der signifikanten Unterschiede in der Kontrollgruppe zwischen den Zeitpunkten.....	51
Abbildung 11: Entwicklung der Proteinaufnahme der Interventionsgruppen über die Zeit mit Kennzeichnung der signifikanten Unterschiede der Interventionsgruppen (*K = Kontrollgruppe; *PI = Protein low Gruppe; *Ph = Protein high Gruppe)	53
Abbildung 12: Entwicklung der Wasseraufnahme der Interventionsgruppen über die Zeit und die signifikanten Unterschiede in den Gruppen (*K = Kontrollgruppe; *Ph = Protein high Gruppe).....	56
Abbildung 13: Entwicklung der Ballaststoffaufnahme der Interventionsgruppen über die Zeit (*Ph = Protein high Gruppe; * = signifikanter Unterschied zu T3 zwischen der Kontrollgruppe und der Protein low Gruppe; ** = signifikanter Unterschied zu T3 zwischen der Kontrollgruppe und der Protein high Gruppe).....	57
Abbildung 14: Entwicklung der Trockenmasse der Alterskategorien über die Zeit (*A1 = Alterskategorie 1; *A2 = Alterskategorie 2)	63
Abbildung 15: Entwicklung der Proteinaufnahme in den Alterskategorien mit Kennzeichnung der signifikanten Unterschiede zwischen den Zeitpunkten (*A1 = Alterskategorie 1; *A2 = Alterskategorie 2; *A3 = Alterskategorie 3).....	66
Abbildung 16: Entwicklung der Trockenmasse der Geschlechter über die Zeit	129
Abbildung 17: Entwicklung der Kohlenhydrataufnahme der Interventionsgruppen über die Zeit.....	130
Abbildung 18: Entwicklung der Energieaufnahme der Interventionsgruppen über die Zeit.....	130
Abbildung 19: Entwicklung des Körpergewichts der Interventionsgruppen über die Zeit	131
Abbildung 20: Entwicklung des Körpergewichts der Alterskategorien über die Zeit ..	131
Abbildung 21: Entwicklung des BMI der Interventionsgruppen über die Zeit	132
Abbildung 22: Entwicklung des BMI der Alterskategorien über die Zeit	132

II. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Beschreibung der Interventionsgruppen zu Studienbeginn T1 (n = 76)	47
Tabelle 2: Beschreibung der Interventionsgruppen mit Personen, die in die Analyse der Ballaststoffaufnahme eingeschlossen wurden, zu Studienbeginn T1 (n = 58)	47
Tabelle 3: Darstellung der Mittelwerte der Stuhltrockenmasse der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3	49
Tabelle 4: Entwicklung der Stuhltrockenmasse innerhalb der Kontrollgruppe (n = 30)	49
Tabelle 5: Entwicklung der Stuhltrockenmasse innerhalb der Protein low Gruppe (n = 19)	50
Tabelle 6: Entwicklung der Stuhltrockenmasse innerhalb der Protein high Gruppe (n = 27)	50
Tabelle 7: Darstellung der Mediane der Proteinaufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	52
Tabelle 8: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Protein low Gruppe (n = 19)	52
Tabelle 9: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Protein high Gruppe (n = 27)	52
Tabelle 10: Darstellung der Mediane der Kohlenhydrataufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	53
Tabelle 11: Darstellung der Mediane der Fettaufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	54
Tabelle 12: Darstellung der Mittelwerte der Wasseraufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	55
Tabelle 13: Entwicklung der Wasseraufnahme innerhalb der Kontrollgruppe (n = 30)	55
Tabelle 14: Entwicklung der Wasseraufnahme innerhalb der Protein high Gruppe (n = 27)	56
Tabelle 15: Darstellung der Mediane der Ballaststoffaufnahme der Interventionsgruppen (n = 58) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3 in g/d	57
Tabelle 16: Entwicklung der Ballaststoffaufnahme innerhalb der Protein high Gruppe (n = 19)	57
Tabelle 17: Darstellung der Mittelwerte des Gewichts der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3	59
Tabelle 18: Entwicklung des Körpergewichts innerhalb der Protein low Gruppe (n = 19)	59
Tabelle 19: Darstellung der Mittelwerte des BMI der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3	60
Tabelle 20: Entwicklung des BMI innerhalb der Protein low Gruppe (n = 19)	61
Tabelle 21: Darstellung der Mittelwerte der Stuhltrockenmasse der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3	62
Tabelle 22: Entwicklung der Stuhltrockenmasse innerhalb der Alterskategorie 1 (65-69,99 Jahre; n = 22)	62
Tabelle 23: Entwicklung der Stuhltrockenmasse innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30)	63

Tabelle 24: Darstellung der Mediane der Proteinaufnahme der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	64
Tabelle 25: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Alterskategorie 1 (65-69,99 Jahre; n = 22).....	64
Tabelle 26: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30).....	65
Tabelle 27: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Alterskategorie 3 (75-85 Jahre; n = 24).....	65
Tabelle 28: Darstellung der Mediane der Kohlenhydrataufnahme der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	66
Tabelle 29: Darstellung der Mediane der Fettaufnahme der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	67
Tabelle 30: Darstellung der Mittelwerte der Wasseraufnahme der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	68
Tabelle 31: Entwicklung der Wasseraufnahme innerhalb der Alterskategorie 1 (65-69,99 Jahre; n = 22).....	68
Tabelle 32: Entwicklung der Wasseraufnahme innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30).....	69
Tabelle 33: Darstellung der Mediane der Ballaststoffaufnahme der Alterskategorien (n = 58) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3 in g/d	69
Tabelle 34: Darstellung der Mittelwerte des Gewichts der Alterskategorien (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3	70
Tabelle 35: Entwicklung des Gewichts innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30)	71
Tabelle 36: Darstellung der Mittelwerte des BMI der Alterskategorien (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3	72
Tabelle 37: Entwicklung des BMI innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30)	72
Tabelle 38: Darstellung der Mittelwerte der Stuhl trockenmasse der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3	73
Tabelle 39: Einfluss des Zeitpunkts und der Innersubjekteffekte Interventionsgruppe, Geschlechts und Alterskategorie auf die Stuhl trockenmasse (n = 76).....	74
Tabelle 40: Paarweiser Vergleich der Stuhl trockenmasse in % zwischen den Interventionsgruppen (n = 76)	75
Tabelle 41: Darstellung der Mediane der Proteinaufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	75
Tabelle 42: Darstellung der Mediane der Kohlenhydrataufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	75
Tabelle 43: Darstellung der Mediane der Fettaufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	76
Tabelle 44: Darstellung der Mittelwerte der Wasseraufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d	76
Tabelle 45: Darstellung der Mittelwerte der Energieaufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in kcal/d	77
Tabelle 46: Darstellung der Mittelwerte der Energieaufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in kcal/d	77

Tabelle 47: Einfluss des Zeitpunkts und der Innersubjekteffekte Interventionsgruppe, Geschlechts und Alterskategorie auf die Aufnahme von Protein [g/d], Kohlenhydraten [g/d], Fett [g/d], Wasser [g/d] und Energie [kcal/d] (n = 76)	89
Tabelle 48: Paarweiser Vergleich der ernährungsbezogenen Parameter zwischen den Interventionsgruppen (n = 76).....	90
Tabelle 49: Darstellung der Mediane der Ballaststoffaufnahme der Geschlechter (n = 58) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3 in g/d	91
Tabelle 53: Darstellung der Mittelwerte des Gewichts der Geschlechter (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3.....	92
Tabelle 54: Darstellung der Mittelwerte des BMI der Geschlechter (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3.....	92
Tabelle 56: Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen (n = 76) in der Proteinaufnahme zum Zeitpunkt T2	93
Tabelle 57: Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen (n = 76) in der Proteinaufnahme zum Zeitpunkt T3	94
Tabelle 58: Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen (n = 58) in der Ballaststoffaufnahme zum Zeitpunkt T3	94
Tabelle 59: Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen (n = 76) im Körpergewicht zum Zeitpunkt T3	95
Tabelle 51: Tests der Zwischensubjekteffekte auf die ernährungsbezogenen Parameter (n = 76).....	118
Tabelle 50: Paarweiser Vergleich der ernährungsbezogenen Parameter zwischen den Alterskategorien (n = 76)	120
Tabelle 52: Einfluss des Zeitpunkts und der Innersubjekteffekte Interventionsgruppe, Geschlechts und Alterskategorie auf die Aufnahme von Ballaststoffen (n = 58)	121
Tabelle 55: Einfluss des Zeitpunkts und der Innersubjekteffekte Interventionsgruppe, Geschlechts und Alterskategorie auf das Körpergewicht und den BMI der Probanden (n = 76)	124
Tabelle 60: Beschreibung der Alterskategorien zu Studienbeginn T1 (n = 76)	124
Tabelle 61: Beschreibung der Alterskategorien mit Personen, die in die Analyse der Ballaststoffaufnahme eingeschlossen wurden, zu Studienbeginn T1 (n = 58).....	125
Tabelle 62: Unterschiede der Mittelwerte der Interventionsgruppen	125
Tabelle 63: Paarweiser Vergleich der Trockenmasse zwischen den Alterskategorien	126
Tabelle 64: Unterschiede zwischen den Alterskategorien in der Proteinaufnahme zum Zeitpunkt T2	126
Tabelle 65: Unterschiede zwischen den Alterskategorien in der Kohlenhydrataufnahme zum Zeitpunkt T2	127
Tabelle 66: Unterschiede zwischen den Alterskategorien in der Energieaufnahme zum Zeitpunkt T2	127
Tabelle 67: Unterschiede zwischen den Alterskategorien in der Energieaufnahme zum Zeitpunkt T3	128

III. Abkürzungsverzeichnis

g/kg KG/d	Gramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag
CCK	Cholecystokinin
PYY	Peptid YY
GLP-1	Glucagon-like Peptide 1
PepT1	Peptidtransporter 1
mg/kg KG/h	Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Stunde
BMI	Body Mass Index
OTU	Operational taxonomic unit

1. Einleitung

In Österreich lag die Lebenserwartung 2018 bei 79,3 Jahren für Männer und bei 84,0 Jahren für Frauen. Die Prognosen für 2030 sagen eine durchschnittliche Lebenserwartung bei Frauen von über 86 Jahren voraus. [Statistik Austria, 2019] Auch im Rest der Welt werden die Menschen immer älter, darum ist es besonders wichtig, eine bestmögliche Lebensqualität so lange wie möglich zu erhalten. Körperliche Aktivität und die Fähigkeit Alltagsaktivitäten selbst ausführen zu können, ist nicht nur essentiell für die Lebensqualität junger, sondern auch älterer Menschen. Im Laufe der Alterung nimmt die körperliche Leistungsfähigkeit zunehmend ab. [Amesberger et al., 2019] Es kommt zu einer Verschiebung der Körperzusammensetzung mit Erhöhung der Fettmasse und Abnahme der Muskelmasse, was vor allem die Skelettmuskulatur betrifft. Dadurch kommt es zum Verlust der Mobilität, was in weiterer Folge zum Tod führen kann. [Houston et al., 2008] Bereits etwa ab dem 25. Lebensjahr verliert man 1 % an Muskelkraft pro Jahr und noch mehr ab dem 60. Lebensjahr, so dass die ältesten Personen maximal 40 % ihrer früheren Höchstleistung abrufen können [Franzke et al., 2018].

Die „NutriAging“ Studie hat es sich zum Ziel gesetzt, die Lebensqualität von Senioren zu untersuchen und zu verbessern. Um dies zu erreichen lag der Fokus in der ersten Phase auf Protein, das in unterschiedlichen Konzentrationen zusammen mit Krafttraining an etwa 150 Männern und Frauen untersucht wurde. Die Probanden wurden randomisiert und entweder der Kontrollgruppe, der Protein low Gruppe (1 g/kg KG Protein) oder der Protein high Gruppe (2 g/kg KG Protein) zugeteilt.

Unter anderem durch eine adäquate Proteinaufnahme kann die körperliche Leistungsfähigkeit und somit die fettfreie Masse erhalten bzw. deren Verlust im Alter reduziert werden, wie Untersuchungen im Zuge der Health ABC Studie zeigen. Unter anderem konnte durch eine Proteinaufnahme von über 12 Energie-% über einen Zeitraum von vier Jahren mehr Armmuskulatur erhalten werden, als mit einem Anteil von unter 10 % an der Gesamtenergieaufnahme. Außerdem wurde sowohl bei einer Abnahme sowie bei einer Zunahme des Körpergewichts eine Verbesserung der Magermasse durch eine erhöhte Proteinaufnahme beobachtet. [Houston et al., 2008] Des Weiteren konnte eine andere Studie an Männern über 70 Jahren zeigen, dass es bei einer hypokalorischen Nahrungsaufnahme unter Einhaltung der Proteinempfehlung

zu einem Verlust der Armmuskulatur kam, während die doppelte Menge dies verhindern konnte [Mitchell et al., 2017].

Die vorliegende Arbeit ist Teil der „NutriAging“ Studie und beschäftigt sich mit der Frage, welchen Einfluss eine erhöhte Proteinaufnahme auf die Stuhltrockenmasse hat, bzw. inwieweit der Körper die erhöhte Menge Protein, wie sie in der Protein high Gruppe aufgenommen wird, aufnehmen kann und ob ein Überschuss mit dem Stuhl ausgeschieden wird. Dazu wurden die Stuhlproben, die im Zuge der „NutriAging“ Studie an drei Terminen genommen wurden, gefriergetrocknet und durch Wiegen die Trockenmasse bestimmt. Im weiteren Verlauf wurde die Restenergie der Proben mittels Bombenkalorimeter analysiert, um weitere Schlüsse auf die Aufnahme des Proteins im Körper ziehen zu können.

Im Zuge dieser Untersuchungen werden die folgenden zentralen Hypothesen geprüft:

- Bei einer Aufnahme von 2 g/kg KG Protein pro Tag, erhöht sich die relative Stuhltrockenmasse.
- Eine größere Menge an aufgenommenem Nahrungsprotein bedingt eine größere relative Stuhltrockenmasse.
- Eine größere Menge an aufgenommenen Ballaststoffen bedingt eine größere relative Stuhltrockenmasse.

Zu Beginn der Arbeit werden die Themenfelder Protein, die Darmmikrobiota, sowie Stuhl und die Stuhltrockenmasse besprochen und als letzter Teil der Literaturübersicht wird die Gefriertrocknung genauer erörtert. In den weiteren Kapiteln werden die Methoden und Ergebnisse der statistischen Auswertung präsentiert und im Folgenden diskutiert.

Bei der statistischen Analyse der Trockenmasse (relativ) und dem Einfluss der Interventionsgruppe, wurden auch andere ernährungsbezogene Parameter, sowie das Alter und Geschlecht miteinbezogen.

Nach aktuellem Stand wurde der Einfluss von Protein auf die durch Gefriertrocknung gewonnene Trockenmasse von Personen ab 65 Jahre in Studien noch nicht untersucht.

2. Literaturübersicht

2.1. Protein

2.1.1. Proteinquellen und Aufnahmeempfehlung

Im Körper ablaufende Prozesse werden je nach Proteinquelle und Zusammensetzung der Nahrung auf unterschiedliche Weise beeinflusst. Protein ist in unzähligen Lebensmitteln unterschiedlicher Art und Herkunft zu finden.

In Fleisch- und Fischprodukten ist hauptsächlich Muskelprotein enthalten, das zu den funktionellen Proteinen zu zählen ist. Die Proteinfraction der Kuhmilch macht 3,5 % der Gesamtmasse aus und besteht zu vier Fünfteln aus an Phosphat gebundenem Casein, der Rest ist Molkenprotein. Betrachtet man das Ei, muss man zwischen Proteinen im Eiweiß und im Dotter unterscheiden. Während im Eiweiß Ovalbumin, Ovotransferrin und Ovomukoid vorkommen, sind im Dotter hauptsächlich Lipoproteine zu finden. Bei Getreide schwankt der Proteingehalt der unterschiedlichen Sorten zwischen 8 und 12 %. In Hülsenfrüchten wie Erbsen, Bohnen und Linsen sind bis zu 30 % und in Sojabohnen bis zu 35 % Protein enthalten. [Jahan-Mihan et al., 2011]

Einige Proteine tierischen Ursprungs, wie z.B. Gelatine und Kollagen, werden in der Lebensmittelverarbeitung zu technologischen Zwecken eingesetzt. So werden auch die Milchproteine Kasein und Molkenprotein industriell verarbeiteten Produkten und Nahrungsergänzungsmitteln zugesetzt und nehmen als bioaktiv wirksame Stoffe Einfluss auf den Appetit und den Stoffwechsel. [Jahan-Mihan et al., 2011]

Viele Proteine kommen nicht in Reinform in Lebensmitteln vor, sondern auch in Verbindung mit anderen Stoffen, was einen beträchtlichen Einfluss auf die Wirkungen im Körper hat. Phosphor und Kalzium sind z.B. an Kasein gebunden. Auch in Pflanzen, wie der Sojabohne sind Stoffe wie Flavonoide, Saponine und Trypsin-Inhibitoren an Proteinen gebunden. Daneben haben die Verarbeitung und damit einhergehende Nährstoffveränderungen einen Einfluss auf die Proteinverdaulichkeit in die eine oder andere Richtung. [Jahan-Mihan et al., 2011]

Empfehlung für die Proteinaufnahme und Bedarf im Alter

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung hat als tägliche Empfehlung für eine erwachsene Person 0,8 g/kg KG Protein festgelegt [DGE, 2019]. Diese Empfehlung ist nicht an die Bedürfnisse im Alter, wie den Erhalt der Muskelmasse angeglichen,

sondern stützt sich auf eine kurzfristige Stickstoffbilanz, die einen erhöhten Bedarf verschleiern kann [Houston et al., 2008; Mitchell et al., 2017]. Die Aufnahme der üblichen Empfehlung von 0,8 g /kg KG/Tag Protein führte in einer über drei Monate dauernden Interventionsstudie an älteren Probanden zum Abbau von Armmuskulatur [Houston et al., 2008], was auch in einer anderen Studie bestätigt werden konnte [Mitchell et al., 2017]. Deshalb ist es wichtig, bei der Empfehlung die Körperzusammensetzung und andere Faktoren, die einen Einfluss auf den Proteinbedarf haben, zu berücksichtigen. Durch die Reduktion der Muskelfunktion und -masse im Alter und das vermehrte Aufkommen von Nährstoffmängeln, verändert sich der Proteinbedarf. [Wolfe, 2012] Bei älteren Personen kann eine anabole Resistenz auftreten, was bedeutet, dass die Proteinsynthese durch Zufuhr von Protein nicht mehr gesteigert wird und sich somit im Laufe der Zeit der Zustand der Muskulatur verschlechtert. Nach der Nahrungsaufnahme sind für den Körper weniger Aminosäuren verfügbar, die Muskeln werden weniger durchblutet und nehmen weniger Aminosäuren auf. Zusätzlich funktioniert auch die Verdauung weniger effizient als bei jüngeren Personen, was den Bedarf an Protein bei Menschen über 65 Jahren erhöht. Dieser erhöhte tägliche Bedarf im Alter wird auf 1,0-1,5 g/kg KG bei Personen ohne Nierenerkrankungen geschätzt. [Deutz et al., 2014] Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung hat für Personen über 65 Jahren wegen des erhöhten Bedarfs nun eine Schätzwert von 1 g/kg KG Protein pro Tag ausgesprochen [DGE, 2019].

Die Menge an aufgenommenem Protein schwankt weltweit aufgrund kultureller Unterschiede und Verfügbarkeit stark. Während in Europa und Nordamerika tendenziell mehr als die Empfehlung über die Nahrung aufgenommen wird, besteht in Entwicklungsländern eher ein Mangel an Protein in der Ernährung der Menschen. [Portune et al., 2016]

2.1.2. Proteinmetabolismus

Wird Protein über die Nahrung aufgenommen, gelangt es über den Mund und die Speiseröhre in den Magen, wo die Verdauung beginnt. Durch das saure Milieu (Salzsäure) kommt es zur Denaturierung der Proteine, hier werden Pepsine (Endopeptidasen) aktiviert, welche an Tyrosin oder Phenylalanin spalten. Ein geringer Teil der freigesetzten Aminosäuren und größere Peptide gelangen in den 1. Abschnitt des Dünndarms, das Duodenum, in dem die Peptide durch Proteolyse gespalten werden. Der Hauptabsorptionsort ist das Jejunum (2. Teil des Dünndarms), doch auch in späteren Abschnitten werden noch geringe Mengen absorbiert. Im Dünndarm sind

Trypsin, Chymotrypsin und Elastase, sowie Carboxypeptidase A und B, Dipeptidasen und Aminopeptidase aktiv. Es entsteht eine Menge an Peptiden, die zum Teil biologische Aktivität haben und z.B. Verdauungsenzyme regulieren und Aufgaben bei der Aufnahme von Nährstoffen übernehmen. Pepsine sind hier nicht mehr aktiv, weil der pH-Wert von 2-5 im Magen auf 7-8 im Darm steigt. Bevor es weiter in das Kolon, den Hauptassimilierungsort, geht [Silk, Grimble & Rees, 1985; Silbernagl & Despopoulos, 2012; Jahan-Mihan et al., 2011], werden Aminosäuren über Enterozyten der Schleimhaut zur Leber transportiert. An der Darmwand kann es zu einer Konkurrenz zwischen freien Aminosäuren kommen, wo die Aminosäuren mit höherer Konzentration im Vorteil sind. Findet keine Metabolisierung in der Leber statt, gelangen die Aminosäuren ins Blut und sind nun für die Körpergewebe verfügbar. [Schoenfeld & Aragon, 2018] Bisher unverdaute Bestandteile der Nahrung oder endogenes Protein werden hier von Bakterien zum Teil weiter metabolisiert oder auch in diesem Darmabschnitt nicht aufgenommen [Rowan et al., 1993]. Im Kolon ist die mikrobielle Besiedelung am größten und auch die Verweildauer ist länger als in früheren Darmabschnitten, dadurch kann das bisher noch erhalten gebliebene Protein von bakteriellen Proteasen und Peptidasen abgebaut werden. Die Absorption der Aminosäuren geht in diesem Darmabschnitt jedoch nicht so gut vonstatten. Neben dem physiologischen Zustand der Person ist die mikrobielle Besiedelung des Darms entscheidend bei dem Proteinmetabolismus und kann die Aufnahme stark beeinflussen. Bei diesen Prozessen entstehen Nebenprodukte, von denen der Großteil später mit dem Stuhl ausgeschieden wird. [Portune et al., 2016] Die Fermentation von Aminosäuren im Kolon durch Bakterien kann positive sowie negative Auswirkungen haben [Jahan-Mihan et al., 2011].

Bereits 1970 wurde ein Wert von 95 % als Standard für die Nährstoffabsorption bei gesunden Erwachsenen unter einer Standarddiät angenommen [Wierdsma et al., 2013]. Heute geht man davon aus, dass im Normalfall die Proteinabsorption sehr effizient erfolgt. Es werden 90-95 % der Proteine vom Körper aufgenommen und nur ca. 10 g/d gehen über den Stuhl verloren. [Biesalski & Grimm, 2011; Portune et al., 2016]

Abhängig von der Proteinart und der Aminosäurezusammensetzung sowie den unterschiedlichen Spaltungsaffinitäten der Verdauungsenzyme ist der Ort, an dem die Verdauung stattfindet. Denn während das weniger lösliche phosphathaltige Casein bereits im Magen durch den niedrigen pH-Wert gespalten wird, wird Molken- und

Sojaprotein erst durch pankreatisches Trypsin und Chymotrypsin hydrolysiert. Durch die Verdauung von Kasein im Magen wird auch die Magenentleerungszeit verlängert. Molken- und Sojaprotein stellt dem Körper durch den schnellen Magendurchgang rascher Aminosäuren für etwaige Prozesse z.B. die Synthese von Protein zur Verfügung. [Jahan-Mihan et al., 2011] An Ratten zeigte sich, dass nicht nur die Magenentleerung, sondern auch der gesamte Transport bis zur Ausscheidung bei einer Kaseingabe signifikant länger dauert, als bei einer Molkengabe [Daniel, Vohwinkel & Rehner, 1990]. Andere Studien wiederum zeigen keinen signifikanten Unterschied der Magenentleerung zwischen Molkenprotein und Kasein, was mit den Analysemethoden zusammenhängt [Calbet & Holst, 2004]. Die Magenentleerungsrate wird durch die Ausschüttung von Hormonen aus dem Darm bestimmt, die wiederum von Nahrungsproteinen beeinflusst wird. Wird Protein über die Nahrung zugeführt, sorgen Cholecystinin (CCK), Peptid YY (PYY) und Glucagon-like Peptide 1 (GLP-1) dafür, dass der Magen langsamer entleert wird. Die Ausschüttung von Ghrelin, das die Darmmotilität anregt, wird durch die Aufnahme aller Makronährstoffe gehemmt, am stärksten durch Protein. Kleinere Peptide werden aktiv über den Peptidtransporter 1 (PepT1) in die Zellen transportiert, andere auch mittels passiver Diffusion. Beim Transport können über Rezeptoren des Darmepithels zum Teil Nahrungsbestandteile identifiziert und Signalwege ausgelöst werden. Einige Peptide haben Einfluss auf die Absorption und andere auf nachfolgende Mechanismen. Die Aminosäureabsorption erfolgt aktiv über einen natriumabhängigen Gradienten über die Bürstensaummembran der Darmzellen. Die Effizienz dieses Vorgangs ist allerdings von der Spezies abhängig und nicht für jede Aminosäure die einzige Möglichkeit, absorbiert zu werden. Nicht außer Acht zu lassen ist, dass auch die körperliche Verfassung bzw. das Auftreten von Krankheiten eine Rolle bei der Aminosäureabsorption spielt. [Jahan-Mihan et al., 2011]

Insgesamt ist der Metabolismus anhängig von der Nahrungsquelle und -zusammensetzung, der Aminosäurezusammensetzung, sowie der Menge des aufgenommenen Proteins und der körperlichen Aktivität. Außerdem spielen das Alter und die Körperzusammensetzung eine Rolle bei der Muskelproteinsynthese. [Schoenfeld & Aragon, 2018] Bei älteren Personen gibt es Hinweise darauf, dass die Aminosäuren-Verfügbarkeit einen nicht so starken Einfluss auf den Proteinmetabolismus wie bei jüngeren Personen hat [Dangin et al., 2003].

2.1.3. Proteinverdaulichkeit

Die Proteinverdaulichkeit und die Ausscheidung von Proteinen bzw. Aminosäuren sind miteinander verbunden und sind Teil der Proteinqualität [Rowan et al., 1993]. Diese Parameter können auch durch die Verarbeitung von Lebensmitteln oder Rohstoffen beeinflusst werden [Devi et al., 2018].

Eine einfache Methode, die Proteinverdaulichkeit zu bestimmen, ist die Messung der Menge der aufgenommenen und ausgeschiedenen Proteine. Der Proteinmetabolismus ereignet sich hauptsächlich im Dünndarm, danach findet jedoch eine Proteinsynthese durch die Mikroorganismen im Dickdarm statt. Durch die vermehrte Produktion von endogenem Protein kann die Stickstoffbilanz verzerrt sein und zu verfälschten Ergebnissen bei Analysen der Proteinverdaulichkeit führen. [Devi et al., 2018] Denn die abgegebenen körpereigenen Proteine und die stickstoffhaltigen Stoffe im Verdauungstrakt können erhebliche metabolische Aktivität haben. Bei manchen Erwachsenen gelangen sogar 90 g endogenes Protein pro Tag in den Verdauungstrakt. Jedoch werden etwa 80 % vor Erreichen des Dünndarms wieder aufgenommen, d.h. etwa 18 g endogenes Protein gehen pro Tag verloren. Auch Ballaststoffe und resistente Stärke beeinflussen die Menge an endogenem Protein im Verdauungstrakt. Antinutritive Pflanzeninhaltsstoffe führen zum Verlust von größeren Mengen an endogenem Protein im Ileum (der 3. Abschnitt des Dünndarms), wodurch die Verdaulichkeit beeinflusst wird. [Moughan & Rutherford, 2012]

Ein besonders exaktes Ergebnis kann über eine Messung des Proteins im Ileum erreicht werden. Dazu kann entweder eine invasive Methode mittels Intubation oder Fistelung des Darms angewandt werden, oder die weniger invasive Dual-Tracer-Methode. Bei letzterer werden ein Standardprotein, dessen Verdaulichkeit bekannt ist, und ein Testprotein mit unterschiedlichen Isotopen markiert. Diese werden gleichzeitig verabreicht und über eine Blutanalyse das Vorkommen der Aminosäuren gemessen, wodurch die Verdaulichkeit bestimmt wird. Durch Studien, bei denen die Analysen mittels Darmfistelung durchgeführt wurden, konnten Korrekturwerte für endogenes Protein gewonnen werden; daraus kann die wahre Verdaulichkeit berechnet werden. [Devi et al., 2018] Die wahre Verdaulichkeit ist eine spezifische Eigenschaft der Aminosäure und wird durch Einflüsse von außen wie z.B. einer veränderten Nahrungszusammenstellung nicht verändert. Neben der wahren Verdaulichkeit (true ileal digestible amino acid content) gibt es noch die echte Verdaulichkeit (available amino acid content), die herangezogen wird, wenn Ballaststoffe oder Stoffe mit

antinutritiver Wirkung enthalten sind. Dadurch werden nicht nur der Standardverlust, sondern auch zusätzliche Verluste durch die zuvor erwähnten Inhaltsstoffe des Lebensmittels korrigiert. [Moughan & Rutherford, 2012]

2.1.4. Proteinwirkung

Die Funktionen und Aufgaben von Nahrungsprotein reichen von der Energiebereitstellung über die Funktion als Quelle für essentielle Aminosäuren bis hin zur Regulationen von einigen Stoffwechselfvorgängen. Außerdem werden die Stabilität und die Aufgabe von endogenen Peptiden durch Proteine und Peptide aus der Nahrung bestimmt. Das Zusammenspiel und die gegenseitige Beeinflussung von endogenen und exogenen Proteinen hat eine wesentliche Bedeutung für die Funktionen des Verdauungssystems. [Jahan-Mihan et al., 2011]

Sättigung und Gewicht

Während des Proteinmetabolismus, der sich durch den gesamten Gastrointestinal-Trakt zieht, beeinflussen Nahrungsproteine unter anderem auch hormonelle und neuroendokrine Mechanismen. Das hat einen Einfluss darauf, wieviel des zugeführten Proteins vom Organismus aufgenommen wird, wieviel ausgeschieden wird und welche Wirkung es im Körper hat. Peptide aus dem Darm sind auch im Gehirn zu finden, wo sie Teil der Darm-Hirn-Achse sind und unter anderem die Sättigung regulieren. [Jahan-Mihan et al., 2011] Eine Ernährung mit einem erhöhten Proteinanteil kann sich durch die stärkere Sättigungswirkung und folglich die reduzierte Energieaufnahme im Vergleich zu einer kohlenhydrat- und fettlastigen Ernährung positiv auf das Körpergewicht, den Blutdruck und zum Teil auf die Blutlipide, sowie die fettfreie Körpermasse auswirken. Aus diesem Grund ist Protein auch ein Baustein vieler Diäten zur Gewichtsreduktion. [Portune et al., 2016, Blachier et al., 2019]

Neben zahlreichen anderen Studien zum Thema Gewichtsreduktion durch proteinreiche Diäten beschäftigten sich auch Weigle et al. (2005) mit dieser Thematik. In ihrer Studie bekamen 19 gesunde Personen mit einem BMI unter 30 zwei Wochen lang eine Basisdiät (35 % Fett, 50 % Kohlenhydrate und 15 % Protein). Danach bekamen die Probanden weitere zwei Wochen eine gewichtserhaltende isokalorische Diät mit 20 % Fett, 50 % Kohlenhydrate und einem Proteinanteil von 30 %. In der dritten 12 Wochen dauernden Phase konnten sie essen, wann und wieviel sie wollten. Nach der Umstellung auf die gewichtserhaltende Diät bei 30 % Protein wurde von einer schnelleren Sättigung berichtet und die Daten zeigten eine reduzierte Energieaufnahme während der ad libitum Phase. Folglich kam es zu

Gewichtsverlusten von etwa 5 kg Körpergewicht und zu einer Reduktion der Fettmasse. Weigle et al. folgerten aus dieser Studie, dass man durch das Ersetzen von Fett durch Protein einen größeren Gewichtsverlust erreichen kann, als durch das Ersetzen von Fett durch Kohlenhydrate. Eine mögliche Erklärung für die Gewichtsreduktion durch Protein ist z.B. der erhöhte Energieumsatz durch die gesteigerte Thermogenese im Zuge des Proteinmetabolismus. [Weigle et al., 2005]

Nierenerkrankungen

Es hat sich gezeigt, dass eine Proteinaufnahme laut Empfehlung positive Wirkungen bei Personen mit chronischem Nierenversagen hat. Dafür verantwortlich ist mitunter, dass nicht viele unverdauliche Proteine für den Aminosäureabbau durch Darmbakterien vorhanden sind und folglich auch weniger Abbauprodukte. [Portune et al., 2016] Durch erhöhte Proteinaufnahme werden vermehrt Phenole und Ammoniak gebildet, was mit negativen Folgen verbunden ist. Durch Anregung der Zellproliferation kann Ammoniak die Bildung von Tumoren fördern und auch Phenole können das Entstehen von Haut-, Blasen- und Darmkrebs unterstützen. Werden resistente Stärke und andere fermentierbare Kohlenhydrate aufgenommen, können jedoch diese negativen Wirkungen auf den Körper reduziert werden. [Birkett et al., 1996] In einer Studie an Ratten konnten die durch verminderte p-Kresol Ausschüttung bei der proteinreichen Diät verursachten DNA-Schäden in Dickdarmzellen durch die Gabe von resistenter Stärke reduziert werden. Außerdem können durch resistente Stärke über die Senkung von Stoffwechselprodukten aus der bakteriellen Aminosäurefermentation im Dickdarm Nierenschäden abgeschwächt werden. Eine Senkung des p-Kresol-Spiegels im Urin kann darüber hinaus durch die Aufnahme von Probiotika der Gattung *Lactobacillus* und *Bifidobacterium*, aber vor allem durch Präbiotika erreicht werden. [Portune et al., 2016]

Durchfall

Auch die Wirkung von Protein auf Durchfall wird untersucht, dabei konnten bereits an Schweinen positive Ergebnisse bei kleinen Dosen erreicht werden. Eine Studie von Wen et al. (2018) beschäftigte sich mit den Auswirkungen von unterschiedlichen Proteindosen auf Parameter des Dickdarminhalts und die Mikrobiota von Ferkeln. Es gab eine Kontrollgruppe und vier Interventionsgruppen, welche sich durch die gefütterten Proteinquellen (Soja oder Fisch) und -mengen unterschieden. Pro Gruppe wurde nach zwei Wochen ein Tier getötet und der Darminhalt der interessierenden Abschnitte entfernt. In der Kontrollgruppe mit 17 % Protein im Futter kam es seltener

zu Durchfall, als in den anderen Gruppen. Mit steigendem Proteingehalt (19 bzw. 23 %) stieg auch die Weichheit des Stuhls. Die Proteinquelle hatte auf den Durchfall keinen Einfluss. Auch Wechselwirkungen der beiden Faktoren Quelle und Menge konnten beobachtet werden. Insgesamt zeigte sich ein deutlicher Einfluss des Nahrungsproteins auf die Fermentation von Ballaststoffen und Proteinen im Darm. Durch die Fermentation von Protein kann es zu einer negativen Beeinflussung der mikrobiellen Besiedelung des Darms und durch Produkte der Proteinfermentation, z.B. Putrescin oder Cadaverin, zu Durchfall kommen. Die Proteinquelle und die Proteinmenge bestimmen die Effizienz der Verdauung und folglich die Ausscheidungsprodukte mit. [Wen et al., 2018]

Muskelproteinsynthese

Die Aufnahme von Nahrungsprotein erhöht die Aminosäurewerte im Blut und es kommt zu einer gesteigerten Muskelproteinsynthese [Bohé et al., 2003]. Dabei spielt die Proteinherkunft eine Rolle. Molkenproteine werden recht rasch verdaut und regen die Proteinsynthese sehr stark und für einen kurzen Zeitraum an. Dem entgegengesetzt hält die Stimulation durch Casein, das langsamer verdaut wird, länger an. [Gorissen, Rémond & van Loon, 2015] Außerdem spielt die Aminosäurezusammensetzung eine wichtige Rolle, denn die Proteinqualität beeinflusst die Verfügbarkeit der Proteine, die für die Muskelproteinsynthese herangezogen werden. Neben der Aminosäurezusammensetzung sind bei der Muskelproteinsynthese die Menge der aufgenommenen Proteine und der Aufnahmezeitpunkt sowie der Trainingszustand und die körperliche Aktivität von Bedeutung. Eine Studie an älteren Personen konnte zeigen, dass der Körper durch eine erhöhte Aufnahme an Nahrungsprotein über die Jahre weniger fettfreie Masse verliert als in Kontrollen. Wobei in der Arbeit in Frage gestellt wird, wie aussagekräftig Studien an Personen in einer unkontrollierten Umgebung sind, wo die Forscher auf die Angaben der Probanden über die Nahrungsaufnahme etc. angewiesen sind. [Wolfe, 2012]

Die Muskelproteinsynthese findet jedoch nur limitiert statt, denn bei einer erhöhten Proteinaufnahme über sechs Stunden, kommt es bereits nach zweieinhalb Stunden zum Erliegen des Vorgangs. Um den Effekt der Aufnahmekonzentration zu untersuchen, wurden 15 Probanden mit normaler Proteinaufnahme in drei Gruppen eingeteilt und bekamen intravenös 43,5 mg/kg KG/h, 87 mg/kg KG/h bzw. 261 mg/kg KG/h Aminosäuremischung verabreicht. Die Aufnahme von 261 mg/kg KG/h führte dazu, dass die Aminosäurekonzentration extrazellulär zwei Mal so hoch wie am

Anfang war. Im Gegensatz dazu sanken die Konzentrationen der essentiellen Aminosäuren in der Muskelzelle bei den zwei Gruppen mit den niedrigeren Konzentrationen ab. Gleichzeitig zum Anstieg der Konzentration der essentiellen Aminosäuren extrazellulär und dem Abfall der intrazellulären Konzentration kam es zu einem Anstieg der Muskelproteinsynthese eine bis dreieinhalb Stunden nach der Aminosäureaufnahme. Danach kam es nur noch zu geringen Erhöhungen der Synthese auch bei weiter steigenden Blutwerten. [Bohé et al., 2003]

Auch andere Studien kamen zu dem Ergebnis, dass es Grenzen für die Proteinsynthese im Muskel gibt und dass mehr Protein pro Mahlzeit nicht gleich mehr Muskelaufbau bedeutet [Morton, McGlory & Phillips, 2015]. In einer Studie an sportlichen Personen wurden die höchsten Syntheseraten bei vier Gaben von 20 g Protein erreicht, während bei zwei Mal 40 g die Muskelproteinsynthese weniger effizient vonstattenging. Wobei zu beachten ist, dass die angestrebten 80 g pro Tag eine relativ geringe Dosis ist und damit kein maximaler Muskelaufbau stattfinden kann. Außerdem wurde hier nur das schnell absorbierbare Molkenprotein (ca. 10 g/Stunde) gegeben. [Schoenfeld & Aragon, 2018]

Glukosemetabolismus

Die Aminosäurezusammensetzung und die Proteinverdauung, sowie die Funktion der Aminosäuren im Darm beeinflussen den Glukosemetabolismus indirekt über die Ausschüttung von Hormonen und auch direkt als Substrat. Nach der Nahrungsaufnahme sind vermehrt Aminosäuren im Blutplasma zu finden, dadurch wird die Ausschüttung von Insulin und auch Glucagon stimuliert und beeinflusst auf diese Weise den Glukosestoffwechsel in der Leber. Zusätzlich wird der Glukosestoffwechsel zum Teil vom Proteinstoffwechsel gelenkt. Molkenprotein wird recht rasch verdaut, was eine vermehrte Ausschüttung von Insulin mit sich zieht. Folglich wird mehr Glukose von den Geweben aufgenommen und die Glukosewerte im Plasma sinken. Das zeigt einen Vorteil gegenüber Kasein, das der langsameren Verdauung im Magen unterworfen ist. [Jahan-Mihan et al., 2011]

Lipidmetabolismus

Abhängig von der Herkunft der Proteine wird auch der Stoffwechsel von Fett sowohl in Tieren als auch im Menschen beeinflusst. Der Effekt auf den Cholesterinspiegel wurde an Ratten untersucht und es konnte eine stärkere Senkung der Werte durch Molkenprotein, als durch Kasein oder Sojaprotein gezeigt werden. Auch Sojaprotein

hat positive Effekte auf die Blutlipidwerte gezeigt, jedoch könnte das auch an anderen bioaktiven Stoffen, wie Isoflavonen im Sojaprotein liegen. [Jahan-Mihan et al., 2011]

Negative Effekte

Bei Personen, die an Colitis Ulcerosa leiden, kommt es durch eine hohe Proteinaufnahme zu einer Verschlechterung der Symptome und auch das Auftreten von entzündlichen Darmerkrankungen und Morbus Crohn bei gesunden Personen konnte unter einer High Protein Diät vermehrt beobachtet werden. Jedoch konnte bei einer anderen Studie kein Zusammenhang gefunden werden. Außerdem wird der Zusammenhang zwischen Protein aus der Nahrung und Darmkrebs besprochen, hierbei scheint der Proteinanteil in der Nahrung und die Herkunft des Proteins eine Rolle zu spielen. [Portune et al., 2016]

2.2. Die Darmmikrobiota

Im menschlichen Darm leben über 100 Billionen Mikroorganismen, die Einfluss auf Stoffwechselprozesse und krankheitsbedingte Prozesse im ganzen Körper haben. Auch umgekehrt beeinflussen Krankheiten und andere Veränderungen im Körper die Mikrobiota und später die Zusammensetzung des Stuhls. Es findet also eine gegenseitige Beeinflussung und ein Zusammenspiel von Mikrobiom und Umgebung statt. [Gratton et al., 2016] Diese Beeinflussung der Mikrobiota durch etwaige Veränderungen des Lebensstils oder der Umgebung beginnt schon bei der Geburt. Abhängig davon, ob ein Kind per Kaiserschnitt oder auf natürlichem Weg zur Welt gebracht wird, wird die Zusammensetzung der mikrobiellen Besiedelung des Darms bestimmt. Im weiteren Verlauf des Lebens spielen die Nahrung, etwaige Medikamentenaufnahme (v.a. Antibiotika) und der Zustand der Gesundheit eine Rolle. Studien, die das Mikrobiom von Kindern in ganz unterschiedlichen Teilen der Welt untersuchten, konnten zeigen, dass nicht nur die unterschiedlichen Ernährungsweisen, sondern auch die klimatischen Bedingungen, die genetischen Unterschiede sowie die ärztliche Versorgung die Zusammensetzung des Mikrobioms beeinflussen. [Davenport et al., 2014]

Die Zusammensetzung der Mikrobiota ist ein relevanter Faktor für den Erhalt von Gesundheit und wichtigen Funktionen des Körpers, wie z.B. die Verdauung von Lebensmittelresten und die Synthese von Vitaminen, kurzkettiger Fettsäuren und bioaktiven Stoffen, sowie die Generierung von Energie. [Abrahamson et al., 2017;

Jahan-Mihan et al., 2011]. Die Analyse und Untersuchung der Mikrobiota ist daher von großer Wichtigkeit. Mittels Kernmagnetresonanz, Chromatographie und Massenspektrometrie ist es möglich, über Metabolomics kleinste Bestandteile von Stuhl zu identifizieren und Schlüsse auf die Verdauung bzw. die mikrobielle Besiedelung des Darms zu ziehen. [O'Sullivan et al., 2018] So können in Stuhlproben Marker für Krankheiten gefunden werden [Gratton et al., 2016]. Das Mikrobiom des menschlichen Darms besteht zu großen Teilen aus Bakterien der Stämme *Firmicutes* und *Bacteroidetes*. Diese kümmern sich um die ankommenden Nährstoffe und regeln z.B. die Speicherung von Fett, den Metabolismus von Gallensalzen und die Fermentation von nichtlöslichen Ballaststoffen und Proteinen. Außerdem wird über diese Bakterien das Immunsystem der Darmschleimhaut gesundgehalten. [Deda et al., 2015] Neben den *Firmicutes* und *Bacteroidetes* gehören noch andere Bakterienstämme, Viren, Pilze, Parasiten und Produkte dieser zur Mikrobiota. Die menschliche Mikrobiota ist, zumindest bei Personen in optimalem körperlichen Zustand, gleich reich an Mikroorganismen, wie der Körper an Zellen [Abrahamson et al., 2017] und hat mehr als 100-mal so viele Gene wie das menschliche Genom [Sinha et al., 2016].

Bei der Fermentation von Ballaststoffen im Dickdarm kommt es zur Bildung von kurzkettigen Fettsäuren vor allem von Acetat, Butyrat und Propionat. Sie machen bis zu 90 % der kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl aus und leisten auch durch ihren Einfluss auf den Energiestoffwechsel einen Beitrag zum Erhalt der Gesundheit, u.a. durch ihre entzündungshemmende Wirkung im Darm und dem damit einhergehenden reduzierten Darmkrebsrisiko. Der Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl kann Hinweise auf Krankheiten geben. [Hsu et al., 2019] Gibt es nun Störungen bei diesen Prozessen kann es zu gesundheitlichen Problemen, wie entzündlichen Darmerkrankungen, Nährstoffunterversorgungen und Beeinträchtigung von metabolischen Vorgängen und schwerwiegenden Folgen, wie Darmkrebs kommen. [Sinha et al., 2016] Ein Ungleichgewicht der mikrobiellen Besiedelung des Darms kann nicht nur mit einem erhöhten Risiko für entzündliche Erkrankungen des Darms einhergehen, sondern auch mit einer Risikoerhöhung für Übergewicht und Entzündungen der Gelenke [O'Sullivan et al., 2018].

Einfluss der Ernährung auf die Mikrobiota

Unzählige Studien haben die Auswirkungen der Ernährungsweise auf die Mikrobiota untersucht, zeigten aber nicht immer eindeutige Ergebnisse. Davenport et al. (2014)

haben eine Mikrobiomstudie an den in den USA auf Bauernhöfen lebenden Hutterern durchgeführt. Im Vergleich zu anderen isoliert lebenden Kommunen benutzen die Hutterer neue Technologien, außerdem schöpfen sie aus einem nicht so großen Genpool wie der Rest der Bevölkerung und sind vielen Umwelteinflüssen nicht so stark ausgesetzt. Die Hutterer ernähren sich saisonal und traditionell; was im Sommer geerntet wird, wird für die Wintermonate haltbar gemacht. Durch diese Lebensweise konnte die Studie saisonale Veränderungen des Mikrobioms gut erfassen. Dafür wurden Stuhlproben über ein Jahr in den fruchtbaren Monaten, sowie in den Wintermonaten genommen und die DNA extrahiert. Während in anderen Studien Unterschiede der Enterotypen bei dauerhaften Ernährungsgewohnheiten beobachtet werden konnten, wurde eine solche Charakteristik bei der Hutterer-Studie nicht nachgewiesen. Die Zusammensetzung der Bakterien im Darm des Einzelnen variierte im Laufe des Jahres nicht so stark, wie sich die Mikrobiota zwischen den Personen unterschied. Insgesamt zeigte sich ein Unterschied der Mikrobiotazusammensetzung zwischen Sommer und Winter und bei der Clusteranalyse bildeten sich Cluster nach der Saison. Dabei war die mikrobielle Diversität während der Sommermonate geringer. Mit steigendem Alter reduzierte sich im Winter die Diversität, während sich im Sommer kein altersabhängiger Unterschied zeigte. Überdies war auch kein Unterschied zwischen Frauen und Männern zu erkennen. Saisonale Unterschiede zeigten sich auch in der Produktart und -menge, sowie dem Verzehr von frischem Obst und Gemüse. Dabei spielt unter anderem der Stärkegehalt in der Nahrung eine Rolle und beeinflusst die Lebensumstände der Bakterienstämme. Eine weitere Beeinflussung des Mikrobioms, jedoch mit geringerer Bedeutung als die Ernährung, kann aus dem Hell-Dunkel-Verhältnis und dem Gesundheitszustand resultieren. [Davenport et al., 2014]

In einem Versuch an Mäusen wurde gezeigt, dass es bei einem Mangel an Energiezufuhr über die Nahrung zu einer Veränderung der mikrobiellen Zusammensetzung bzw. zu einem Anstieg an *Firmicutes* und *Bacteroidetes* kommt. Auch andere Studien zeigten eine rasche Änderung der Mikrobiota durch Umgestaltungen der Ernährung. [Jumpertz et al., 2011]

Einfluss von Protein auf die Mikrobiota

Die Aufnahme von Proteinen und die mikrobielle Besiedelung des Darms beeinflussen einander und sorgen für einen optimalen Zustand des Darms. Die zugeführten Proteine bestimmen durch ihre unterschiedliche Aminosäurekomposition und Herkunft die Zusammensetzung und Funktionen der Mikrobiota. [Jahan-Mihan et al., 2011] Es

konnte auch bereits gezeigt werden, dass durch einen erhöhten Gehalt an Proteinen tierischer Herkunft, an Fett, sowie einem erniedrigten Gehalt an Ballaststoffen in der Nahrung, weniger kurzkettige Fettsäuren im Stuhl zu finden sind, als bei einer ballaststoffreichen Kost. Außerdem verursacht eine hohe Proteinzufuhr ein erhöhtes Vorkommen von verzweigtkettigen Fettsäuren im Stuhl. [Gratton et al., 2016] Durch ein Überangebot von Protein kommt mehr unverdautes Protein in den Dickdarm, welches von Bakterien abgebaut wird. Außerdem kommt es auch zu erhöhten Werten an Ammoniak im Lumen und im Stuhl, zusätzlich ist mit erhöhten Werten von Indoxylsulfat im Harn und Plasma und von Indoxylglucuronid, Kynurensäure und Chinolinsäure im Harn. Diese Metaboliten werden zum Großteil von den Bakterien im Darm hergestellt. [Portune et al., 2016]

Das Metabolitenprofil, das in direktem Zusammenhang mit der mikrobiellen Besiedelung des Darms steht, wurde mittels ¹HNMR Spektroskopie analysiert und zeigte ähnliche Metaboliten bei den Menschen, Mäusen und Ratten. Sowohl kurzkettige Fettsäuren, als auch verzweigtkettige Aminosäuren und Glutamat, Aspartat und Tyrosin konnten nachgewiesen werden. Den größten Einfluss auf die Zusammensetzung der Metaboliten im Stuhl hatte die Probenherkunft, gefolgt von dem Faktor Alter. Jede Spezies bildete bei der Analyse des Metabolitenprofils einen eigenen Cluster, wobei sich Ratte und Maus ähnlicher waren als die Nagetiere und der Mensch. Die Zusammensetzung des Metaboloms variierte auch innerhalb der Stuhlproben von Menschen recht stark. Durch die weniger variierenden genetischen und umweltbedingten Einflüsse der Labortiere, zeigt sich beim Menschen in einer unkontrollierten Umgebung ein deutlich uneinheitlicheres Bild was die Zusammensetzung der Darmmikrobiota und des Stuhls betrifft. Es zeigte sich kein altersspezifischer, jedoch ein geschlechtsspezifischer Unterschied durch einen niedrigeren Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Stuhl von Frauen. Die menschlichen Stuhlproben waren gekennzeichnet durch ein erhöhtes Vorkommen von Phenylalanin, Alanin, Threonin und verzweigtkettiger Aminosäuren. Bei Mäusen zeigten sich durchaus Unterschiede durch das Alter, denn 53 Tage nach der ersten Probennahme zeigten sich in neuen Proben deutlich niedrigere Gehalte an Aminosäuren, vor allem an Phenylalanin und Tyrosin. Während der Gehalt an Aminosäuren sank, stieg der Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren. [Saric et al., 2008]

Grundsätzlich sind Studien an Mäusen, auf die menschliches Mikrobiom übertragen wurde, schwierig zu beurteilen hinsichtlich der Aussagekraft für den Menschen. Bei der

Übertragung auf den Mäusedarm können nur sehr kleine Mengen des menschlichen Mikrobioms übertragen werden. Die Diversität der kleinen übertragenen Menge ist nicht groß genug, um den Zustand im Menschen widerzuspiegeln. Zusätzlich sind die standardisierten Bedingungen, unter denen die Labormäuse leben, nicht mit denen eines frei lebenden Menschen zu vergleichen. Aussagekräftigere Schlüsse können durch ein Zusammenspiel von Mausstudien und Untersuchungen am Menschen gewonnen werden. [Davenport et al., 2014]

2.3. Stuhl und Trockenmasse

Da Stuhlproben meist der Analyse des Mikrobioms dienen, ist zu beachten, dass durch Oxidation, enzymatische Aktivität und Hydrolyse die DNA von Mikroorganismen in Stuhlproben leicht abgebaut werden kann. Eine adäquate Lagerung und Handhabung der Stuhlproben für Untersuchungen des Verdauungstrakts und der mikrobiellen Besiedelung ist daher unerlässlich, denn die Zeit und die Temperatur, sowie etwaige Temperaturschwankungen haben Einfluss auf den DNA-Abbau. [O'Sullivan et al., 2018] Unter aeroben Bedingungen und Temperaturschwankung kann es zu bakterieller Fermentation kommen, was einen negativen Einfluss auf das Probenmaterial hat. Meist werden die Proben sofort gekühlt oder tiefgefroren und in einigen Studien sogar unter anaeroben Bedingungen gelagert. Zwischen den Vorgehensweisen der Studien besteht selten Homogenität, was die Handhabung und Auswertung von Stuhlproben betrifft. [Karu et al., 2018]

2.3.1. Zusammensetzung von Stuhl

Täglich werden vom menschlichen Körper im Durchschnitt ca. 130 g Stuhl gebildet, welcher aus größeren und kleineren Molekülen besteht. Die Zusammensetzung des Stuhls wird unter anderem von der Ernährungsweise und Verdauung, sowie dem Gesundheitszustand und der bakteriellen Besiedelung bestimmt. [Karu et al., 2018] So kann ein nicht optimaler gesundheitlicher Zustand, wie z.B. bei Diarrhoe, die Proteinverluste über den Stuhl deutlich steigern. Auch die Häufigkeit der Stuhlausscheidung wird von der körperlichen Verfassung und auch von der Menge der aufgenommenen Ballaststoffe bestimmt und hat einen Einfluss auf die Weichheit des Stuhls. Weitere Einflussfaktoren zeigten sich in einer Studie aus dem Jahr 1987, wo die Stuhlfrequenz zwischen den Geschlechtern und Ethnien untersucht wurde. Männer

und hellhäutige Menschen scheiden demnach häufiger Stuhl aus. [Rose et al., 2015; Achour et al., 2007; Silbernagl & Despopoulos, 2012]

Dreiviertel des menschlichen Stuhls besteht aus Wasser, der Rest ist Trockenmasse. Dieser trockene Teil des Stuhls setzt sich aus endogenen und exogenen Proteinen, vom Dünndarm nicht absorbierten und im Kolon nicht fermentierten Nahrungsbestandteilen/Nährstoffen wie z.B. unverdaulichen Fetten, Polysacchariden, außerdem bakterieller Biomasse aus dem Darm, Asche und anderen nicht verdauten Lebensmittelresten, sowie Darmepithelzellen zusammen. Genauer besteht die Trockenmasse zu einem Drittel aus anorganischen Stoffen, zu einem Drittel aus stickstoffhaltigen Stoffen und zu gleichen Teilen Zellulose und Lipide. [Rose et al., 2015; Achour et al., 2007; Silbernagl & Despopoulos, 2012] Außerdem sind in der Feuchtmasse die Elemente Sauerstoff (ca. 75 %), Wasserstoff, Kohlenstoff und Stickstoff (0,7 %) enthalten [Rose et al., 2015]. Werden über 200-250 g Stuhl pro Tag ausgeschieden, oder beträgt die Trockenmasse unter 15 %, spricht man von Durchfall. Meist kann man durch eine visuelle Prüfung des Stuhls abschätzen, ob es sich um eine vom Normalzustand abweichende Konsistenz handelt. [Fischer et al., 2001]

Eine frühe Arbeit aus dem Jahr 1899, die sich mit dem Thema Energiemetabolismus und -verlust beschäftigte ergab, dass etwa 5 % der mit der Nahrung aufgenommenen Energie über den Stuhl und Urin verloren gehen [Atwater & Rosa, 1899]. Hier spielt die Zusammensetzung der Nahrung eine entscheidende Rolle. Werden größere Mengen an Ballaststoffen aufgenommen, kommt es zu größeren Verlusten über den Stuhl. Außerdem scheinen schlanke Menschen im Vergleich zu Menschen mit Übergewicht einen größeren Anteil der aufgenommenen Kalorien über den Stuhl zu verlieren. Die Studie von Jumpertz et al. (2011) beschäftigte sich mit den Energieverlusten über den Stuhl und den Urin in schlanken und übergewichtigen Personen. Zur Vorbereitung wurden die Proben gefriertrocknet und für die Analyse des Energiegehaltes wurde das Bombenkalorimeter benutzt. Vor der Gefriertrocknung (bei -77 °C) wurden sowohl die Lebensmittel- als auch die Stuhl-Proben mit destilliertem Wasser äquivalent zum Probengewicht homogenisiert. Es hat sich gezeigt, dass die individuelle Mikrobiota-Zusammensetzung der drei genommenen Proben sich ähnlicher ist, als die zwischen den Probanden. Auch hier haben sich Unterschiede zwischen schlanken und übergewichtigen Personen hinsichtlich ihrer Mikrobiota-Reaktion auf eine veränderte Diät gezeigt. In schlanken Personen kam es zu einem 20%ig höheren Anteil an *Firmicutes* mit einem geringeren Anteil an *Bacteroidetes* und zu größeren

Stuhlenergieverlusten. Wurden schlanke Personen überernährt kam es zu einem Rückgang der Verluste. Es wird angenommen, dass das Verhältnis von Überernährung zu Gewichtserhaltungsbedarf mit der Effizienz der Nährstoffabsorption zusammenhängt. [Jumpertz et al., 2011]

In einer Studie zum Thema Restmakronährstoffe im Stuhl wurde die Nährstoffaufnahme von 25 gesunden Erwachsenen aus der Gesundheitsbranche über vier Tage erhoben. Der Stuhl der letzten drei Tage wurde gesammelt, gewogen, homogenisiert und gekühlt gelagert. Der feuchte Stuhl wurde auf das Vorhandensein von Makronährstoffen untersucht und angenommen, dass der gesamte Stickstoff im Stuhl vom Protein kommt. Zusätzlich wurden die Proben gefriergetrocknet und mit einem Bombenkalorimeter analysiert. Im Durchschnitt nahmen Männer 93 g/d und Frauen 72 g/d Protein auf. Es zeigte sich, dass die Absorptionskapazität für Energie von Männern mit fast 92 % signifikant höher lag als bei Frauen mit 88 %. Ein ähnliches, jedoch nicht signifikantes Bild zeichnete sich auch für Kohlenhydrate und Fett ab. Die Stuhlproben wiesen eine durchschnittliche Trockenmasse von etwa 30 % auf, wobei diese ebenso wie die Restenergiemenge von Frauen höher war als die von Männern. Der Beitrag von Protein zum Gesamtenergiegehalt des Stuhls betrug 20 %. Zwischen den Geschlechtern zeigte sich kein Unterschied bezüglich der Nährstoffverluste, die positiv mit der Stuhlproduktion korrelierten. Protein konnte im Durchschnitt zu 87 % aufgenommen werden, ähnlich wie Kohlenhydrate; Fett konnte zu über 92 % absorbiert werden. Es wurde hier auch herausgestrichen, dass ähnliche Studien bezüglich der Zusammensetzung des Stuhls und der Trockenmasse ein annähernd übereinstimmendes Bild zeigten. In dieser Studie zeigte sich jedoch nach Analyse der Stickstoffgehalte ein Under-Reporting bezüglich der Proteinaufnahme, was auf die sehr niedrige Angabe einer Frau zurückzuführen war. [Wierdsma et al., 2013]

2.3.2. Stickstoff

Eine ausgeglichene Stickstoff-Bilanz ist gegeben, wenn die mit der Nahrung zugeführte Menge mit der über Urin, Stuhl und Haut ausgeschiedenen Stickstoff-Menge übereinstimmt [Biesalski & Grimm, 2011]. Der Stickstoff im Stuhl kommt von unverdaulichem Protein aus der Nahrung, Nukleinsäuren, Protein aus Bakterien, toten Zellen der Darmschleimhaut und Sekret aus Schleimdrüsen. Über 5 % der Stuhltrockenmasse können aus Stickstoff bestehen. [Rose et al., 2015] Nach Oxidation der organischen Matrix lässt sich Stickstoff leicht bestimmen und in Protein umrechnen [Biesalski & Grimm, 2011]. Die Ausscheidung von stickstoffhaltigen Verbindungen

erfolgt in der Regel über den Urin [Löffler & Schlömerich, 2008]. Durch eine erhöhte Zufuhr von Ballaststoffen kommt es durch die Bindung von Ammoniak zu einer erhöhten fäkalen Stickstoffausscheidung und somit zu einer Entlastung der Leber und der Nieren [Biesalski & Grimm, 2011]. Die Berechnung des Proteingehalts lässt sich mittels Jones' Faktor aus dem Stickstoffgehalt berechnen. Dazu wird der Multiplikationsfaktor 6,25 herangezogen, er basiert auf dem Durchschnittsgehalt an Stickstoff in Proteinen. [Rose et al., 2015]

Schweine sind Allesfresser und stellen durch ihr einfaches Verdauungssystem ein gutes Modell für die menschliche Verdauung dar. Deshalb werden auch für Studien, die die Proteinverdauung untersuchen, öfters Schweine herangezogen und Schlüsse auf die Vorgänge beim Menschen gezogen. Ratten werden auch gerne benutzt, sind jedoch für Studien des Verdauungstrakts nicht so geeignet, da z.B. die Verdaulichkeit von Aminosäuren im Ileum überschätzt wird. [Moughan & Rutherford, 2012] Patráš et al. (2015) zeigten anhand einer Schweinestudie, dass eine erhöhte Proteingabe die Stickstoffausscheidung signifikant von Urin auf Stuhl verschiebt. So konnte in der „High Protein High Fibre“-Gruppe dieser Studie die Stickstoffausscheidung um 34 % im Vergleich zur „Low Protein“-Gruppe gesteigert werden, dadurch stieg der Stickstoffgehalt im Stuhl auf 20,7 %. Es konnte ein Zusammenhang zwischen dem Stickstoffgehalt im Stuhl, im Urin sowie gesamt und der Stickstoff-Aufnahme über die Nahrung gezeigt werden. [Patráš et al., 2009] Folglich hat das mit der Nahrung aufgenommene Protein einen Einfluss auf den Anteil an Protein im Stuhl und auch die Proteinart spielt eine entscheidende Rolle, denn nicht jedes Protein wird gleich effizient metabolisiert. Das führt zu einer Schwankungsbreite der Verdauungsrate zwischen 69 und 93 %. [Rose et al., 2015] Generell werden die in Fleisch vorkommenden Proteine über den gesamten Verdauungsweg effizient und schnell verdaut und zeigen eine hohe wahre Verdaulichkeit [Bax et al., 2013], noch besser verdaulich ist nur das Kasein der Milch. Proteine pflanzlicher Herkunft hingegen werden weniger effizient verdaut [Dallas et al., 2017].

2.3.3. Die Stuhltrockenmasse

Die Trockenmasse macht etwa ein Viertel des Stuhls aus und besteht zu 90 % aus organischen Stoffen. Dieser organische Teil besteht wiederum etwa zur Hälfte aus Proteinen, zu einem Viertel aus Kohlenhydraten und nicht verdaulichen Pflanzenstoffen, außerdem aus anderen stickstoffhaltigen Verbindungen und Fetten. Die Zusammensetzung unterliegt einer großen Schwankungsbreite, da sie von der

Ernährung und der Bioverfügbarkeit der Nährstoffe beeinflusst wird. Sowohl die Nahrungsaufnahme und das Körpergewicht haben Einfluss auf das Gewicht des ausgeschiedenen Stuhls, als auch das Geschlecht und das Alter. Außerdem scheint die Ethnie eine Rolle zu spielen, was sich hauptsächlich durch die unterschiedlichen Ernährungsweisen in verschiedenen Kulturkreisen erklären lässt. [Rose et al., 2015]

Ein wesentlicher Bestandteil der Nahrung, der einen großen Einfluss auf die Trockenmasse hat, sind Ballaststoffe. Durch die hohe Wasserspeicherkapazität steigen das Stuhlvolumen und die Stuhlfrequenz. Auch lösliche Ballaststoffe können zu einer erhöhten Trockenmasse führen, denn durch das Vorhandensein von fermentierbaren Stoffen wird die Produktion von fermentierenden Bakterien stimuliert und die Bakterienmasse erhöht. Die Bakterienmasse ist eher weich, voluminös und wasserspeichernd; sie macht über 50 % der Stuhltrockenmasse aus. Eine hohe Ballaststoffaufnahme kann die Trockenmasse auch reduzieren, weil nicht lösliche Fasern Wasser im Darm binden. Reddy et al. (1998) zeigten, dass Vegetarier im Vergleich zu Personen, die weniger Ballaststoffe und mehr Protein konsumieren, eine geringere Trockenmasse haben. Durch einen hohen Ballaststoffanteil in der Nahrung ist die Transitzeit kürzer und die Trockenmasse erniedrigt, während der Wassergehalt erhöht ist. [Rose et al., 2015] Eine Studie aus Thailand untersuchte den Einfluss des Alters auf die Trockenmasse des Stuhls. Demnach scheiden ältere Menschen tendenziell mehr Wasser als jüngere aus. Ein Vergleich ähnlicher Studien aus unterschiedlichen Regionen der Welt legt den Schluss nahe, dass die Menge an Stuhl überall annähernd gleich ist, es jedoch Unterschiede bezüglich der Trockenmasse gibt. [Schouw et al., 2002] Außerdem können Krankheiten die Zusammensetzung des Stuhls und somit auch den Trockenmasseanteil verändern [Rose et al., 2015]. Werden zunehmend größere Mengen an Stuhl ausgeschieden, steigt proportional dazu auch der Wasseranteil im Stuhl, während die Trockenmasse sinkt [Wenzl et al., 1995].

Schweine werden häufig mit Soja gefüttert, das fast zur Hälfte aus Protein besteht, außerdem zu 6 % aus Oligosacchariden und zu einem etwas geringeren Teil aus Ballaststoffen besteht. Grahofer et al. (2016) untersuchten die Veränderung u.a. der Stuhltrockenmasse vor und nach der Fütterung mit Soja an Schweinen unterschiedlichen Alters zu drei Messzeitpunkten. Die Tiere wurden geclustert in jene mit einem Alter von unter 100 Tagen und jene mit einem Alter von über 100 Tagen. Durch die Gabe von Sojafutter sank die Trockenmasse der jüngeren Schweine, während sich zum Messzeitpunkt 2 in der Gruppe der älteren Tiere ein signifikanter

Anstieg der Trockenmasse zeigte. Bei den älteren Schweinen wurde mehr Wasser im Dickdarm aufgenommen, was eine mögliche Erklärung für die höhere Trockenmasse in der Gruppe der Tiere mit einem Alter von über 100 Tagen ist. [Grafofer et al., 2016]

Eine weitere Studie an trächtigen Schweinen untersuchte die Auswirkungen des Futters, der Fütterungsart, der Wasseraufnahme und der Bewegung auf die Stuhltrockenmasse. Die genommenen Stuhlproben wurden hier nicht gefriergetrocknet, sondern im Ofen bei 60 °C einen ganzen Tag und bei 103 °C einen weiteren Tag lang getrocknet. Die Trockenmasse der Schweine mit eingeschränktem Nahrungszugang lag immer über der der Tiere mit beschränktem Zugang und stieg deutlich ab dem Tag der Geburt an. Ein gegensätzliches Bild zeigte sich bezüglich der Stuhlfrequenz, die bei den ad libitum fressenden Tieren höher lag und ab der Geburt sank. Mit steigendem Rohfasergehalt des Futters (bis zu 10 %) nahm die Trockenmasse deutlich ab. Durch die Zugabe von Sojabohnen und Hafer zu den Gerste-Mahlzeiten wurde der Ballaststoffgehalt auf 10 % erhöht, dadurch wurde der Trockenmassegehalt gesteigert. Die Gabe von fermentierbaren Ballaststoffen in Form von Zuckerrüben reduzierte die Stuhltrockenmasse wieder. Dieses Ergebnis kann auf die unterschiedliche Ballaststoffart und die unterschiedliche Verdaulichkeit zurückgeführt werden. Ein niedriger Trockenmassegehalt vor der Geburt führte zu mehr Lebendgeburten, als ein erhöhter Trockenmassegehalt. [Tabeling, Schwier & Kamphues, 2003]

2.3.4. Stuhlproben

Die ersten Stuhlanalysen fanden bereits vor mehreren tausend Jahren unter anderem im alten Griechenland, Ägypten und in China statt. Hier wurden der Geruch und das Aussehen analysiert und Schlüsse auf den Gesundheitszustand und die Ernährungsweise der Person gezogen. Heute gibt es exakte Methoden um spezifische Parameter zu bestimmen und genaue Aussagen zu treffen. [Karu et al., 2018]

Die Probennahme und -handhabung von Stuhl sind nicht einheitlich, was die Beurteilung schwierig macht. Außerdem führt die fehlende Homogenität der Stuhlproben selbst [O'Sullivan et al., 2018] und die ungewisse Haltbarkeit zu verzerrten Resultaten, was die Bewertung von Stichproben zusätzlich erschwert [Hsu et al., 2019]. Deshalb ist ein durchdachter Umgang mit derartigen Proben umso wichtiger. In Stuhlproben sind Enzyme und Zellen des Körpers enthalten, welche durch äußere Umstände wie Sauerstoffeinfluss und die Temperatur leicht beeinflusst werden können. [Gratton et al., 2016] Bei der Probennahme zu Hause ist darauf zu achten, dass die Stuhlprobe nicht in Berührung mit Urin oder Toilettenwasser kommt, da dies das

Ergebnis beeinflussen würde [Wu et al., 2019]. Generell sollten Stuhlproben nach der Entnahme so schnell wie möglich im Labor weiterverarbeitet bzw. untersucht werden. Ist es nicht möglich, die Proben ohne Auftauen von zu Hause innerhalb eines Tages ins Labor zu bringen, wird empfohlen die Proben bei mindestens -20 °C zu Hause einzufrieren. [Gratton et al., 2016] Vor allem bei jenen Proben, die der Mikrobiomanalyse dienen, ist zu beachten, dass die Kühlkette nicht unterbrochen wird und durchwegs Temperaturschwankungen vermieden werden. Wird dies nicht eingehalten, kann es vermehrt zu DNA-Verlusten kommen. [Wu et al., 2019] Im Zuge einer Versuchsreihe wurden unterschiedliche Lagerungstemperaturen und eine unterschiedliche Lagerungsdauer auf Stuhlproben angewandt. Nach einem ganzen Tag waren im Vergleich zu 8 Stunden bei Raumtemperatur deutliche mikrobielle Verluste zu verzeichnen. [Gratton et al., 2016]

Die Lagerung von Stuhlproben erfolgt heute üblicherweise, wenn möglich sofort nach der Probennahme bei -80 °C, -40 °C, -20 °C im Gefrierschrank oder durch Frieren mittels flüssigem Stickstoff [Deda et al., 2015].

Stuhlproben werden häufig von wilden Tieren genommen, da diese gut verfügbar, einfach zu bekommen und soweit unbeeinflusst sind. Auf diese Weise können interindividuelle und zeitliche Veränderungen von verschiedenen Parametern beobachtet werden. Um die Frage, welchen Einfluss die Handhabung bzw. die Konservierungs- und Analysemethode auf die Stuhlproben haben, zu beantworten, wurde eine Studie an Wildtieren durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass die unterschiedlichen Methoden (sofortiges Einfrieren, Gefriertrocknung, Lagerung in Ethanol, Lagerung in RNAlater) der Haltbarmachung die individuelle Charakteristik der Proben nicht stören und es konnte keine Beeinflussung der Alpha- und Beta-Diversität der Mikrobiota nachgewiesen werden. [Blekhman et al., 2016]

Die Studie von Hsu et al. beschäftigte sich mit der Frage, wie sich die Gefriertrocknung und unterschiedliche Lagerungsformen auf die Stabilität von kurzkettigen Fettsäuren in Stuhlproben auswirken. Es wurden die Lagerung von homogenisiertem und gefriergetrocknetem Stuhl, rohem Stuhl und Fäkalwasser getestet, dabei lag die Temperatur bei 4 oder -20 °C. Es zeigte sich, dass die Gefriertrocknung am besten für einen langen Erhalt der kurzkettigen Fettsäuren ist und es kam zu keinen signifikanten Verlusten weder während des Prozesses noch während der Lagerung. Jedoch war der Zeitaufwand bei dieser Art der Trocknung relativ groß. [Hsu et al., 2019]

Auch die Mikrowelle wird zur Trocknung von Stuhlproben herangezogen und in einer Studie an Schweinen von Pedersen und Kollegen untersucht und zeigte eine gute Reproduzierbarkeit. Es gab in dieser Studie keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Trocken- und der Feuchtmasse der Stuhlproben. Ein Nachteil der Mikrowellenmethode zeigte sich in der Verzerrung der Ergebnisse durch die ungleichmäßige Temperaturverteilung und die nicht ganz homogenen Proben, was die Relevanz einer guten Homogenisierung herausstreicht. Es wurde auch diese Methode mit der Gefriertrocknung verglichen, wobei sich keine großen Unterschiede zeigten. Die Gefriertrocknung ergab etwas höhere Trockenmassegehalte. Je höher die Trockenmasse war, desto weiter entfernten sich die Ergebnisse der Methoden voneinander. Durch die hohen Temperaturen bei dem Mikrowellenverfahren kann es zu einem Trockenmasseverlust kommen, was eine mögliche Erklärung für die Unterschiede zwischen den Methoden ist. Jedoch kann bei der Gefriertrocknung nicht immer das gesamte Wasser entfernt werden, und der Wassergehalt steigt mit der Trockenmasse. [Pedersen, Stege & Nielsen, 2011]

2.4. Gefriertrocknung

Die Haltbarmachung von unterschiedlichen Stoffen ist seit der frühesten Menschheitsgeschichte ein Thema. Im alten Ägypten wurden durch das Balsamieren von Leichen Mumien hergestellt. Diese Methode bewirkte einen Wasserentzug, wodurch die lange Haltbarkeit erreicht werden konnte. Auch die Inuit machen Fisch durch Trocknung im nördlichen Klima, das sich durch Kälte und Trockenheit auszeichnet, haltbar. Ähnlich handhaben es auch die Einwohner der Anden beim Tomatentrocknen. Ob durch die Anwendung von trocknenden Substanzen, oder durch extreme Temperaturen, die Basis der Haltbarmachung ist der Entzug von Wasser. [Corver, 2009]

Bereits 1890 wurde eine sehr frühe Entwicklungsstufe der Gefriertrocknung auf Geweben biologischen Ursprungs angewandt. Bald wurde auch ein System mit einer Pumpe entwickelt, um ein Vakuum zu erzeugen. Besonders wichtig wurde die Anwendung der Gefriertrocknung in großem Stil während des Zweiten Weltkriegs für die Trocknung von Plasma und Penizillin. Etwa 10 Jahre später wurde schon an der Gefriertrocknung von Lebensmitteln und pharmazeutischen Produkten gearbeitet [Corver, 2009], z.B. auch bei der Entwicklung des Antibiotikums [Kett, McMahon &

Ward, 2004]. Jedoch wurden aufgrund des hohen Ressourcenaufwands vorerst noch andere Methoden bevorzugt. Im Laufe der Zeit konnte die Gefriertrocknung weiterentwickelt und optimiert werden. So gibt es heutzutage unterschiedliche zusätzliche Messgeräte unter anderem für die Temperatur und das Ende der Sublimationsphase, die zu einer Weiterentwicklung und Optimierung des Prozesses beitragen. Jedoch ist noch viel Raum für Verbesserung, da derzeit noch eine große Menge an Energie aufgewendet werden muss, um eine Gefriertrocknung durchzuführen und auch bei der Effizienz der Temperaturübertragung des Kondensators noch optimiert werden kann. [Corver, 2009]

Die Gefriertrocknung dient heute hauptsächlich zur Haltbarmachung und Gewichtsreduktion von unterschiedlichen Stoffen bei niedrigen Temperaturen und niedrigem Umgebungsdruck bzw. Vakuum durch Sublimierung des enthaltenen Wassers [Lewis et al., 2016]. Diese Methode gilt als Standard bei der Analyse von Proben biologischen Ursprungs, bei der die Proteinfunktion und -struktur erhalten bleiben soll, aber das Wasser zur Haltbarmachung komplett entfernt wird [Fischer et al., 2001].

Eine vollständige Entfernung des Wassers ist definiert durch einen Restwasseranteil von maximal 1 %. Die Temperatur während der Gefriertrocknung führt zu einer Erhöhung der Konzentration der gelösten Stoffe. Dabei spielt die Probenkonzentration am Beginn der Trocknung keine Rolle [Franks, 1998], viele Proben, so auch die Stuhlproben der „NutriAging“ Studie, werden zuvor aber dennoch verdünnt.

Prinzip

Die Gefriertrocknung beruht auf dem Prinzip der Sublimation (siehe Abbildung 1). Die Sublimation ist jener Vorgang, bei dem ein Feststoff (in diesem Fall Eis) ohne zu schmelzen direkt in die Gasphase (Dampf) übergeht. Dadurch kann die Struktur der Probe erhalten bleiben. [Corver, 2009] Für einen Phasenübergang dieser Art müssen einige Voraussetzungen gegeben sein. Die Temperatur der festen Phase muss unter dem Tripelpunkt und der Partialdruck des Dampfes muss unter dem Sättigungsdruck liegen. [Reitzle et al., 2019]

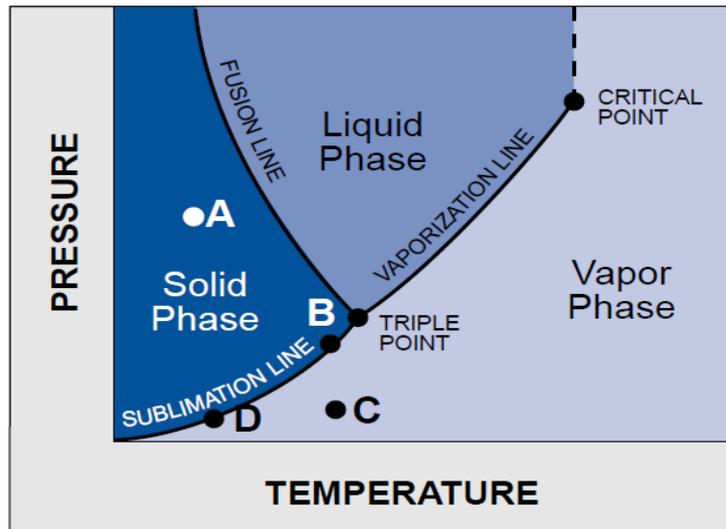


Abbildung 1: Phasendiagramm [Labconco, 2004]

2.4.1. Aufbau des Geräts

Für die Trocknung wird ein Vakuumsystem benötigt, das je nach Größe des Gefriertrockners aus mindestens einer zweistufigen Rotationspumpe besteht. Ein Kondensator befindet sich entweder in oder hinter der Trocknungskammer und wird durch eine Kühlflüssigkeit im Inneren einer Spule oder Platten gekühlt (siehe Abbildung 3). Seine Aufgabe ist es, das Wassers während des ersten Trocknungsschrittes durch Sublimation zu entfernen. [Deepak & Iqbal, 2015]



Abbildung 2: Gefriertrockner „FreezeZone 2.5“ der Firma Labconco (eigenes Bild)

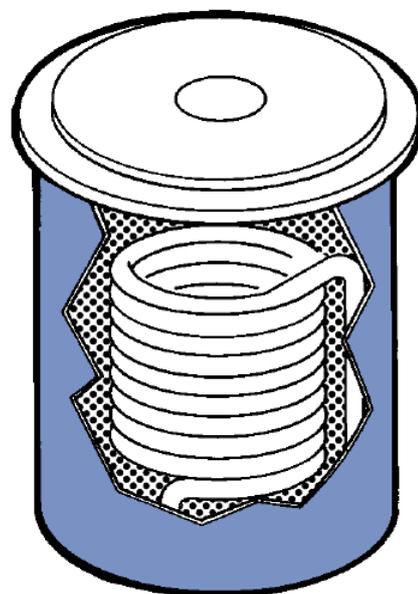


Abbildung 3: Kondensatorspule [Labconco, 2004]

2.4.2. Methode

Für ein optimales Ergebnis und einen effizienten Gefriertrocknungsprozess können Vorbereitungsschritte notwendig sein. Dazu gehören z.B. die Veränderung der Zusammensetzung oder die Vergrößerung der Probenoberfläche. [Deepak & Iqbal, 2015] Wie schnell die Sublimation erfolgt, ist unter anderem von der freien Oberfläche, der Struktur bzw. der Dichte und der Dicke der Probe abhängig. Durch Maximierung der Probenoberfläche geht die Sublimation schneller vonstatten. Das Gefriergut wird je nach Beschaffenheit in Schalen, Fläschchen oder anderen Behältnissen in den Gefriertrockner gestellt. [Franks, 1998]

Der Gefriertrocknungsprozess besteht aus einer Einfrierphase und zwei Trocknungsschritten und dauert je nach Beschaffenheit der Probe und Effizienz des Prozesses unterschiedlich lange. [Deepak & Iqbal, 2015]

Einfrierphase

Das Einfrieren bei Normaldruck ist eine wichtige Phase, die die Qualität und Porosität des Endprodukts mitbestimmt. Dabei haben Temperatur und Geschwindigkeit einen großen Einfluss auf die Größe der entstehenden Eiskristalle und somit auf die Struktur des Endprodukts. Die Größe der Eiskristalle sinkt mit steigender Geschwindigkeit des Einfrierprozesses, was den Trocknungsprozess schwieriger macht. Eine recht langsame Kühlung von 0,5 °C pro Minute wirkt sich eher nachteilig auf das Gefriergut aus und kann in empfindlichen Proben, die zur Phasentrennung neigen, zum Proteinabbau führen. Das beste Ergebnis wird mit einer mittleren Kühlgeschwindigkeit von 1 °C pro Minute erreicht. Bei dieser Geschwindigkeit kommt es zu einer homogenen Verteilung von Eiskristallen und einer kurzen Gefrierdauer. [Deepak & Iqbal, 2015] Außerdem werden die Proben durch ihre teilweise recht unterschiedliche Beschaffenheit bzw. Zusammensetzung nicht alle gleichzeitig gefroren. Das kann zu Temperaturunterschieden von bis zu 3 °C um den Durchschnittswert und später durch unterschiedliche Eiskristallbildung zu abweichenden porösen Strukturen führen. Diese Unterschiede ziehen veränderte Trocknungsraten mit sich. [Franks, 1998]. Auch innerhalb der Probe gefriert nicht alles gleichzeitig. Beim Einfrieren einer Suspension kommt es durch das Frieren des Wassers zur Konzentration der gelösten Stoffe. Diese Regionen mit hoher Konzentration an gelösten Stoffen gefrieren erst bei niedrigeren Temperaturen. Das Lösungsmittel mit den konzentrierten Stoffen bildet das Eutektikum, welches vollständig gefroren sein muss, damit die Suspension als Ganzes

gefroren ist und die eutektische Temperatur anzeigt. Um ein optimales Ergebnis zu erhalten, muss alles gefroren sein bevor die Gefriertrocknung startet. Ferner gibt es noch Suspensionen, die beim Kühlen dickflüssig, glasartig oder fest werden, was das Einfrieren erschwert. [Labconco, 2004] Während dieser Phase entstehen Spannungen durch reduzierte hydrophobe Wechselwirkungen, Grenzflächen durch die Bildung von Eiskristallen und veränderte Aggregatzustände; auch das Vorhandensein von Hilfsstoffen unter anderem für pharmazeutische Produkte spielt hier eine Rolle. [Deepak & Iqbal, 2015] Durch das Einfrieren ist die Konzentration der Probe gestiegen und die Vorbereitung für den ersten Trocknungsschritt erfolgt. Zur Vorbereitung für die sogenannte Primärtrocknung wird die Temperatur also zuerst auf etwa -40 °C gesenkt. [Patel, Doen & Pikal, 2010].

Glühphase

Dieser Schritt ist nicht immer nötig und kommt nur zum Einsatz wenn die Gefahr besteht, dass Komponenten während der Gefrierphase nicht kristallisieren. Dies kann im Laufe der ersten Trocknungsphase zu Schäden an den Probengefäßen führen. Die Temperatur wird dafür nicht ganz so tief wie bei der Gefrierphase gesenkt, sie sollte zwischen der Glasübergangstemperatur und der eutektischen Temperatur des Lösungsmittels liegen. Ziel ist es, durch das Glühen eine maximale Kristallisierung zu erreichen und so auch eine verlängerte erste Trocknungsphase zu vermeiden. [Deepak & Iqbal, 2015]

Primärtrocknung

In der ersten Trocknungsphase soll das gesamte entstandene Eis sublimiert werden, d.h. direkt vom festen in den gasförmigen Zustand übergeführt werden. Abhängig von der Beschaffenheit der Probe wird der Trocknungsvorgang beeinflusst. Um ein Produkt mit minimalem Wassergehalt und optimaler Struktur zu erhalten, müssen Druck und Temperatur richtig geregelt werden. Zuerst wird der Kondensator je nach Gerät auf eine Temperatur zwischen etwa -50 und -80 °C gekühlt und sollte dann etwa 20 °C unter der Probentemperatur liegen. Ist die Produkttemperatur sehr niedrig, dauert der erste Trocknungsschritt länger und auch der Kondensator muss stärker gekühlt werden. [Labconco, 2004] Eine Temperaturerhöhung der Probe um 1 °C verkürzt die erste Trocknungsphase um über 10 %. Weiter als auf -15 °C sollte die Temperatur der Probe jedoch nicht gesteigert werden, da der Gefriertrockner ab diesem Punkt überlastet sein kann. [Deepak & Iqbal, 2015] Nach der Temperaturreduktion ist meist noch zwischen 15-20 % flüssiges Wasser in der Probe vorhanden [Patel, Doen & Pikal,

2010]. Nun beginnt der Sublimationsvorgang bzw. der erste Schritt der Trocknung, der die entstandenen Eiskristalle entfernen soll. Über eine Vakuumpumpe wird eine Senkung des Drucks bis unter den Triplepunkt von Wasser bewirkt. An diesem Punkt findet die Sublimation statt. [Corver, 2009] Je niedriger der Druck bei einer bestimmten Proben temperatur in der Trocknungskammer ist, desto mehr Eis kann pro Stunde sublimiert werden [Deepak & Iqbal, 2015]. Das Wasser wird am Kondensator durch den hier herrschenden niedrigen Partialdruck des Wasserdampfs kondensiert [Corver, 2009]. Dafür muss der Kondensator deutlich kühler sein als die Probe. Die Gase, die nicht kondensiert werden können, werden durch die Vakuumpumpe verdichtet und abgeführt. [Labconco, 2004; Deepak & Iqbal, 2015] Das Anlegen des Vakuums beeinflusst die Trocknungsrate, jedoch nicht das Sublimationsausmaß. [Franks, 1998] Für die Sublimation von 1 g Wasser muss 10-mal mehr Energie aufgewandt werden, als für das Einfrieren der gleichen Menge [Labconco, 2004]. Zusätzlich erfolgt eine Erhöhung der Temperatur, bei der die Probe jedoch noch gefroren bleibt, eutektische Verhältnisse herrschen [Corver, 2009] und der Probendampfdruck so hoch wie möglich gehalten wird [Labconco, 2004]. Im Detail bewirkt der Temperaturanstieg einen logarithmischen Anstieg des Dampfdrucks in der Probe und aufgrund der Differenz des Partialdrucks zwischen Probenoberfläche und des Kondensators kommt es zum Abscheiden des Wassers. Bei hohen Sublimationstemperaturen erfolgt die Trocknung also besonders effizient, wobei die Temperatur vom Probengut abhängig ist. Wie schnell die Sublimation erfolgt, ist zusätzlich von der freien Oberfläche, der Struktur bzw. der Dichte und der Dicke der Probe abhängig. Durch Maximierung der Probenoberfläche geht die Sublimation schneller vonstatten. [Franks, 1998] Die Wassermoleküle haben so eine größere Fläche zur Verfügung, über die sie aus der Probe treten können. Während die Trocknung am Anfang noch recht einfach und schnell geht, wird es mit Fortschreiten des Prozesses immer schwieriger, da die Trocknungsfront immer weiter sinkt. Der Weg der Wassermoleküle an die Oberfläche wird folglich länger. [Labconco, 2004] Diese Diffusion der Wassermoleküle aus dem Eis in Form von Dampf ist die Ursache dafür, dass der Vorgang recht lange dauert [Deepak & Iqbal, 2015]. Nachdem das gefrorene Wasser entfernt wurde und die Primärtrocknung abgeschlossen ist, nimmt das Produkt die Umgebungstemperatur an [Labconco, 2004]. Während der Sublimation geht Energie in Form von Wärme verloren und muss durch ständige Zufuhr von Wärme ausgeglichen werden [Deepak & Iqbal, 2015]. Das nun übrige Lyophilisat ist sehr porös und brüchig und kann sehr leicht durch äußere Einflüsse, wie z.B. Hitze, zerstört werden. [Franks, 1998]

Kollaps

Für jede Substanz gibt es eine kritische Temperatur, bei der es zu einem Kollaps kommt, z.B. -31 °C bei Saccharose. Selbst bei Trocknungen unter dem eutektischen Punkt muss bei der Erhöhung der Temperatur während der Sublimationsphase die kritische Temperatur unterschritten werden. Die Folge eines Kollapses sind Defekte der Struktur. [Labconco, 2004]

Sekundärtrocknung

Nach Beendigung der Sublimationsphase (Primärtrocknung) beträgt der Gehalt an gebundenem Wasser meist noch mehr als 5 % bzw. laut Labconco 7-8 %. Diese Menge an Wasser ist zu viel, um eine erhöhte Lagerungsstabilität garantieren zu können. Deshalb folgt eine zweite Trocknungsphase, zu Beginn derer sowohl der Druck als auch die Temperatur des Kondensators gleich bleiben. [Corver, 2009; Labconco, 2004] Um das gebundene Restwasser zu entfernen, wird die Temperatur während der zweiten Trocknung langsam weiter erhöht, aber noch unter der kritischen Temperatur der Probe, um einen Kollaps zu vermeiden. Kristalline Proben können ohne Gefahr eines Kollapses schneller einer Temperaturerhöhung zugeführt werden. Dieser Vorgang wird als „Isotherme Desorption“ bezeichnet und soll einen Restwassergehalt von maximal 1 % bewirken. Die Dauer der zweiten Trocknungsphase ist unter anderem abhängig von der Probenkonzentration; ist diese recht hoch dauert der Vorgang länger. [Deepak & Iqbal, 2015] Allgemein dauert die Sekundärtrocknung maximal die halbe Zeit der ersten Trocknungsphase [Labconco, 2004].

Die Trocknungsrate ergibt sich aus der Division des Massenverlusts durch die Trocknung in den einzelnen Stadien mit dem Wassergehalt vor der Trocknung. Von diesem Startwassergehalt wird die Trocknung entscheidend beeinflusst und verläuft demnach nicht bei jeder Probe gleich. Bei jeder Temperatur zeichnen sich Plateauphasen der Trocknungsrate durch die Grenzen der Diffusionsfähigkeit ab. [Franks, 1998]

Durch Lenkung einzelner Parameter am Gefriertrockner selbst, dessen Ausstattung, der Probe und der Gefriertrocknereinstellungen kann die Trocknung optimiert werden. Heutzutage gibt es auch schon Geräte, bei denen es keine ständige Überwachung der Temperatur und anderer Parameter durch Personen bedarf. Die neuen Gefriertrockner arbeiten automatisch, wodurch durch Menschenhand verursachte Fehler minimiert werden können. Durch eine solche Automatisierung der Beladung und des Transfers,

sowie durch saubere Handhabung und Reinigung können Verunreinigungen vermieden werden. [Mayeresse et al., 2007] Eine nicht optimierte Gefriertrocknung kann einen erhöhten Zeit- und Energieaufwand verursachen. Auch an den Grenzen zwischen Eis und Wasser kann es bei nicht optimierten Prozessen, durch Kälteschock, durch pH-Wert Veränderungen im Zuge des Einfrierens und während der Trocknungsphase zu negativen Beeinflussungen und Denaturierungen kommen. [Lale, Goyal & Bansal, 2011] Der Gefriertrockner sollte mit Dampf mehrmals sterilisiert werden und es sollten regelmäßig Wartungen und Kalibrierungen durchgeführt werden [Mayeresse et al., 2007].

Bei der Gefriertrocknung gibt es außerdem unterschiedliche Anwendungsmöglichkeiten und Gerätetypen, die wie folgt eingeteilt werden können:

Verteiler Trocknung

Bei dieser Methode wird jede bereits eingefrorene Probe einzeln an einen Verteiler oder direkt an die Gefriertrockenkammer angeschlossen und rasch ein Vakuum angelegt, damit die Verdunstungskühlung starten kann. Die Probe darf nicht zu temperaturempfindlich sein bzw. sollte eine kritische Temperatur im höheren Bereich haben. Bei dieser Art der Gefriertrocknung können keine besonders großen Mengen getrocknet werden, da viele recht kleine Kammern an den Kondensator angeschlossen sind und jede Probe eine direkte eigene Verbindung hat. Durch den individuellen Zugang jeder Probe wird der Molekülübergang erleichtert und es können auch Proben mit unterschiedlichen Bedürfnissen zu gleichen Zeit getrocknet werden. [Labconco, 2004]

Batch-Trocknung

Auch bei dieser Methode werden die Proben für gewöhnlich zuvor tiefgefroren. Es werden hier mehrere Proben, die sich in Menge und Zusammensetzung bzw. Herkunft ähnlich sind, in gleichen Probenbehältnissen nebeneinander im Gefriertrockner platziert. Im Großen und Ganzen wirken die gleichen Einflüsse auf jede Probe, aber durch unterschiedliche Lichteinflüsse oder Verglasungen, die die Temperatur erhöhen, kann es zu kleinen Abweichungen und zu Trocknungsunterschieden kommen. Einsatz findet diese Methode häufig bei der Herstellung von pharmazeutischen Produkten. [Labconco, 2004]

Bulk-Trocknung

Auch bei dieser Methode werden größere Mengen gefriergetrocknet, jedoch wird das Produkt in ein großes Gefäß gegeben und als Gesamtheit getrocknet. Es wird eine Art Pfanne verwendet, die eine große Probenoberfläche und eine geringe Dicke ermöglicht. Dennoch wird mehr Zeit benötigt als beim Batch-Verfahren, weil es keine Zwischenräume gibt. Dadurch wird die Temperatur zuerst nur auf die Randbereiche übertragen. Die Bulk-Methode eignet sich für Proben, die gegenüber Sauerstoff und Feuchtigkeit unempfindlich sind. [Labconco, 2004]

2.4.3. Das Gefriertrocknungsprodukt

Um die Trockenmasse einer Probe zu bestimmen wurde früher das Probenmaterial im Ofen getrocknet, dabei wurde das verlorene Gewicht als Wasser und der getrocknete Rest als Trockenmasse angenommen. Diese Methode ist für sehr feuchte Proben bzw. fermentierte Substanzen nicht genau genug, da flüchtige Substanzen fälschlicherweise als Wasser gerechnet werden. Bei hohen Temperaturen denaturieren auch Proteine, die dabei flüchtige Substanzen freisetzen können und es kann zu unerwünschten Oxidationen kommen, die das Gewicht erhöhen und die chemische Zusammensetzung der Probe stark beeinflussen. [Aerts et al., 1974] Außerdem führen Temperaturen ab etwa 30 °C zu strukturellen, optischen und funktionellen Veränderungen des Produkts [Labconco, 2004]. Abhängig von der Zeit, der Temperatur und den Umgebungsbedingungen kann Trockenmasse verloren gehen. Zwar gibt es mittlerweile effiziente Systeme zur Ofentrocknung, jedoch zeigte bereits ein in den 1970ern durchgeführte Studie mit Grünfütter und Silage-Proben, dass die Gefriertrocknung das Wasser effizienter entfernen kann als die Ofentrocknung. Auch einige nachfolgende Studien konnten dieses Ergebnis bestätigen. [Aerts et al., 1974]

Im Vergleich zu anderen Trocknungsmethoden erlangt das Produkt nach der Gefriertrocknung bei der Rehydrierung die ursprünglichen sensorischen Eigenschaften und Funktionen wieder zurück [Corver, 2009]. Die Trocknungsschritte der Gefriertrocknung erfolgen abhängig von physikalischen Parametern, die auch das Ergebnis, das Lyophilisat, beeinflussen. Bei flüssigen Proben kann es vorkommen, dass die Struktur der Probe nicht erhalten bleibt. [Sundaramurthi & Suryanarayanan, 2012] Generell ist es jedoch eine schonende Methode, bei der die Struktur der Probe meist erhalten bleibt und nur ein sehr geringer Teil der ursprünglichen Inhaltsstoffe verloren geht. Die Temperatur sollte dazu so niedrig sein, dass sie noch unter der spezifischen kritischen Temperatur liegt. Anderenfalls kann die Struktur der Probe

durch die Gefriertrocknung Schaden nehmen. [Kett, McMahon & Ward, 2004] Bei diesen schadhafte Produkten ist noch ein gewisser Teil Restwasser vorhanden und es ist mit einer Reduktion der ursprünglichen biologischen Aktivität des Produkts zu rechnen [Passot et al., 2005]. Konnte nicht das gesamte Eis aus der Probe bei der Sekundärtrocknung entfernt werden, ist auch mit negativen Auswirkungen auf die Stabilität des Probenguts zu rechnen. [Patel, Doen & Pikal, 2010]. Für ein bestmögliches Ergebnis ist es also wichtig, den kritischen Punkt zu kennen oder abschätzen zu können [Kett, McMahon & Ward, 2004]. Auch die chemische Zusammensetzung der Probe bleibt bei der Gefriertrocknung weitgehend erhalten [Deepak & Iqbal, 2015] und es kommt nur zu sehr geringen Veränderungen des Proteingehalts [Lale, Goyal & Bansal, 2011]. Die Gefahr, dass die Probe oxidiert, wird durch das angelegte Vakuum beinahe ausgeschlossen. Verunreinigungen der Probe sind auch auszuschließen, da es sich um ein abgeschlossenes System handelt, das wenn nötig von außen gesteuert werden kann. [Deepak & Iqbal, 2015] Durch einen gut durchdachten Gefriertrocknungsvorgang können nicht nur die physikalischen und biologischen Eigenschaften optimiert werden, sondern es werden auch Prozessparameter wie die Zeit positiv beeinflusst [Passot et al., 2005].

Durch die Sublimation von Eis während der primären Trocknungsphase entstehen Poren, deren Größe vom Trocknungsmodus und folglich von etwaigen Kollaps-Folgen, wie Blasenbildung oder Schrumpfen, durch eine zu hohe Temperatur und Wege auf denen Dampf entweicht, bestimmt wird. Izutsu et al. (2014) haben Methoden zur Vorbereitung auf die Gefriertrocknung getestet (gewöhnliche Kühlung auf Regalen, Wärmebehandlung nach dem Gefrieren, kontrollierte Keimbildung) und dazu eine wässrige Probe mit einem Protein, Trehalose, und Natriumphosphat als Puffer verwendet. Bei den Trocknungen entstanden nicht kollabierte Feststoffe mit typischen Poren, einem Wassergehalt von unter 0,5 % und teilweise großen Rissen. Insgesamt zeigte sich eine faserige, tubuläre Struktur mit Anzeichen für geradlinige, nadelartige Eisentwicklung. Es zeigten sich Unterschiede in der Morphologie aufgrund unterschiedlicher Methoden. [Izutsu et al., 2014]

Durch das Gefriertrocknen wird die Probe pulverartig, was die spätere Verarbeitung leichter macht. Grobe Fasern bleiben jedoch erhalten und müssen für eine optimale Homogenität zermahlen werden [Kakiyama et al., 2014]. Abhängig von der Beschaffenheit der Probe ist am Ende der Gefriertrocknung meist noch etwas Restwasser enthalten, das bis zu 3 % ausmachen kann. Besonders empfindlich ist ein

fertig gefriergetrocknetes Produkt auf Sauerstoff und Feuchtigkeit. [Deepak & Iqbal, 2015] Es nimmt sehr leicht wieder Wasser auf, was bei Änderungen der Temperatur und Umgebungsfeuchte die Stabilität beeinträchtigen kann und bei der Lagerung und Verpackung unbedingt berücksichtigt werden sollte. [Kett, McMahon & Ward, 2004]. Zu hohe Umgebungstemperaturen können dem Produkt schaden, deshalb sollte die Lagerung in diesem Fall unter Kühlung erfolgen. [Deepak & Iqbal, 2015] Grundsätzlich kann das Produkt jedoch nach einer korrekten Gefrier Trocknung und Handhabung ungekühlt gelagert werden. Durch den geringen Aufwand bei der Lagerung könnten die entstandenen Kosten durch die Geräte und den Prozess der Trocknung ausgleichen. [Labconco, 2004]

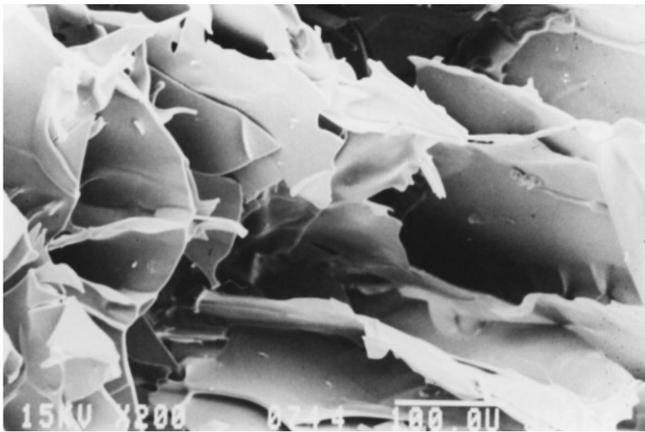


Abbildung 4: Aufnahme einer 10% gefriergetrockneten Zuckerlösung mit einem Elektronenmikroskop [Franks, 1998]

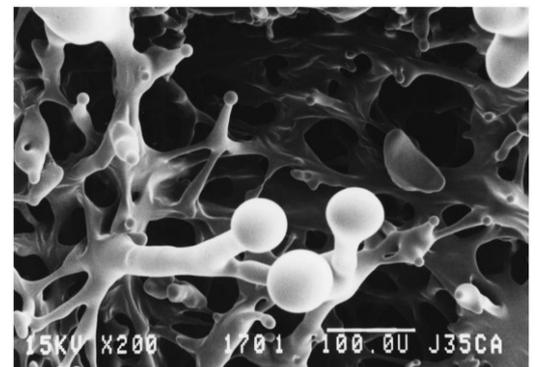


Abbildung 3: Aufnahme einer 10% gefriergetrockneten Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer Lösung, die gerade dabei ist zu kollabieren [Franks, 1998]

2.4.4. Einsatzgebiete

Diese Trocknungsmethode wird in vielen Bereichen eingesetzt und dient der schonenden Trocknung und Haltbarmachung eines Produkts. Einsatz findet die Gefrier Trocknung in unterschiedlichen Bereichen z.B. in der pharmazeutischen Industrie, in der Medizin und auch in der Lebensmittelindustrie. [Kett, McMahon & Ward, 2004]

Die Gefrier Trocknung kann sowohl die Konzentration von biologischem Material als auch anderen Materialien erhöhen [Deepak & Iqbal, 2015] und wird auch eingesetzt um Verzerrungen durch größere Unterschiede im Wassergehalt von Proben zu eliminieren [Hsu et al., 2019]. Durch den hohen Wassergehalt können z.B. Durchfallproben zu verfälschten Ergebnissen führen. Eine Ursache für Durchfall kann

die exokrine Pankreasinsuffizienz sein, die üblicherweise über die Messung der Elastase-1 im Stuhl bestimmt wird. Da es hier durch den hohen Wassergehalt häufig zu Verzerrungen kommt, wurden 500 Stuhlproben von Patienten und 100 Proben von gesunden Personen genommen und sowohl mit einem Standard-Test-Kit analysiert als auch bei -20 °C gefriergetrocknet und anschließend analysiert. Die Elastase-1-Werte nach der Gefrier Trocknung waren durchwegs höher, als in den unbehandelten Proben. Durch eine Gefrier Trocknung der Stuhlproben können demnach Fehler bei der Diagnose von exokriner Pankreasinsuffizienz reduziert werden. [Fischer et al., 2001]

Heute wird die Gefrier Trocknung auch zur Vorbereitung von Proben für spätere Analysen herangezogen, dazu zählen mechanische, optische, elektrische und kalorimetrische Verfahren. [Kett, McMahon & Ward, 2004] Mit letzteren, im speziellen mit der Bombenkalorimetrie haben sich Lovelady und Stork 1970 beschäftigt. Sie haben zwei Verfahren, nämlich die früher gebräuchliche Trocknung im Vakuumofen bei 60 °C und die Gefrier Trocknung zur Vorbereitung von Stuhlproben auf die Analyse mittels Bombenkalorimeter verglichen. Bei der Trocknung im Ofen konnten rund 73 % Wasser entfernt werden, während bei der Gefrier Trocknung der gleichen Proben rund 81 % Wasser entfernt wurden. Das klar bessere Trocknungsergebnis konnte demnach durch die Gefrier Trocknung erreicht werden. Ein weiterer Vorteil gegenüber der Trocknung im Ofen ist, dass die Gefrier Trocknung etwa 30 Stunden kürzer dauert und es dabei zu keinem starken Temperaturanstieg kommt, der das Ergebnis der späteren Bombenkalorimetrie verfälschen könnte. Außerdem kommt es bei der Gefrier Trocknung zu einer weniger starken Geruchsbelästigung als bei der Ofentrocknung. [Lovelady & Stork, 1970]

In der pharmazeutischen Industrie bei der Herstellung von festen Produkten kommt die Gefrier Trocknung auch zum Einsatz. Hier kommt es laut Wang aber zu einigen negativen Beeinflussungen durch das Einfrieren und den Trocknungsprozess. Das Entstehen von Eiskristallen und Änderungen des pH-Werts können zur Denaturierung von Proteinen führen; bei pharmazeutischen Proteinprodukten werden deshalb meist Stabilisatoren eingesetzt. Außerdem ist die Langzeitlagerung von gefriergetrockneten Proteinen kritisch, hier ist es ratsam, das Gut dennoch gekühlt aufzubewahren, da höhere Temperaturen Schaden anrichten können. Bei pharmazeutischen Produkten spielen auch andere Inhaltsstoffe eine bedeutende Rolle. [Wang, 2000] Generell werden für die pharmazeutische Industrie sowohl Enzyme, Plasma, Vitamine und körpereigene Gewebe sowie auch lebende Organismen, die nach der Trocknung

wieder die Fähigkeit haben sollen sich zu vermehren, gefriergetrocknet. Auch für die Herstellung von Impfstoffen werden Mikroorganismen gefriergetrocknet. [Deepak & Iqbal, 2015]

Typische gefriergetrocknete Produkte der Lebensmittelindustrie sind Instantkaffee, getrocknete Früchte, z.B. Himbeeren. Außerdem wird zum Teil Nahrung für Weltraumexpeditionen gefriergetrocknet. [Deepak & Iqbal, 2015].

Abgesehen von der pharmazeutischen Industrie und der Lebensmittelindustrie kann die Gefrier Trocknung an Büchern und anderen sensiblen Gegenständen nach Wasserschäden eingesetzt werden. Außerdem werden sowohl Mikroorganismen als auch Blumen und Tierkörper für Museen gefriergetrocknet, letztere jedoch mit mäßigem Erfolg. [Deepak & Iqbal, 2015] Ein weiteres Einsatzgebiet für die Gefrier Trocknung können Biobanken sein, wo die langfristige und präzise Stabilisierung von Stuhlproben notwendig ist [Song et al., 2016].

2.4.5. Gefrier Trocknung für mikrobiologische Untersuchungen

Die Trocknung wird schon sehr lange für die Konservierung von mikrobiologischem Material verwendet, um sie zu einem späteren Zeitpunkt wieder zur Vermehrung zu bringen. Heute gibt es viele Trocknungsverfahren für unterschiedliche Bedürfnisse. Die Produkte sollen über einen längeren Zeitraum stabil bleiben, wechselnden Temperaturen Stand halten und ihre Diversität beibehalten. Die Gefrier Trocknung wird eingesetzt, um Proben mit großer Mikroorganismenanzahl für einen längeren Zeitraum lagerfähig zu machen. Durch die große Menge an Mikroorganismen wird gewährleistet, dass die einzelnen Stämme und Linien fortgesetzt werden können, auch wenn ein Teil während der Lagerung verloren geht. [Morgan et al., 2006]

Das Bakterienwachstum im Batch kann man in die log-, lag-, Stagnations- und Sterbe-Phase einteilen. Unterschiedliche Bakterienstämme haben in den vier Phasen unterschiedliche Regenerationsfähigkeiten aus getrockneten Suspensionen. Bereits früh ging man davon aus, dass eine hohe Zellkonzentration dazu führt, dass nach der Gefrier Trocknung mehr Mikroorganismen wiederbelebbar sind. Später zeigte sich, dass das Suspensionsmedium einen Einfluss auf die Regenerierbarkeit von getrockneten Bakterien suspensionen hat und je nach Beschaffenheit eine mehr oder weniger hohe Konzentration für die beste Ausbeute benötigt. [Morgan et al., 2006]

Lewis et al. (2016) haben sich mit der Gefrier Trocknung in Zusammenhang mit dem Darmmikrobiom und Oligosacchariden im Stuhl bei Kleinkindern in abgelegenen

Gegenden, wo die Haltbarmachung von Stuhlproben schwierig ist, beschäftigt. In diesen Gebieten sind eine rasche Kühlung der Proben sowie die Kosten und der Aufwand der Analysen von großer Bedeutung. Frühere Studien konnten bereits zeigen, dass die Gefriertrocknung eine geeignete Methode ist um DNA von Mikroorganismen zu erhalten, denn dadurch wird sie vor Hydrolyse und enzymatischem Abbau geschützt. In dieser Studie wurden Stuhlproben von 24 gestillten Kleinkindern genommen, eingefroren und gefriergetrocknet. Die vor und nach der Trocknung gewogenen Proben haben durchschnittlich ein Dreiviertel ihres ursprünglichen Gewichts verloren. Es konnte keine Beeinflussung der Oligosaccharide durch die Gefriertrocknung beobachtet werden. Außerdem konnte bezüglich der Mikrobiotadiversität kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen dem feuchten und dem trockenen Stuhl gefunden werden. Daraus lässt sich schließen, dass die Gefriertrocknung keinen negativen bzw. verfälschenden Einfluss auf die Probe hat. [Lewis et al., 2016]

Eine Studie an in Gefangenschaft lebenden Makaken beschäftigte sich mit der Lagerung von Stuhlproben und der Probenanalyse. Es wurde die Lagerung nach Gefriertrocknung, in Lysepuffer und in RNAlater miteinander verglichen. Die Zahl der OTUs gibt an, wie es um die Artenvielfalt des Mikrobioms steht. Dabei schnitt die Lagerung in Lysepuffer am besten ab, gefolgt von der Lagerung im gefriergetrockneten Zustand und jener in RNAlater. Die Methoden der Lagerung und Analyse der Proben zeigten keinen Einfluss auf die individuelle Zusammensetzung der Mikrobiota, jedoch auf die Menge der einzelnen Bakterien. Ein zweiter Versuch konzentrierte sich auf die Lagerungsmethoden von Stuhl von in Freiheit lebenden Makaken. Im Vergleich zu den gefriergetrockneten Stuhlproben von gefangenen Tieren waren die OTUs der wild lebenden Tiere deutlich höher, jedoch zeigte sich bezüglich der Lagerstabilität in beiden Tiergruppen ein ähnliches Bild. [Hayakawa et al., 2018]

Phua et al. (2013) haben sich mit der Lagerstabilität von gefriergetrockneten Stuhlproben beschäftigt und haben zu diesem Zwecke die gefriergetrockneten Proben bei -80 °C gelagert. Nach einer bzw. nach sechs Wochen wurden sie analysiert und mit frisch getrockneten Proben verglichen. Hier wurde die Gefriertrocknung eingesetzt, um Verzerrungen der Ergebnisse durch einen variierenden Wassergehalt in den Proben zu vermeiden und so reproduzierbare Arbeit zu leisten. Die gefriergetrockneten Proben enthielten im Vergleich zu Fäkalwasserproben einen höheren Gehalt an Metaboliten. [Phua et al., 2013]

2.4.6. Verluste an Inhaltsstoffen durch die Gefriertrocknung

Durch die Gefriertrocknung können sich kurzkettige Fettsäuren verflüchtigen, während langkettige Fettsäuren, die nicht in Wasser löslich sind, erhalten bleiben. Natriumsalze von Fettsäuren erhöhen die Löslichkeit in Wasser und anderen Medien, damit reduzieren sie die Verluste durch die Gefriertrocknung. Außerdem kann durch eine Erhöhung des pH-Werts der Erhalt von kurzkettigen Fettsäuren verbessert werden. Annähernd pH-neutrale Fäkalproben bieten eine gute Löslichkeit und einen guten Erhalt von Fettsäuren. [Gao et al., 2010]

Han et al. (2018) haben sich ebenfalls den kurzkettigen Fettsäuren gewidmet. Die Studie beschäftigt sich mit den Parametern, die für eine effiziente Gefriertrocknung entscheidend sind, nämlich die Temperatur, der Druck und die Trocknungszeit. Es wurde die Gewichtsveränderung von zehn 80 mg schweren und zuvor gefrorenen Stuhlproben während einer Trocknungszeit von 12 Stunden untersucht. Die Proben hatten einen durchschnittlichen Trockenmassegehalt von 39,6 %. Während der ersten zwei Stunden betrug der Gewichtsverlust über 15 %. Nach 3,5 Stunden war der Verlust minimal. Insgesamt gingen fast 8 % der kurzkettigen Fettsäuren verloren. [Han et al., 2018]

In Argentinien wurde eine Studie mit 116 stillenden Frauen durchgeführt, um die Nährstoffverluste der Muttermilch durch die Gefriertrocknung zu untersuchen. Es wurden Milchproben von je 10 ml genommen, bei 4 °C bis zu einem Tag gelagert und dann u.a. mit einem Spektralphotometer analysiert bevor sie in drei Gruppen geteilt wurden. Eine Gruppe der Proben wurde ein halbes Jahr bei -80 °C gelagert, die zweite Gruppe wurde bei -70 °C einen Tag lang gefriergetrocknet und ein halbes Jahr bei 4 °C gelagert, und die dritte Gruppe wurde unter den gleichen Bedingungen wie die zweite Gruppe getrocknet und anschließend bei -80 °C ein halbes Jahr lang gelagert. Danach wurden Nährstoffanalysen wie bei der frischen Muttermilch durchgeführt, um zu sehen, wie sehr sich die Proben verändert haben. Die Proteinkonzentration in der frischen Muttermilch lag bei rund 13 g/L, diese konnte durch das einfache Einfrieren und die Gefriertrocknung mit anschließendem Einfrieren erhalten bleiben, wurde jedoch bei der Gefriertrocknung mit anschließender Kühlung bei 4 °C um die Hälfte reduziert. Ein ähnliches Bild zeichnete sich bei der Triglycerid-Konzentration ab. Die Glukosekonzentration konnte nur bei der Gefriertrocknung mit anschließendem Einfrieren erhalten bleiben. Durch das einfache Einfrieren wurde die Glukosekonzentration um die Hälfte gesenkt. Eine Verbesserung zeigte hier jedoch die

Gefriertrocknung mit anschließender Kühlung, denn so konnten die Verluste auf ein etwa Viertel des Ausgangswerts beschränkt werden. Die Polyphenolkonzentration zeigte einen negativen Zusammenhang mit dem Vorhandensein von reaktiven Sauerstoffverbindungen; bei Glukose gab es hier einen direkten Zusammenhang. Die Gefriertrocknung hat in dieser Studie nicht nur vor unerwünschter mikrobieller Vermehrung geschützt, sondern auch Nährstoffe besser erhalten, als das einfache Einfrieren. Jedoch sind bezüglich Glukose keine Langzeiterfolge zu verbuchen gewesen. Proteine blieben durch die niedrigen Temperaturen beim Einfrieren eher erhalten, denn das durch die Gefriertrocknung verbliebene Wasser fördert den Proteinabbau. Insgesamt schützen jedoch sowohl die Gefriertrocknung als auch das Einfrieren vor oxidativen Stressreaktionen. [Cortez & Soria, 2016]

Eine Studie von Saric et al. (2008) hat Stuhlproben von Menschen und den häufig verwendeten Versuchstieren Maus und Ratte verglichen und sich mit ihrer Lagerbeständigkeit über die Zeit beschäftigt. Dazu wurde je eine Stuhlprobe von sechs Frauen und sechs Männern genommen, sowie Stuhlproben der Tiere, die freien Zugang zu Wasser und Futter hatten. Es wurde die Anwendung der Gefriertrocknung, die Behandlung mit Ultraschall und die Filtration auf die Zusammensetzung der Nagetier-Stuhlproben untersucht. Auch die Lagerfähigkeit der menschlichen Proben und der Einfluss des Einfrierens wurden geprüft. Die Stuhlproben von zehn Ratten wurden gefriergetrocknet und mit einem Puffer vermischt, die eine Hälfte wurde filtriert, während die andere Hälfte mit Ultraschall behandelt wurde. Danach wurden die Proben zentrifugiert. Die Proben, die eine Gefriertrocknung durchliefen, waren nur für etwa einen Tag bezüglich ihres Metabolitenprofils unverändert. Im Vergleich zu den anderen Faktoren wirkten sich die Methoden zur Stabilisierung der Proben wenig aus, jedoch war bei Anwendung der Gefriertrocknung und durch das Einfrieren der Gehalt an verzweigt-kettigen Aminosäuren höher. In den gefriergetrockneten Proben waren die Gehalte an kurzkettigen Fettsäuren niedriger als in den frischen Vergleichsproben. Die Proben, die mit Ultraschall behandelt wurden, veränderten sich ähnlich wie bei der Gefriertrocknung, während sich das Metabolitenprofil durch die Filtration kaum veränderte. Durch den geringen Einfluss der Methode schlossen Saric et al., dass sich die Ergebnisse von unterschiedlichen Studien und Labors vergleichen lassen. [Saric et al., 2008]

2.5. Bombenkalorimetrie

Das Prinzip der Bombenkalorimetrie ist die Messung der Reaktionswärme bei einem konstanten Volumen und der Änderung der inneren Energie, die als Wärme gemessen wird [Kurniati & Rohman, 2018]. Die Bombenkalorimetrie gilt seit langem als Goldstandard für die Messung der Restenergiemenge im Stuhl, der Untersuchung der Verdaulichkeit sowie etwaigen Malabsorptionen und kann grundsätzlich zur Energiebestimmung jeder Probe bei passender Beschaffenheit verwendet werden [Wierdsma et al., 2013]. Außerdem kann so die Menge der aufgenommenen Nahrungsenergie sowie der Energiegehalt von Urin und Stuhl bei Bilanzstudien bestimmt werden. Materialien mit hohem Wassergehalt erfordern als Vorbereitungsschritt eine Trocknung. [Wichert, Liesegang & Hartnack, 2014] Bei der Bombenkalorimetrie werden Proben mit bekanntem Gewicht in einer Edelstahlbombe, die etwas destilliertes Wasser enthält, verbrannt [Moir, Bentley & Cox, 2016]. Die Probe, deren Gewicht im unteren Gramm- bis oberen Milligramm-Bereich liegt [Cherkasov et al., 2013], wird in einem Glasbecher mit einem Glühdraht und Baumwollfaden in die Bombe gegeben und in das Kalorimeter mit Wasserzufluss und Thermometer geschoben. Die Probe im Inneren der Bombe wird über einen Zündkreislauf verbrannt und der Temperaturverlauf des Wasser gemessen. [Wierdsma et al., 2013] Im Kalorimeter wird rund um die Bombe Wasser eingeleitet. Bei der vollständigen Verbrennung der Probe wird die freiwerdende Energie in Form von Wärme an das Umgebungswasser abgegeben und gemessen [Moir, Bentley & Cox, 2016]. Daraus kann man ableiten, wieviel Energie die Probe enthielt, bzw. wieviel eines Nährstoffs vom Körper aufgenommen werden konnte und wieviel in Folge ausgeschieden wurde. [Wierdsma et al., 2013] Vor der Messung von Proben sollte eine Benzoesäure Tablette, deren Energie bekannt ist, verbrannt werden, um die Bombenkalorimeter-Konstante zu bestimmen [Kurniati & Rohman, 2018].

Ein wichtiger Parameter für eine vollständige Verbrennung ist der O_2 -Gasdruck. Ist der Gasdruck zu niedrig, kann die Verbrennung nur begrenzt von Statten gehen und man erhält ein schwarzes Verbrennungsprodukt, während bei der vollständigen Verbrennung nur Asche bzw. sehr wenige kleine graue Festkörper im Glasbecher zurückbleiben. [Kurniati & Rohman, 2018]

3. Material und Methoden

3.1. Die „NutriAging“ Studie

Die „NutriAging“ Studie ist ein EU-Projekt und eine Kooperation zwischen Partnern aus Österreich, unter anderem der Universität Wien, und Partnern aus der Slowakei. Das Ziel der Studie ist es, über die Untersuchung von Lebensmittelinhaltsstoffen (Protein, Vitamin D, Omega-3-Fettsäuren) die Ernährung von Senioren zu optimieren und eine generelle Optimierung der Lebensqualität im Alter durch Krafttraining zu erreichen. Außerdem sollten dadurch Hinweise auf die Wirkung dieser Parameter gewonnen werden. Von Sommer bis Herbst 2018 lag der Schwerpunkt der Studie auf der Wirkung von Protein. Dazu wurde eine experimentelle, randomisierte, klinisch kontrollierte Interventionsstudie durchgeführt. Die Studie war zwar verblindet geplant, dies konnte jedoch durch die Gabe von proteinreichen Lebensmitteln durch die Mitarbeiter der Studie an die Probanden nicht umgesetzt werden. Dadurch war eine Verblindung nur für die Analytisten gegeben. Die Randomisierung erfolgte mittels Computerprogramm nach Geschlecht und Alter.

3.1.1. Studiendesign

Die Studie dauerte insgesamt 17 Wochen mit einer Interventionsdauer von 15 Wochen (siehe Abbildung 6). Die Probanden der Interventionsgruppen bekamen Lebensmittel vom Studienteam zur Verfügung gestellt, die das Erreichen der Proteinvorgabe erleichtern sollten. Zu diesen Lebensmitteln zählten sowohl selbstgemachte proteinreiche Backwaren, denen zum Teil auch Proteinpulver beigemischt wurde, als auch kommerzielle Produkte mit Proteinisolat wie Protein-Joghurts und ähnliches, sowie Lebensmittel mit natürlich hohem Proteingehalt, wie z.B. Eier und Käse. Welche Produkte den Probanden zugestellt wurden, konnten die Probanden frei wählen. Mittels Punktesystem und Heft zur einfacheren Einschätzung der Proteinaufnahme und Rezepten wurde den Probanden die Abschätzung der gewünschten Proteinmenge erleichtert.

In den Testwochen wurde von allen Probanden die Nährstoffaufnahme mittels Ernährungserhebungen erhoben, wobei die Daten zur Ballaststoffaufnahme nicht die Interventionslebensmittel einschließen, da bei diesen Produkten der Ballaststoffgehalt nicht bekannt ist. Es ist daher anzunehmen, dass die tatsächliche Ballaststoffaufnahme höher ist. Außerdem wurden anthropometrische Parameter gemessen. Aus den erhobenen Daten wurde anschließend berechnet, ob die Probanden mehr oder

weniger an Protein konsumieren sollten. Auf dieser Grundlage wurden auch die Ziele hinsichtlich der Proteinaufnahme reguliert. Um einen Mehrbedarf zu decken, wurden gegebenenfalls zusätzlich Lebensmittel ausgegeben. Über das Körpergewicht wurde berechnet, wieviel Protein von den Probanden in den Interventionsgruppen aufgenommen werden musste.

Im Zuge dieser Studie wurden auch Stuhlproben genommen, die für diese Arbeit verwendet wurden.

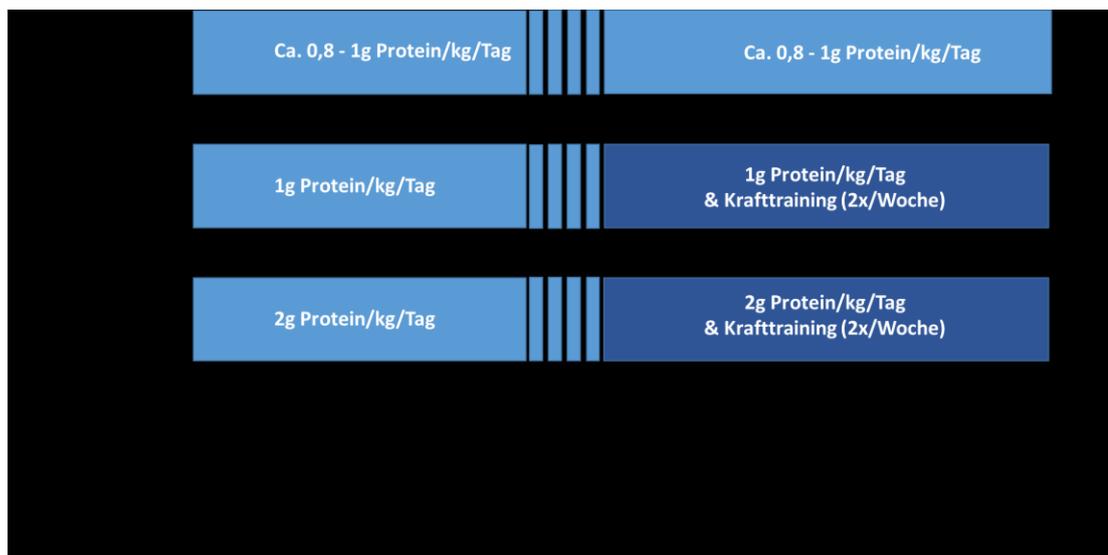


Abbildung 5: Studiendesign

3.1.2. Probandenrekrutierung

Im Rahmen von Informationsveranstaltungen wurden interessierte Personen über die Studie aufgeklärt. Bei bestehendem Interesse wurden sie via Fragebogen zu ihrem Gesundheitszustand befragt und bei Erfüllen der Einschlusskriterien zu Voruntersuchungen gebeten. Entsprachen die Personen den erforderlichen Kriterien, wurden sie zu weiteren Terminen eingeteilt.

Einschlusskriterien:

- Frauen und Männer zwischen 65 und 85 Jahren
- Guter Geistiger Zustand, um der Studie selbständig folgen zu können (mittels „Mini-Mental-State“-Fragebogen getestet)
- ausreichend körperliche Fitness, um an dem Krafttraining teilnehmen zu können
- erfolgreiches Ärztliches Screening

Ausschlusskriterien:

- längere Abwesenheit während der Studienphase
- regelmäßiges Krafttraining, oder Krafttraining während der letzten 6 Monate vor Studienbeginn (mehr als einmal pro Woche)
- Herzbypass
- Aortenaneurysma
- Herzschrittmacher oder Defibrillator
- diabetische Retinopathie
- manifeste Osteoporose
- Einnahme von Cortison-Medikamenten
- Antibiotikaeinnahme während der letzten 6 Monate vor Studienbeginn
- Krebsmetastasen
- Netzhautablösung

Es wurden 137 Probanden randomisiert den Gruppen zugeteilt. Im Laufe der Studie schieden noch Probanden aus medizinischen Gründen (n=17), oder weil sie das Interesse verloren (n=7) aus.

Die randomisierten Interventionsgruppen und die Kontrollgruppe waren wie folgt charakterisiert:

Kontrollgruppe: Diese Gruppe sollte die Ernährungsgewohnheiten wie gewohnt beibehalten.

Protein Low Gruppe (Protein Guideline Gruppe): In dieser Gruppe sollten über die gesamte Studiendauer 1 g/kg KG/Tag Protein und zusätzlich Kohlenhydrate energieäquivalent zur Proteinmenge aufgenommen werden. Zusätzlich zur Ernährungsintervention nahmen die Probanden dieser Gruppe ab Woche 8 zwei Mal in der Woche an einem individuellen Krafttraining in kleinen Gruppen teil. Außerdem bekamen die Probanden Müsliriegel, Mischbrot, Kohlenhydratshakes nach dem Training und unter anderem Suppen bereitgestellt.

Protein High Gruppe (Protein Optimierte Gruppe): Diese Gruppe sollte über die gesamte Dauer der Interventionsphase 2 g/kg KG/Tag Protein aufnehmen und nahm ebenfalls ab Woche 8 zwei Mal in der Woche an Krafttrainingseinheiten teil. Um die Proteinaufnahme von 2 g/kg KG/Tag zu erreichen wurden Proteindrinks, Proteinriegel, Eiweiß-Brot, Protein-Suppe, etc. zur Verfügung gestellt.

Alle zwei Wochen wurde das Training in der Protein Low und Protein High Gruppe soweit möglich individuell gesteigert.

3.2. Die Gefriertrocknung und Bombenkalorimetrie

3.2.1. Probenmaterial

Für die Gefriertrocknung und die anschließende Analyse mit dem Bombenkalorimeter wurden Stuhlproben herangezogen, die im Zuge der „NutriAging“ Studie genommen wurden.

Die Probanden selbst mussten zu Hause die Stuhlproben nehmen. Bei der Probe sollte es sich nicht um Durchfall handeln, sondern um Stuhl ohne auffällige Konsistenz. Zur einfacheren Entnahme, und um Kontaminationen des Stuhls mit Urin und Toilettenwasser zu verhindern, bekamen die Probanden einen Papierbehelf, der über den Toilettensitz gespannt werden konnte. Außerdem bekamen sie Probenbehältnisse. An drei Terminen waren die möglichst frischen und gekühlten Stuhlproben abzugeben. Danach wurden die Proben weiter gekühlt und so schnell wie möglich weiter bearbeitet.

3.2.2. Probenaufbereitung

Etwa 10 g der Stuhlproben wurden mit etwa 10 g destilliertem Wasser in einem Probenröhrchen vermengt und mit einem Mixer homogenisiert. Die genaue Einwaage der Probe wurde genauso wie das Gewicht der Röhrchen notiert, dieses betrug immer etwas über 13 g. Danach wurden die Probenröhrchen mit geschlossenem Deckel bei -30 °C möglichst schräg eingefroren, um die Probenoberfläche zu vergrößern. Nachdem die Proben völlig durchgefroren waren, wurden die Probenröhrchen geöffnet und sowohl das Röhrchen als auch der Deckel für ca. 60 Stunden bei -40 °C unter Vakuum in dem Gerät „FreezeZone 2.5“ der Firma Labconco, das für die Batch-Methode geeignet ist, gefriergetrocknet. Das Gerät stand in einem Abzug im Labor um Geruchsbelästigung zu vermeiden; die angeschlossene Vakuumpumpe stand außerhalb des Abzugs, was zum Teil zu einer Geruchsbelästigung möglicherweise durch flüchtige Stoffe in den Proben führte. Die Proben standen im Gefriertrockner in einem Eprovettenständer aus Plastik, der Platz für 18 Proben bot. Nach der ersten Trocknung erfolgte die erste Wiegung des geschlossenen Probenröhrchens und nach zwei weiteren Stunden Gefriertrocknung eine zweite Wiegung, um ein konstantes

Gewicht zu erreichen. Dieses war gegeben, wenn sich das Netto-Gewicht nicht mehr als 1 % von der ersten Wiegung W1 zur zweiten W2 veränderte. Die Berechnungen wurden wie folgt durchgeführt:

$$\text{Nettotrockengewicht [mg]} = \text{Bruttotrockengewicht [mg]} - \text{Gewicht des Probenfläschchens [mg]}$$

$$\text{Nettodifferenz [\%]} = (\text{Nettogewicht W2 [mg]} / \text{Nettogewicht W1 [mg]} - 1) \times 100$$

$$\text{Trockenmasse [\%]} = (\text{Nettogewicht W2 [mg]} / \text{Probeneinwaage [mg]}) \times 100$$

In den meisten Fällen reichten für ein konstantes Gewicht 60 bzw. 62 Stunden aus, wenn nicht, wurden weitere Gefriertrocknungsperioden angehängt.

Bis zur weiteren Analyse im Bombenkalorimeter wurden die geschlossenen Probenröhrchen bei Raumtemperatur gelagert.

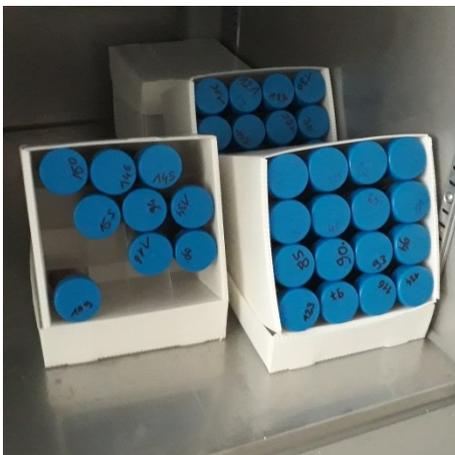


Abbildung 6: Schräg eingefrorene Probenröhrchen

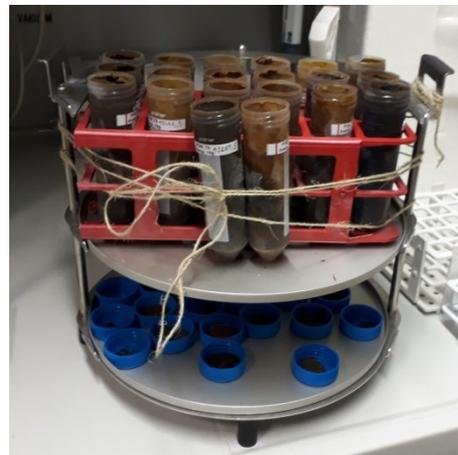


Abbildung 7: Proben im Gefriertrocknungsständer

Die Gefriertrocknung diente als Vorbereitung für die Bombenkalorimetrie. Die getrockneten Stuhlproben wurden im Mörser homogenisiert und eine Menge von etwa 0,5 g abgewogen. Danach wurde daraus ein Pellet gepresst und gewogen. Das Pellet wurde auf eine Baumwollschnur, die mit einem Zünddraht verbunden war, in ein Glasschälchen gelegt und in die Bombe geführt, in die zuvor 10 ml destilliertes Wasser gefüllt wurden. Die Bombe wurde dem Kalorimeter zugeführt und die Messung wurde gestartet. Sowohl die Gefriertrocknung als auch die Messung mittels Bombenkalorimeter wurde zusammen mit Cornelia Heinz durchgeführt, die sich in ihrer Arbeit auf die Bombenkalorimetrie konzentriert.

3.3. Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungen erfolgten mittels Statistikprogramm IBM SPSS Statistics 26.0.

Die verwendeten Variablen wurden auf Normalverteilung getestet und weitere statistische Methoden entsprechend gewählt. Nicht signifikant von einer Normalverteilung zu unterscheiden sind demnach die Daten der Stuhltrockenmasse, sowie die Wasser und Energieaufnahme, außerdem das Körpergewicht und der BMI. Unterschieden sich die Werte signifikant von einer Normalverteilung, wurden die entsprechenden Daten unter Anwendung des dekadischen Logarithmus (Protein-, Fett- und Ballaststoffaufnahme) bzw. mittels Ziehen der Wurzel (Kohlenhydrataufnahme) transformiert. Bei den Daten, die sich nicht signifikant von einer Normalverteilung unterscheiden, werden in deskriptiven Tabellen, die mittels Explorativer Datenanalyse erstellt wurden, die Mittelwerte dargestellt, während bei einem signifikanten Unterschied zur Normalverteilung die Mediane dargestellt werden.

Um die Entwicklung der Parameter über die Studiendauer innerhalb der Interventionsgruppen zu analysieren wurde für jeden Parameter und die einzelnen Interventionsgruppen bzw. Alterskategorien ein „t-Test mit verbundenen Stichproben“ durchgeführt. Die Analyse des Einflusses des Messzeitpunkts sowie der Zwischensubjektfaktoren Interventionsgruppe, Geschlecht und Alterskategorie wurde mit dem Allgemeinen linearen Modell mit Messwiederholung durchgeführt. Um die Gruppenunterschiede zwischen den einzelnen Messzeitpunkten zu untersuchen, wurde ein paarweiser Vergleich für die Parameter zu den Messzeitpunkten angestellt. Die paarweisen Vergleiche wurden mit Bonferroni-Korrektur durchgeführt.

Alle beschriebenen statistischen Tests wurden auf einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ ausgeführt.

4. Ergebnisse

4.1. Die Probanden

Von den 137 randomisierten Probanden schieden im Laufe der Interventionsphase 20 Personen aus medizinischen Gründen und auf Grund von mangelndem Interesse aus. Nach Beendigung der Interventionsphase konnten noch 117 Probanden in die Studie eingeschlossen werden. Für die Analyse der Stuhltrockenmasse und der Restenergiemenge im Stuhl wurden jedoch noch weitere Personen ausgeschlossen, bei denen nicht alle drei Stuhlproben oder zu wenig Probenmaterial für die Untersuchung vorhanden war bzw. wenn die Ergebnisse der Doppelbestimmung des Restenergiegehalts sich zu sehr unterschieden. Außerdem mussten die Ernährungsprotokolle vollständig sein, damit Verbindungen zu der Ernährung untersucht werden konnten. Schlussendlich wurden 76 Personen bzw. 76x3 Proben in die Auswertung einbezogen. Davon waren 30 in der Kontrollgruppe, 19 in der Protein Low Gruppe und 27 in der Protein High Gruppe. Die Geschlechter verteilten sich auf 36 weibliche und 40 männliche Probanden.

Die Verteilung der Probanden der Interventionsgruppen auf die Geschlechter, die Alterskategorien, sowie das Durchschnittsalter, der Durchschnitts-BMI und das Durchschnittsgewicht zu Beginn der Studie sind in Tabelle 1 dargestellt. Zwischen den Interventionsgruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Alters, des Gewichts und des BMI (siehe Anhang Tabelle 62).

Die Ballaststoffe wurden getrennt von den Makronährstoffen analysiert, da hier nur 58 Proben ausgewertet werden konnten. Bei den Probanden, die ausgeschlossen wurden, war keine vollständige Dokumentation der Ballaststoffaufnahme zu allen drei Zeitpunkten vorhanden. In Tabelle 2 ist nun die Verteilung jener Personen dargestellt, die aufgrund einer vollständigen Ernährungserhebung in die Analyse der Ballaststoffaufnahme miteinbezogen werden konnten.

		Interventionsgruppe					
		Control		Protein low		Protein high	
		Anzahl	Mittelwert	Anzahl	Mittelwert	Anzahl	Mittelwert
Geschlecht	weiblich	16		9		11	
	männlich	14		10		16	
Alter [Jahre]			73,06		72,64		73,13
Alterskategorie	65-69,99 Jahre	9		6		7	
	70-74,99 Jahre	11		8		11	
	75-85 Jahre	10		5		9	
BMI_T1 [kg/m ²]			25,41		27,39		25,51
Gewicht_T1 [kg]			72,6		80,0		73,0

Tabelle 1: Beschreibung der Interventionsgruppen zu Studienbeginn T1 (n = 76)

		Interventionsgruppe					
		Control		Protein low		Protein high	
		Anzahl	Mittelwert	Anzahl	Mittelwert	Anzahl	Mittelwert
Geschlecht	weiblich	13		9		6	
	männlich	8		9		13	
Alter [Jahre]			73,55		72,59		73,02
Alterskategorie	65-69,99 Jahre	4		6		4	
	70-74,99 Jahre	10		7		9	
	75-85 Jahre	7		5		6	
BMI_1 [kg/m ²]			25,28		27,29		25,18
Gewicht_1 [kg]			70,3		79,7		74,6

Tabelle 2: Beschreibung der Interventionsgruppen mit Personen, die in die Analyse der Ballaststoffaufnahme eingeschlossen wurden, zu Studienbeginn T1 (n = 58)

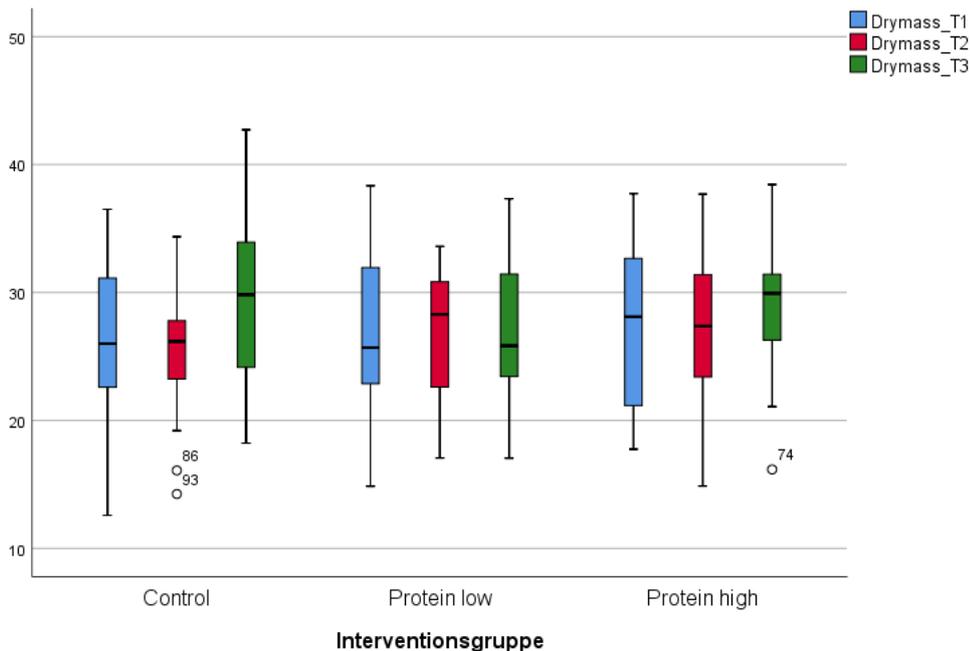


Abbildung 9: Boxplot der Trockenmasse der Interventionsgruppen

Im Datensatz sind drei Ausreißer (siehe Abbildung 9), die jedoch aufgrund der Ähnlichkeit zu den anderen Gruppen behalten wurden.

4.2. Entwicklung innerhalb der Interventionsgruppen

Stuhltrockenmasse

Die Mittelwerte der Stuhltrockenmasse der Interventionsgruppen zu den drei Messzeitpunkten sind in Tabelle 3 dargestellt. Betrachtet man die Entwicklung der Trockenmasse in den einzelnen Gruppen (siehe Tabellen 4, 5 und 6), zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in der Kontrollgruppe zwischen den Mittelwerten der Trockenmasse T1 und T2. Signifikante Unterschiede gibt es jedoch zwischen den Trockenmassen T1 ($26,36 \pm 6,11$ %) und T3 ($29,74 \pm 5,95$ %), sowie zwischen den Trockenmassen von T2 ($25,90 \pm 5,05$ %) und T3 (siehe Abbildung 10). In der Protein low Gruppe sowie in der Protein high Gruppe unterscheiden sich die Werte der Trockenmasse zu keinem Zeitpunkt signifikant voneinander.

		Interventionsgruppe	Statistik	Standard Fehler
Drymass_T1	Control	Mittelwert	26,36%	1,12%
		Standard Abweichung	6,11%	
	Protein low	Mittelwert	27,05%	1,43%
		Standard Abweichung	6,23%	
	Protein high	Mittelwert	27,61%	1,28%
		Standard Abweichung	6,63%	
Drymass_T2	Control	Mittelwert	25,90%	0,92%
		Standard Abweichung	5,05%	
	Protein low	Mittelwert	26,93%	1,15%
		Standard Abweichung	5,00%	
	Protein high	Mittelwert	26,94%	1,14%
		Standard Abweichung	5,93%	
Drymass_T3	Control	Mittelwert	29,74%	1,09%
		Standard Abweichung	5,95%	
	Protein low	Mittelwert	26,92%	1,18%
		Standard Abweichung	5,15%	
	Protein high	Mittelwert	28,90%	0,95%
		Standard Abweichung	4,94%	

Tabelle 3: Darstellung der Mittelwerte der Stuhl trockenmasse der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3

Test bei gepaarten Stichproben

Kontrollgruppe	Mittelwert	Std.- Abweichung	Gepaarte Differenzen		T	df	Sig. (2- seitig)	
			Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere				Obere
Paaren 1 - Drymass_T1 - Drymass_T2	0,4620%	6,0552%	1,1055%	- 1,7990%	2,7231%	,418	29	,679
Paaren 2 - Drymass_T1 - Drymass_T3	-3,3770%	6,7995%	1,2414%	- 5,9159%	- 0,8380%	-	29	,011
Paaren 3 - Drymass_T2 - Drymass_T3	-3,8390%	6,4812%	1,1833%	- 6,2591%	- 1,4189%	-	29	,003

Tabelle 4: Entwicklung der Stuhl trockenmasse innerhalb der Kontrollgruppe (n = 30)

Test bei gepaarten Stichproben

Protein low Gruppe	Mittelwert	Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2- seitig)
				Untere	Obere			
Paaren 1 Drymass_T1 - Drymass_T2	0,1239%	6,5439%	1,5013%	- 3,0301%	3,2780%	,083	18	,935
Paaren 2 Drymass_T1 - Drymass_T3	0,1294%	4,8713%	1,1176%	- 2,2185%	2,4773%	,116	18	,909
Paaren 3 Drymass_T2 - Drymass_T3	0,0054%	5,8230%	1,3359%	- 2,8012%	2,8120%	,004	18	,997

Tabelle 5: Entwicklung der Stuhl trockenmasse innerhalb der Protein low Gruppe (n = 19)

Test bei gepaarten Stichproben

Protein high Gruppe	Mittelwert	Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2- seitig)
				Untere	Obere			
Paaren 1 Drymass_T1 - Drymass_T2	0,6699%	6,7775%	1,3043%	- 2,0112%	3,3510%	,514	26	,612
Paaren 2 Drymass_T1 - Drymass_T3	-1,2952%	6,2328%	1,1995%	- 3,7608%	1,1704%	- 1,080	26	,290
Paaren 3 Drymass_T2 - Drymass_T3	-1,9651%	5,2389%	1,0082%	- 4,0375%	0,1073%	- 1,949	26	,062

Tabelle 6: Entwicklung der Stuhl trockenmasse innerhalb der Protein high Gruppe (n = 27)

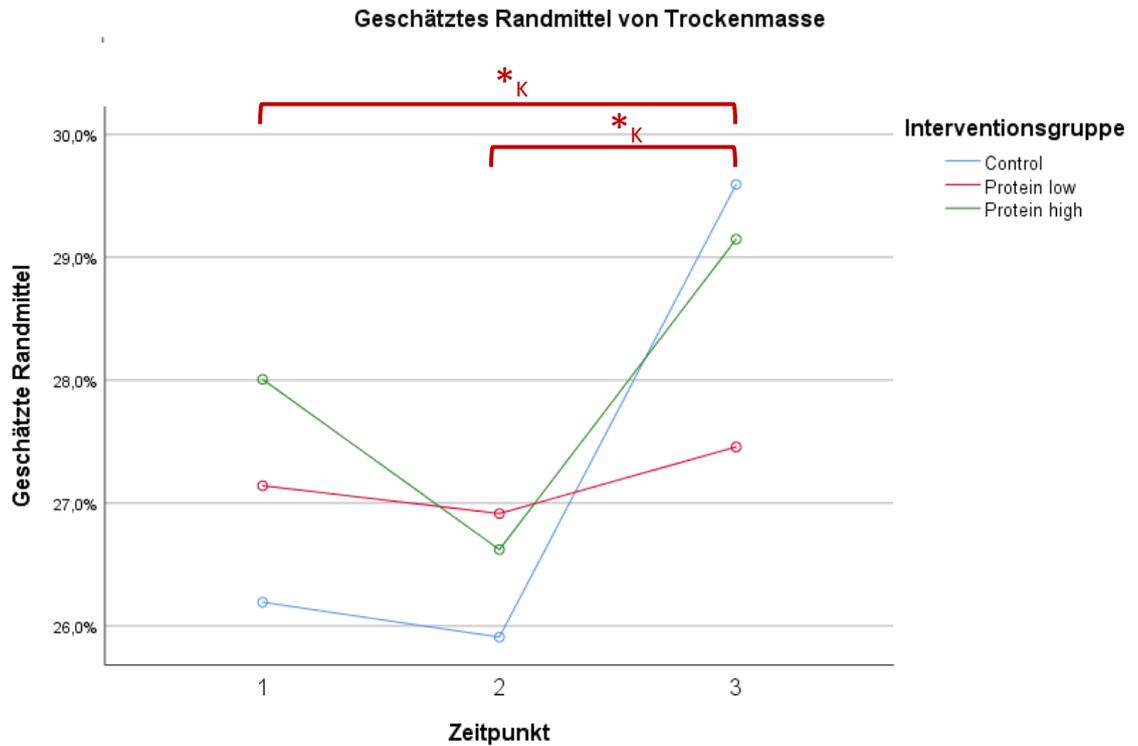


Abbildung 10: Stuhl-trockenmasse der Interventionsgruppen über die Zeit mit Kennzeichnung der signifikanten Unterschiede in der Kontrollgruppe zwischen den Zeitpunkten

Proteinaufnahme der Probanden

Die Mediane der Proteinaufnahme der Interventionsgruppen sind in Tabelle 7 dargestellt. Die Entwicklung der Proteinaufnahme in den Gruppen (n = 76) ist in Abbildung 11 dargestellt und zeigt u.a., dass sich die Proteinaufnahmen zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3 in der Kontrollgruppe nicht signifikant voneinander unterscheiden. In der Protein low Gruppe, die in Tabelle 8 dargestellt ist, gibt es jedoch signifikante Unterschiede in der Proteinaufnahme zwischen den Zeitpunkten T1 (Median 70,0 g/d) und T3 (Median 80,0 g/d).

Tabelle 9 zeigt, dass sich auch in der Protein high Gruppe die Proteinaufnahme zwischen T1 (Median 54,0 g/d) und T2 (Median 103,0 g/d), sowie zwischen T1 und T3 (Median 113,0 g/d) signifikant unterscheidet. Hingegen gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen T2 und T3.

	Interventionsgruppe		Statistik
Protein_T1 [g/d]	Control	Median	55,0
	Protein low	Median	70,0
	Protein high	Median	54,0
Protein_T2 [g/d]	Control	Median	62,5
	Protein low	Median	82,0
	Protein high	Median	103,0
Protein_T3 [g/d]	Control	Median	60,5
	Protein low	Median	80,0
	Protein high	Median	113,0

Tabelle 7: Darstellung der Mediane der Proteinaufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

Test bei gepaarten Stichproben

Protein low Gruppe	Mittelwert	Gepaarte Differenzen				T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
Paaren 1 Protein_T1* - Protein_T2*	-,05689	,18292	,04196	-,14505	,03127	- 1,356	18	,192
Paaren 2 Protein_T1* - Protein_T3*	-,09065	,17963	,04121	-,17723	-,00407	- 2,200	18	,041
Paaren 3 Protein_T2* - Protein_T3*	-,03376	,12815	,02940	-,09553	,02800	- 1,148	18	,266

Tabelle 8: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Protein low Gruppe (n = 19)

Test bei gepaarten Stichproben

Protein high Gruppe	Mittelwert	Gepaarte Differenzen				T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
Paaren 1 Protein_T1* - Protein_T2*	-,31369	,21242	,04088	-,39772	-,22966	- 7,673	26	,000
Paaren 2 Protein_T1* - Protein_T3*	-,33959	,19833	,03817	-,41804	-,26113	- 8,897	26	,000
Paaren 3 Protein_T2* - Protein_T3*	-,02589	,07440	,01432	-,05533	,00354	- 1,809	26	,082

Tabelle 9: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Protein high Gruppe (n = 27)

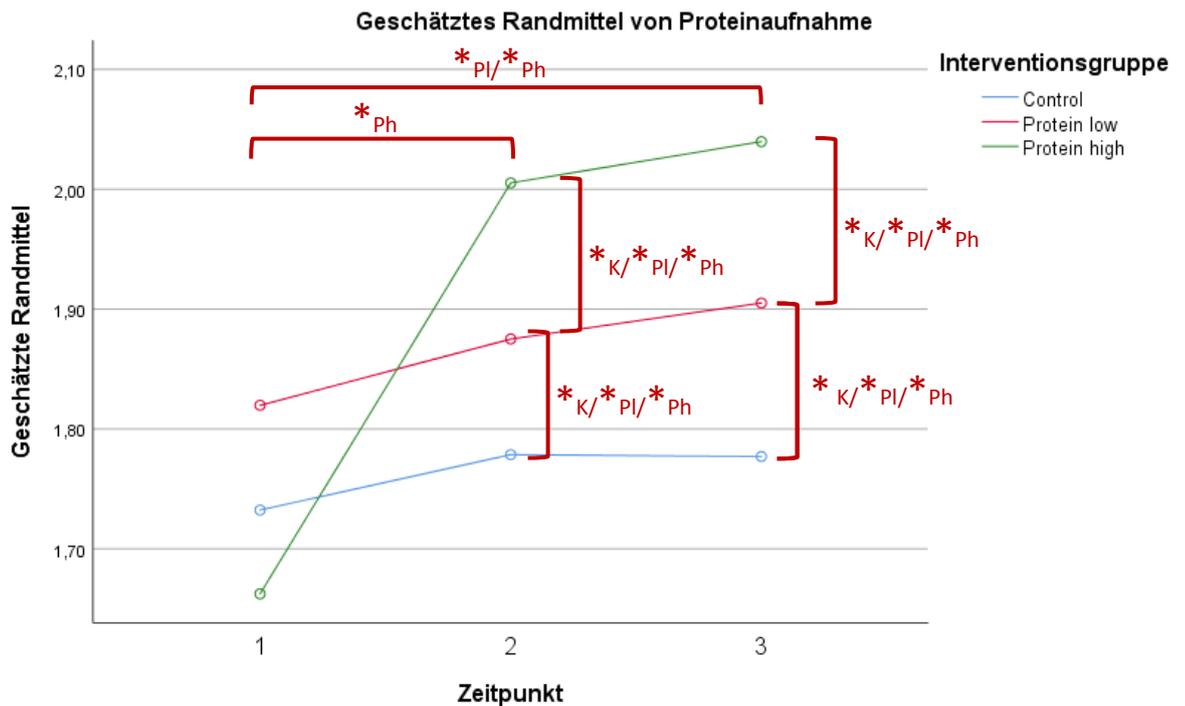


Abbildung 11: Entwicklung der Proteinaufnahme der Interventionsgruppen über die Zeit mit Kennzeichnung der signifikanten Unterschiede der Interventionsgruppen (*K = Kontrollgruppe; *PI = Protein low Gruppe; *Ph = Protein high Gruppe)

Kohlenhydrat- und Fettaufnahme der Probanden

Die Mediane der Kohlenhydrataufnahme sowie der Fettaufnahme der Interventionsgruppen sind in Tabelle 10 bzw. Tabelle 11 dargestellt. Weder die Kohlenhydrataufnahme noch die Fettaufnahme unterscheiden sich innerhalb der Interventionsgruppen (n = 76) zu den drei Messzeitpunkten signifikant voneinander.

	Interventionsgruppe		Statistik
Kohlenhydrate_T1 [g/d]	Control	Median	153,5
	Protein low	Median	215,0
	Protein high	Median	193,0
Kohlenhydrate_T2 [g/d]	Control	Median	185,0
	Protein low	Median	208,0
	Protein high	Median	170,0
Kohlenhydrate_T3 [g/d]	Control	Median	203,0
	Protein low	Median	207,0
	Protein high	Median	182,0

Tabelle 1: Darstellung der Mediane der Kohlenhydrataufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

	Interventionsgruppe		Statistik
Fett_T1 [g/d]	Control	Median	69,5
	Protein low	Median	79,0
	Protein high	Median	72,0
Fett_T2 [g/d]	Control	Median	77,0
	Protein low	Median	86,0
	Protein high	Median	77,0
Fett_T3 [g/d]	Control	Median	74,0
	Protein low	Median	83,0
	Protein high	Median	83,0

Tabelle 11: Darstellung der Mediane der Fettaufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

Wasseraufnahme der Probanden

Die Mittelwerte der Wasseraufnahme der Interventionsgruppen sind in Tabelle 12 dargestellt. Die Wasseraufnahme in der Kontrollgruppe unterscheidet sich, wie in Tabelle 13 dargestellt, signifikant zwischen T1 ($2582,4 \pm 571,6$ g/d) und T3 ($2360,8 \pm 470,9$ g/d), sowie zwischen T2 ($2663,9 \pm 528,2$ g/d) und T3. In der Protein low Gruppe (siehe Tabelle 14) zeigen sich hingegen keine signifikanten Unterschiede. Signifikante Unterschiede in der Wasseraufnahme gibt es jedoch in der Protein high Gruppe, nämlich zwischen T1 ($2947,9 \pm 766,9$ g/d) und T2 ($2609,7 \pm 700,6$ g/d), sowie zwischen T1 und T3 ($2584,6 \pm 509,6$ g/d) (siehe Abbildung 12).

	Interventionsgruppe		Statistik	Standard Fehler
Wasser_ T1 [g/d]	Control	Mittelwert	2582,4	104,4
		Standard Abweichung	571,6	
	Protein low	Mittelwert	2685,3	96,6
		Standard Abweichung	421,1	
	Protein high	Mittelwert	2947,9	147,6
		Standard Abweichung	766,9	
Wasser_ T2 [g/d]	Control	Mittelwert	2663,9	96,4
		Standard Abweichung	528,2	
	Protein low	Mittelwert	2660,8	102,7
		Standard Abweichung	447,6	
	Protein high	Mittelwert	2609,7	134,8
		Standard Abweichung	700,6	
Wasser_ T3 [g/d]	Control	Mittelwert	2360,8	86,0
		Standard Abweichung	470,9	
	Protein low	Mittelwert	2531,4	89,1
		Standard Abweichung	388,3	
	Protein high	Mittelwert	2584,6	98,1
		Standard Abweichung	509,6	

Tabelle 12: Darstellung der Mittelwerte der Wasseraufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

Test bei gepaarten Stichproben

Kontrollgruppe	Mittelwert	Gepaarte Differenzen			Untere	Obere	T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.-Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz					
Paare n 1 Wasser_T1 [g/d] - Wasser_T2 [g/d]	-81,557	453,726	82,839	-	87,867	-,985	29	,333	
Paare n 2 Wasser_T1 [g/d] - Wasser_T3 [g/d]	221,526	424,412	77,487	63,048	380,004	2,859	29	,008	
Paare n 3 Wasser_T2 [g/d] - Wasser_T3 [g/d]	303,083	333,394	60,869	178,592	427,575	4,979	29	,000	

Tabelle 13: Entwicklung der Wasseraufnahme innerhalb der Kontrollgruppe (n = 30)

Test bei gepaarten Stichproben

Protein high Gruppe	Mittelwert	Gepaarte Differenzen		95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.-Abweichung	Standardfehler des Mittelwerts	Untere	Obere			
Paare n 1 Wasser_T1 [g/d] - Wasser_T2 [g/d]	338,128	486,674	93,660	145,607	530,650	3,610	26	,001
Paare n 2 Wasser_T1 [g/d] - Wasser_T3 [g/d]	363,302	679,341	130,739	94,563	632,040	2,779	26	,010
Paare n 3 Wasser_T2 [g/d] - Wasser_T3 [g/d]	25,173	439,387	84,560	-148,642	198,989	,298	26	,768

Tabelle 14: Entwicklung der Wasseraufnahme innerhalb der Protein high Gruppe (n = 27)

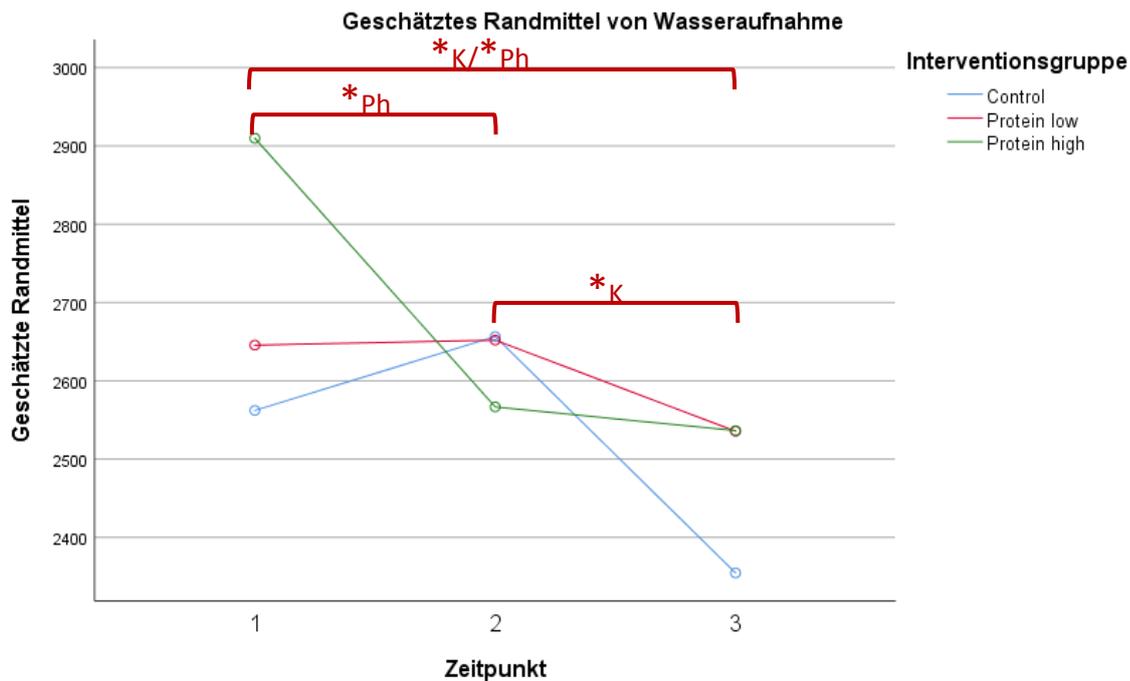


Abbildung 12: Entwicklung der Wasseraufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) über die Zeit und die signifikanten Unterschiede in den Gruppen (*K = Kontrollgruppe; *Ph = Protein high Gruppe)

Ballaststoffaufnahme der Probanden

Die Mediane der Ballaststoffaufnahme der Interventionsgruppen sind in Tabelle 15 dargestellt. Die Ballaststoffaufnahme unterscheidet sich weder in der Kontrollgruppe noch in der Protein low Gruppe zu den Messzeitpunkten signifikant.

Tabelle 16 zeigt signifikante Unterschiede in der Ballaststoffaufnahme in der Protein high Gruppe, nämlich zwischen den Messzeitpunkten T1 (Median 18,0 g/d) und T3 (Median 13,0 g/d) (siehe Abbildung 13).

	Interventionsgruppe		Statistik
Ballaststoffe_T1 [g/d]	Control	Median	20,0
	Protein low	Median	17,0
	Protein high	Median	18,0
Ballaststoffe_T2 [g/d]	Control	Median	14,0
	Protein low	Median	14,0
	Protein high	Median	17,0
Ballaststoffe_T3 [g/d]	Control	Median	19,0
	Protein low	Median	12,0
	Protein high	Median	13,0

Tabelle 15: Darstellung der Mediane der Ballaststoffaufnahme der Interventionsgruppen (n = 58) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3 in g/d

Test bei gepaarten Stichproben

Protein high Gruppe	Mittelwert	Gepaarte Differenzen		95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.-Abweichung g	Standardfehler des Mittelwertes	Untere	Obere			
Paare n 1 Ballaststoffe_T1* - Ballaststoffe_T2*	,00664	,29759	,06827	-,13679	,15008	,097	18	,924
Paare n 2 Ballaststoffe_T1* - Ballaststoffe_T3*	,11551	,27213	,05337	,00559	,22542	2,16	25	,040
Paare n 3 Ballaststoffe_T2* - Ballaststoffe_T3*	,11778	,33141	,07603	-,04196	,27751	1,54	18	,139

Tabelle 16: Entwicklung der Ballaststoffaufnahme innerhalb der Protein high Gruppe (n = 19)

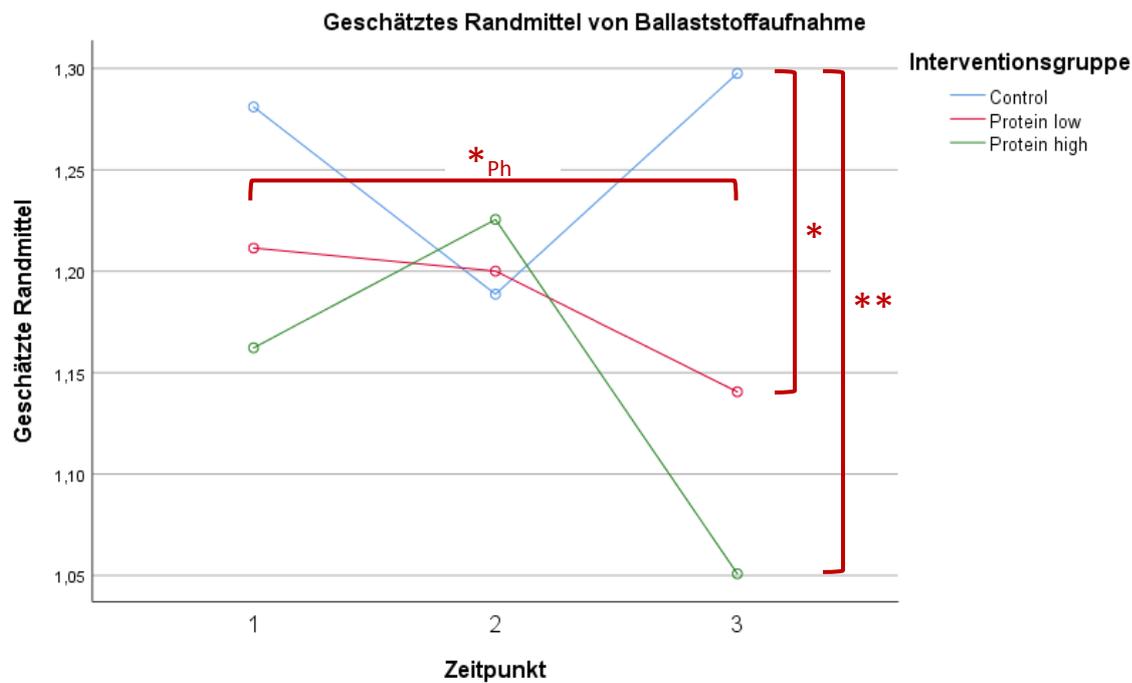


Abbildung 13: Entwicklung der Ballaststoffaufnahme der Interventionsgruppen (n = 58) über die Zeit (*Ph = Protein high Gruppe; * = signifikanter Unterschied zu T3 zwischen der Kontrollgruppe und der Protein low Gruppe; ** = signifikanter Unterschied zu T3 zwischen der Kontrollgruppe und der Protein high Gruppe)

Körpergewicht der Probanden

Die Mittelwerte des Körpergewichts sind in Tabelle 17 dargestellt. Das Körpergewicht der Probanden innerhalb der Kontrollgruppe bzw. der Protein high Gruppe unterscheidet sich zwischen den Messzeitpunkten nie signifikant. In der Protein low Gruppe unterscheidet sich das gemessene Gewicht signifikant zwischen T1 ($79,99 \pm 10,60$ kg) und T3 ($81,32 \pm 17,14$ kg), sowie zwischen T2 ($80,31 \pm 16,39$ kg) und T3 (siehe Tabelle 18 und Anhang Abbildung 19).

	Interventionsgruppe		Statistik	Standard Fehler
Gewicht_T1 [kg]	Control	Mittelwert	72,63	1,93
		Standard Abweichung	10,60	
	Protein low	Mittelwert	79,99	3,88
		Standard Abweichung	16,91	
	Protein high	Mittelwert	72,99	2,30
		Standard Abweichung	11,94	
Gewicht_T2 [kg]	Control	Mittelwert	72,83	1,91
		Standard Abweichung	10,45	
	Protein low	Mittelwert	80,31	3,76
		Standard Abweichung	16,39	
	Protein high	Mittelwert	73,16	2,19
		Standard Abweichung	11,36	
Gewicht_T3 [kg]	Control	Mittelwert	72,85	1,91
		Standard Abweichung	10,48	
	Protein low	Mittelwert	81,32	3,93
		Standard Abweichung	17,14	
	Protein high	Mittelwert	73,52	2,21
		Standard Abweichung	11,48	

Tabelle 17: Darstellung der Mittelwerte des Gewichts der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3

Test bei gepaarten Stichproben

Protein low Gruppe	Mittelwert	Gepaarte Differenzen		95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.-Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	Untere	Obere			
Paare n 1 Gewicht_T1 [kg] - Gewicht_T2 [kg]	-,3158	1,3941	,3198	-,9877	,3562	-,987	18	,337
Paare n 2 Gewicht_T1 [kg] - Gewicht_T3 [kg]	-1,3263	1,5765	,3617	-2,0862	-,5665	-3,667	18	,002
Paare n 3 Gewicht_T2 [kg] - Gewicht_T3 [kg]	-1,0105	1,6357	,3752	-1,7989	-,2222	-2,693	18	,015

Tabelle 18: Entwicklung des Körpergewichts innerhalb der Protein low Gruppe (n = 19)

BMI der Probanden

Die Mittelwerte des BMI der Interventionsgruppen sind in Tabelle 19 dargestellt. Bezüglich des BMI sind nur signifikante Unterschiede in der Protein low Gruppe zwischen T1 ($27,4 \pm 3,2$) und T3 ($27,8 \pm 4,8$), sowie zwischen T2 ($27,5 \pm 4,5$) und T3 zu beobachten (siehe Tabelle 20 und Anhang Abbildung 21). In den anderen beiden Interventionsgruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Zeitpunkten.

Interventionsgruppe		Statistik	Standard Fehler
BMI_T1 [kg/m ²]	Control	Mittelwert	25,4
		Standard Abweichung	3,2
	Protein low	Mittelwert	27,4
		Standard Abweichung	4,7
	Protein high	Mittelwert	25,5
		Standard Abweichung	2,9
BMI_T2 [kg/m ²]	Control	Mittelwert	25,5
		Standard Abweichung	3,1
	Protein low	Mittelwert	27,5
		Standard Abweichung	4,5
	Protein high	Mittelwert	25,5
		Standard Abweichung	2,8
BMI_T3 [kg/m ²]	Control	Mittelwert	25,5
		Standard Abweichung	3,0
	Protein low	Mittelwert	27,8
		Standard Abweichung	4,8
	Protein high	Mittelwert	25,6
		Standard Abweichung	2,9

Tabelle 19: Darstellung der Mittelwerte des BMI der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3

Test bei gepaarten Stichproben

Protein low Gruppe	Mittelwert	Gepaarte Differenzen					T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz					
Paaren 1 BMI_1 [kg/m ²] - BMI_2 [kg/m ²]	-,12366	,46951	,10771	-,34996	,10264	- 1,148	18	,266	
Paaren 2 BMI_1 [kg/m ²] - BMI_3 [kg/m ²]	-,37948	,54534	,12511	-,64232	-,11664	- 3,033	18	,007	
Paaren 3 BMI_2 [kg/m ²] - BMI_3 [kg/m ²]	-,25582	,50606	,11610	-,49973	-,01190	- 2,203	18	,041	

Tabelle 20: Entwicklung des BMI innerhalb der Protein low Gruppe (n = 19)

4.3. Entwicklung innerhalb der Alterskategorien

Stuhltrockenmasse

Die Mittelwerte der Stuhltrockenmasse sind in Tabelle 21 dargestellt und wie Tabelle 22 bzw. Abbildung 14 zeigen, unterscheidet sich die Trockenmasse in der Alterskategorie der 65-69,99-Jährigen signifikant zwischen Zeitpunkt T2 ($26,42 \pm 4,97$ %) und T3 ($28,45 \pm 4,68$ %). Auch in der Alterskategorie 2, die in Tabelle 23 dargestellt ist, gibt es signifikante Unterschiede zwischen T1 ($25,48 \pm 4,87$ %) und T3 ($28,11 \pm 6,35$ %). Jedoch in der Kategorie der ältesten Probanden zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in der Trockenmasse.

	Alterskategorie	Statistik	Standard Fehler
Drymass_T1	65-69,99 Jahre	Mittelwert	26,61%
		Standard Abweichung	1,42%
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	25,48%
		Standard Abweichung	0,89%
	75-85 Jahre	Mittelwert	29,19%
		Standard Abweichung	1,44%
Drymass_T2	65-69,99 Jahre	Mittelwert	26,42%
		Standard Abweichung	1,06%
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	26,53%
		Standard Abweichung	0,96%
	75-85 Jahre	Mittelwert	26,62%
		Standard Abweichung	1,21%
Drymass_T3	65-69,99 Jahre	Mittelwert	28,45%
		Standard Abweichung	1,00%
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	28,11%
		Standard Abweichung	1,16%
	75-85 Jahre	Mittelwert	29,79%
		Standard Abweichung	1,01%

Tabelle 21: Darstellung der Mittelwerte der Stuhltrockenmasse der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 1	Mittelwert	Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2- seitig)
				Untere	Obere			
Paaren 1 - Drymass_T1 - Drymass_T2	0,1889%	5,6695%	1,2087%	- 2,3248%	2,7026%	,156	21	,877
Paaren 2 - Drymass_T1 - Drymass_T3	-1,8430%	6,1408%	1,3092%	- 4,5657%	0,8797%	- 1,408	21	,174
Paaren 3 - Drymass_T2 - Drymass_T3	-2,0319%	4,4950%	0,9583%	- 4,0249%	- 0,0389%	- 2,120	21	,046

Tabelle 22: Entwicklung der Stuhltrockenmasse innerhalb der Alterskategorie 1 (65-69,99 Jahre; n = 22)

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 2	Mittelwert	Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2- seitig)
				Untere	Obere			
Paaren 1 - Drymass_T1 - Drymass_T2	-1,0492%	4,6815%	0,8547%	- 2,7973%	0,6989%	- 1,227	29	,230
Paaren 2 - Drymass_T1 - Drymass_T3	-2,6285%	5,5016%	1,0045%	- 4,6828%	- 0,5741%	- 2,617	29	,014
Paaren 3 - Drymass_T2 - Drymass_T3	-1,5793%	5,1175%	0,9343%	- 3,4902%	0,3316%	- 1,690	29	,102

Tabelle 23: Entwicklung der Stuhltrockenmasse innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30)

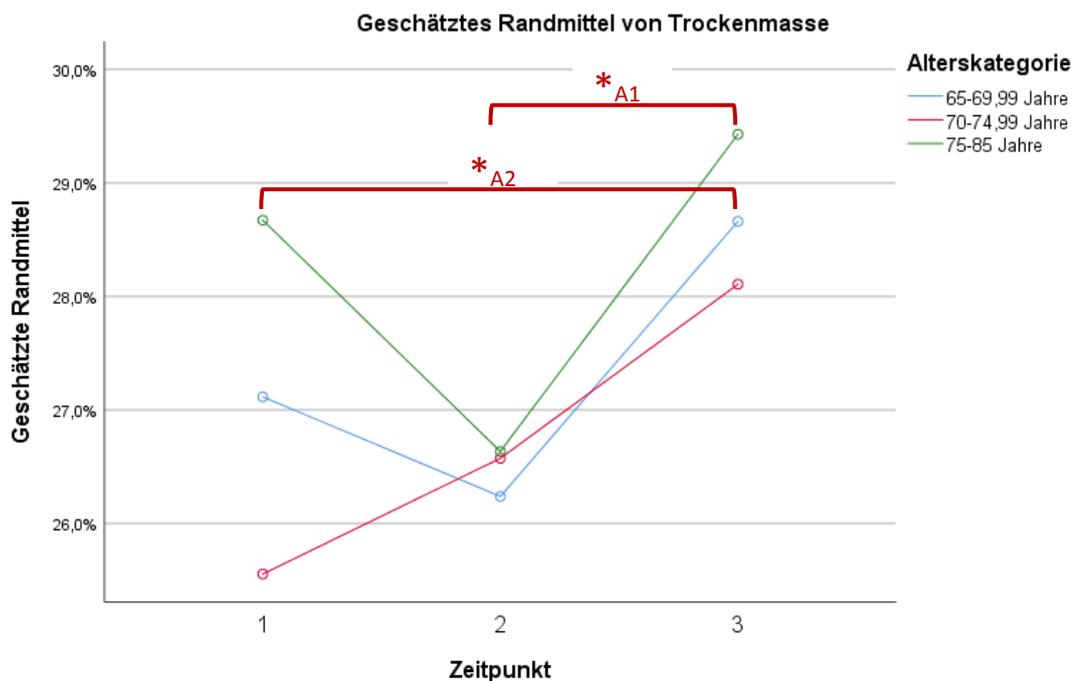


Abbildung 14: Entwicklung der Stuhltrockenmasse der Alterskategorien über die Zeit (*A1 = Alterskategorie 1; *A2 = Alterskategorie 2)

Proteinaufnahme der Probanden

Wie die Tabellen 25, 26 und 27, sowie Abbildung 15 zeigen, zeichnet sich in allen Alterskategorien ein ähnliches Bild ab. Innerhalb aller drei Kategorien unterscheidet sich die Proteinaufnahme sowohl zu den Zeitpunkten T1 (Median Alterskategorie 1 56,0 g/d; Alterskategorie 2 61,0 g/d; Alterskategorie 3 52,5 g/d) und T2 (Median Alterskategorie 1 84,5 g/d; Alterskategorie 2 87,0 g/d; Alterskategorie 3 65,5 g/d), als auch zu T1 und T3 (Median Alterskategorie 1 79,0 g/d; Alterskategorie 2 85,0 g/d; Alterskategorie 3 75,0 g/d) signifikant. Zwischen T2 und T3 zeichnen sich jedoch in keiner Alterskategorie signifikante Unterschiede ab. Die Mediane der Proteinaufnahme sind in Tabelle 24 dargestellt.

	Alterskategorie		Statistik
Protein_T1 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	56,0
	70-74,99 Jahre	Median	61,0
	75-85 Jahre	Median	52,5
Protein_T2 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	84,5
	70-74,99 Jahre	Median	87,0
	75-85 Jahre	Median	65,5
Protein_T3 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	79,0
	70-74,99 Jahre	Median	85,0
	75-85 Jahre	Median	75,0

Tabelle 24: Darstellung der Mediane der Proteinaufnahme der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 1	Mittelwert	Gepaarte Differenzen		95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.-Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	Untere	Obere			
Paaren 1 Protein_T1* - Protein_T2*	-,19197	,28436	,06063	-,31805	-,06589	- 3,166	21	,005
Paaren 2 Protein_T1* - Protein_T3*	-,21032	,27354	,05832	-,33159	-,08904	- 3,606	21	,002
Paaren 3 Protein_T2* - Protein_T3*	-,01835	,11493	,02450	-,06930	,03261	- ,749	21	,462

Tabelle 25: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Alterskategorie 1 (65-69,99 Jahre; n = 22)

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 2	Mittelwert	Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95%		T	df	Sig. (2- seitig)
				Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
Paaren Protein_T1* - 1 Protein_T2*	-,12891	,18252	,03332	-,19706	-,06076	- 3,869	29	,001
Paaren Protein_T1* - 2 Protein_T3*	-,12397	,18154	,03314	-,19176	-,05618	- 3,740	29	,001
Paaren Protein_T2* - 3 Protein_T3*	,00494	,10172	,01857	-,03304	,04293	,266	29	,792

Tabelle 26: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30)

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 3	Mittelwert	Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95%		T	df	Sig. (2- seitig)
				Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
Paaren Protein_T1* - 1 Protein_T2*	-,11823	,19664	,04014	-,20127	-,03519	- 2,945	23	,007
Paaren Protein_T1* - 2 Protein_T3*	-,16666	,22062	,04503	-,25982	-,07350	- 3,701	23	,001
Paaren Protein_T2* - 3 Protein_T3*	-,04843	,14126	,02883	-,10808	,01122	- 1,679	23	,107

Tabelle 27: Entwicklung der Proteinaufnahme innerhalb der Alterskategorie 3 (75-85 Jahre; n = 24)

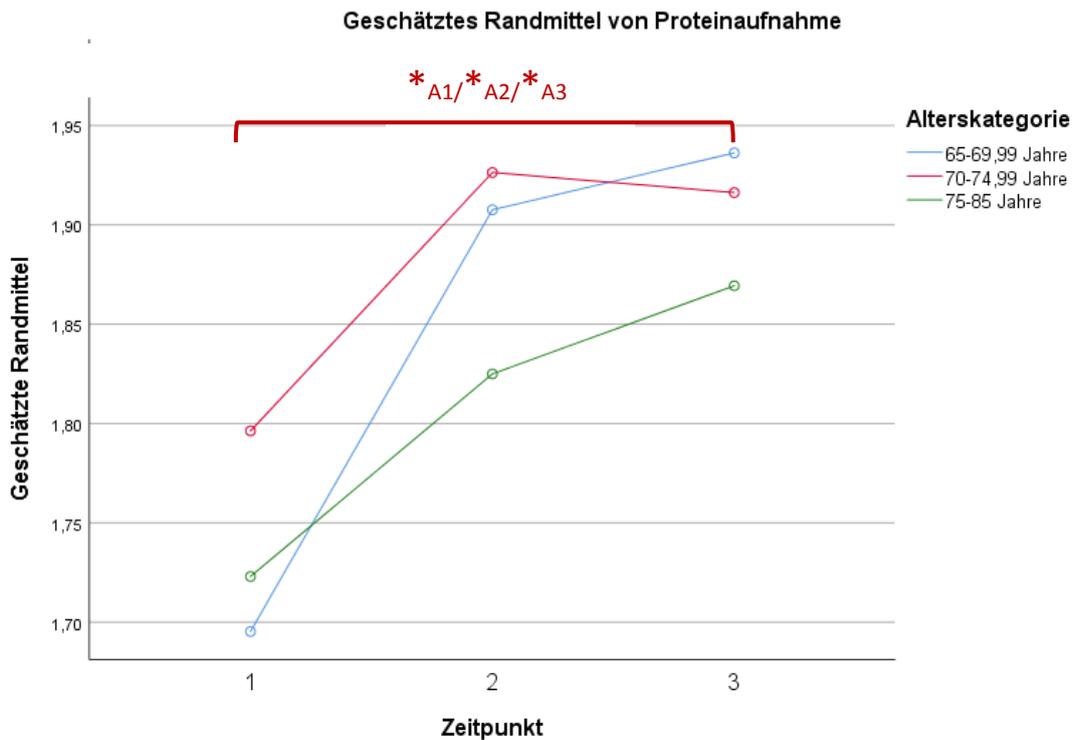


Abbildung 15: Entwicklung der Proteinaufnahme in den Alterskategorien mit Kennzeichnung der signifikanten Unterschiede zwischen den Zeitpunkten (*A1 = Alterskategorie 1; *A2 = Alterskategorie 2; *A3 = Alterskategorie 3)

Kohlenhydrataufnahme der Probanden

Die Mediane sind in Tabelle 28 dargestellt. Die Kohlenhydrataufnahme unterscheidet sich in keiner Alterskategorie zwischen den Messzeitpunkten signifikant.

	Alterskategorie		Statistik
Kohlenhydrate_T1 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	210,0
	70-74,99 Jahre	Median	165,5
	75-85 Jahre	Median	174,0
Kohlenhydrate_T2 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	188,0
	70-74,99 Jahre	Median	195,5
	75-85 Jahre	Median	159,0
Kohlenhydrate_T3 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	219,0
	70-74,99 Jahre	Median	202,5000
	75-85 Jahre	Median	183,0000

Tabelle 28: Darstellung der Mediane der Kohlenhydrataufnahme der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

Fettaufnahme der Probanden

In Tabelle 29 sind die Mediane der Fettaufnahme dargestellt. Signifikante Unterschiede in der Fettaufnahme zeigen sich nur in Alterskategorie 1 zwischen T1 (Median 74,5 g/d) und T3 (Median 86,5 g/d) ($p = 0,020$), sowie in Alterskategorie 2 zwischen T2 (Median 78,5 g/d) und T3 (Median 73,5 g/d) ($p = 0,034$).

	Alterskategorie		Statistik
Fett_T1 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	74,5
	70-74,99 Jahre	Median	76,0
	75-85 Jahre	Median	74,5
Fett_T2 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	85,0
	70-74,99 Jahre	Median	78,5
	75-85 Jahre	Median	77,5
Fett_T3 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	86,5
	70-74,99 Jahre	Median	73,5
	75-85 Jahre	Median	74,5

Tabelle 29: Darstellung der Mediane der Fettaufnahme der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

Wasseraufnahme der Probanden

Die Mittelwerte der Wasseraufnahme sind in Tabelle 30 dargestellt. In Alterskategorie 1 gibt es signifikante Unterschiede in der Wasseraufnahme zwischen den Zeitpunkten T1 ($2810,4 \pm 777,6$ g/d) und T3 ($2517,7 \pm 490,1$ g/d) (siehe Tabelle 31). Ebenfalls signifikante Unterschiede zeigen sich in der in Tabelle 32 dargestellten Alterskategorie 2 zwischen T1 ($2817,1 \pm 574,2$ g/d) und T3 ($2501,1 \pm 418,1$ g/d) bzw. zwischen T2 ($2753,4 \pm 401,4$ g/d) und T3. In Alterskategorie 3 unterscheidet sich die Wasseraufnahme nicht signifikant zwischen den Zeitpunkten.

	Alterskategorie		Statistik	Standard Fehler
Wasser_T1 [g/d]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	2810,4	165,8
		Standard Abweichung	777,6	
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	2817,1	104,8
		Standard Abweichung	574,2	
	75-85 Jahre	Mittelwert	2572,7	110,3
		Standard Abweichung	540,2	

Wasser _T2 [g/d]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	2704,4	148,6
		Standard Abweichung	697,0	
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	2753,4	73,3
		Standard Abweichung	401,4	
	75-85 Jahre	Mittelwert	2451,5	122,7
		Standard Abweichung	600,9	
Wasser _T3 [g/d]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	2517,7	104,5
		Standard Abweichung	490,1	
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	2501,0	76,3
		Standard Abweichung	418,1	
	75-85 Jahre	Mittelwert	2428,6	108,1
		Standard Abweichung	529,5	

Tabelle 30: Darstellung der Mittelwerte der Wasseraufnahme der Alterskategorien (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 1	Mittelwert	Std.- Abweichun g	Standardfehl er des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2- seitig)
				Untere	Obere			
Paare n 1 Wasser_T1 [g/d] - Wasser_T2 [g/d]	105,934	518,754	110,599	- 124,069	335,93 6	,958	2 1	,349
Paare n 2 Wasser_T1 [g/d] - Wasser_T3 [g/d]	292,685	528,519	112,681	58,353	527,01 7	2,59 7	2 1	,017
Paare n 3 Wasser_T2 [g/d] - Wasser_T3 [g/d]	186,751	485,189	103,443	-28,369	401,87 2	1,80 5	2 1	,085

Tabelle 31: Entwicklung der Wasseraufnahme innerhalb der Alterskategorie 1 (65-69,99 Jahre; n = 22)

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 2	Mittelwert t	Std.- Abweichun g	Standardfehl er des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2- seitig)
				Untere	Obere			
Paare n 1 Wasser_T1 [g/d] - Wasser_T2 [g/d]	63,713	500,931	91,457	- 123,338	250,76 4	,697	2 9	,492
Paare n 2 Wasser_T1 [g/d] - Wasser_T3 [g/d]	316,081	582,178	106,291	98,692	533,46 9	2,97 4	2 9	,006
Paare n 3 Wasser_T2 [g/d] - Wasser_T3 [g/d]	252,368	325,918	59,504	130,668	374,06 8	4,24 1	2 9	,000

Tabelle 32: Entwicklung der Wasseraufnahme innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30)

Ballaststoffaufnahme der Probanden

Die Ballaststoffaufnahme unterscheidet sich zu keinem Zeitpunkt zwischen den Alterskategorien. Die Mediane der Alterskategorien sind in Tabelle 33 dargestellt.

	Alterskategorie		Statistik
Ballaststoffe_T1 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	18,0
	70-74,99 Jahre	Median	17,5
	75-85 Jahre	Median	20,0
Ballaststoffe_T2 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	18,5
	70-74,99 Jahre	Median	15,5
	75-85 Jahre	Median	14,0
Ballaststoffe_T3 [g/d]	65-69,99 Jahre	Median	12,5
	70-74,99 Jahre	Median	13,5
	75-85 Jahre	Median	17,5

Tabelle 33: Darstellung der Mediane der Ballaststoffaufnahme der Alterskategorien (n = 58) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3 in g/d

Körpergewicht der Probanden

In Tabelle 34 sind die Mittelwerte des Körpergewichts der Alterskategorien dargestellt. Das Körpergewicht der 65-69,99-jährigen Probanden unterscheidet sich zwischen den Messzeitpunkten nicht signifikant, auch in der Gruppe der Ältesten gibt es keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Körpergewichts. Das Gewicht Probanden der Alterskategorie 2 unterscheidet sich jedoch signifikant zwischen T1 ($72,72 \pm 14,74$ kg) und T3 ($73,63 \pm 15,19$ kg) und zwischen T2 ($72,90 \pm 14,45$ kg) und T3, wie Tabelle 35 zeigt (siehe Anhang Abbildung 20).

	Alterskategorie		Statistik	Standard Fehler
Gewicht_T1 [kg]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	76,97	2,77
		Standard Abweichung	13,00	
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	72,72	2,69
		Standard Abweichung	14,74	
	75-85 Jahre	Mittelwert	74,76	2,24
		Standard Abweichung	10,96	
Gewicht_T2 [kg]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	77,16	2,75
		Standard Abweichung	12,90	
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	72,90	2,64
		Standard Abweichung	14,45	
	75-85 Jahre	Mittelwert	75,07	2,06
		Standard Abweichung	10,09	
Gewicht_T3 [kg]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	77,56	2,75
		Standard Abweichung	12,89	
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	73,63	2,77
		Standard Abweichung	15,19	
	75-85 Jahre	Mittelwert	75,02	2,12
		Standard Abweichung	10,38	

Tabelle 34: Darstellung der Mittelwerte des Gewichts der Alterskategorien (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 2	Mittelwert	Gepaarte Differenzen		95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.- Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	Untere	Obere			
Paaren 1 Gewicht_1 [kg] - Gewicht_2 [kg]	-,1800	1,2369	,2258	-,6419	,2819	-,797	29	,432
Paaren 2 Gewicht_1 [kg] - Gewicht_3 [kg]	-,9033	1,3900	,2538	-1,4224	-,3843	- 3,560	29	,001
Paaren 3 Gewicht_2 [kg] - Gewicht_3 [kg]	-,7233	1,3938	,2545	-1,2438	-,2029	- 2,843	29	,008

Tabelle 35: Entwicklung des Gewichts innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30)

BMI der Probanden

Die Mittelwerte des BMI sind in Tabelle 36 dargestellt. In der Alterskategorie 1, sowie in der Alterskategorie 3 sind keine signifikanten Unterschiede der Mittelwerte des BMI der einzelnen Messzeitpunkte zu beobachten. Wie Tabelle 37 jedoch zeigt, gibt es bei den 70-74,99 Jährigen signifikant unterschiedliche Mittelwerte zwischen T1 ($25,4 \pm 4,0$) und T3 ($25,6 \pm 4,1$) (siehe Anhang Abbildung 22).

	Alterskategorie	Statistik	Standard Fehler
BMI_T1 [kg/m ²]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	26,1
		Standard Abweichung	3,8
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	25,4
		Standard Abweichung	4,0
	75-85 Jahre	Mittelwert	26,5
		Standard Abweichung	3,0
BMI_T2 [kg/m ²]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	26,1
		Standard Abweichung	3,7
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	25,5
		Standard Abweichung	3,9
	75-85 Jahre	Mittelwert	26,6
		Standard Abweichung	2,7

BMI_T3 [kg/m ²]	65-69,99 Jahre	Mittelwert	26,3	,8
		Standard Abweichung	3,7	
	70-74,99 Jahre	Mittelwert	25,6	,7
		Standard Abweichung	4,1	
	75-85 Jahre	Mittelwert	26,6	,6
		Standard Abweichung	2,7	

Tabelle 36: Darstellung der Mittelwerte des BMI der Alterskategorien (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3

Test bei gepaarten Stichproben

Alterskategorie 2	Mittelwert	Gepaarte Differenzen		95% Konfidenzintervall der Differenz		T	df	Sig. (2-seitig)
		Std.-Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	Untere	Obere			
Paaren 1 BMI_1 [kg/m ²] - BMI_2 [kg/m ²]	-,06921	,50446	,09210	-,25758	,11916	-,751	29	,458
Paaren 2 BMI_1 [kg/m ²] - BMI_3 [kg/m ²]	-,22472	,49581	,09052	-,40986	-,03958	- 2,482	29	,019
Paaren 3 BMI_2 [kg/m ²] - BMI_3 [kg/m ²]	-,15551	,47940	,08753	-,33452	,02350	- 1,777	29	,086

Tabelle 37: Entwicklung des BMI innerhalb der Alterskategorie 2 (70-74,99 Jahre; n = 30)

4.4. Einfluss des Messzeitpunkts

Stuhltrockenmasse

In Tabelle 3 sind die Mittelwerte der Stuhltrockenmasse in den einzelnen Interventionsgruppen sowie in Tabelle 38 die Mittelwerte der Frauen und Männer zu den drei Messzeitpunkten dargestellt.

	Geschlecht		Statistik	Standard Fehler
Drymass_T1	weiblich	Mittelwert	27,05%	1,01%
		Standard Abweichung	6,06%	
	männlich	Mittelwert	26,95%	1,03%
		Standard Abweichung	6,53%	
Drymass_T2	weiblich	Mittelwert	26,52%	0,79%
		Standard Abweichung	4,72%	
	männlich	Mittelwert	26,53%	0,93%
		Standard Abweichung	5,87%	
Drymass_T3	weiblich	Mittelwert	29,17%	0,83%
		Standard Abweichung	5,01%	
	männlich	Mittelwert	28,35%	0,93%
		Standard Abweichung	5,87%	

Tabelle 38: Darstellung der Mittelwerte der Stuhltrockenmasse der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3

Bei der ANOVA mit Messwiederholung der Trockenmasse konnte Sphärizität angenommen werden. Der Test der Innersubjekteffekte zeigt, dass der Zeitpunkt insgesamt einen signifikanten Einfluss auf die Trockenmasse hat und es einen Haupteffekt des Messzeitpunkts gibt (siehe Tabelle 39). Jedoch haben weder Kombinationen mit der Interventionsgruppe, dem Geschlecht oder der Alterskategorie einen signifikanten Einfluss auf die Trockenmasse. Auch die anschließende Analyse der paarweisen Vergleiche (in Tabelle 40 dargestellt) zeigt, dass sich die Interventionsgruppen bezüglich ihrer Trockenmasse nicht signifikant voneinander unterscheiden (siehe Abbildung 10). Auch zwischen den Alterskategorien zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in der Trockenmasse der Probanden (siehe Abbildung 14).

Maß: Trockenmasse

Tests der Innersubjekteffekte

Quelle		Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.
Zeitpunkt	Sphärizität angenommen	180,651	2	90,325	4,548	,013
	Greenhouse-Geisser	180,651	1,976	91,432	4,548	,013
	Huynh-Feldt	180,651	2,000	90,325	4,548	,013
	Untergrenze	180,651	1,000	180,651	4,548	,037
	Zeitpunkt *	Sphärizität angenommen	83,862	4	20,966	1,056

	Greenhouse-Geisser	83,862	3,952	21,222	1,056	,381
	Huynh-Feldt	83,862	4,000	20,966	1,056	,382
	Untergrenze	83,862	2,000	41,931	1,056	,355
Zeitpunkt *	Sphärizität	,625	2	,313	,016	,984
Geschlecht	angenommen					
	Greenhouse-Geisser	,625	1,976	,316	,016	,984
	Huynh-Feldt	,625	2,000	,313	,016	,984
	Untergrenze	,625	1,000	,625	,016	,901
Zeitpunkt *	Sphärizität	59,029	4	14,757	,743	,565
Alterskategorie	angenommen					
	Greenhouse-Geisser	59,029	3,952	14,938	,743	,563
	Huynh-Feldt	59,029	4,000	14,757	,743	,565
	Untergrenze	59,029	2,000	29,514	,743	,480
Zeitpunkt *	Sphärizität	83,918	4	20,980	1,056	,381
Interventionsgruppe	angenommen					
* Geschlecht	Greenhouse-Geisser	83,918	3,952	21,237	1,056	,381
	Huynh-Feldt	83,918	4,000	20,980	1,056	,381
	Untergrenze	83,918	2,000	41,959	1,056	,354
Zeitpunkt *	Sphärizität	76,939	8	9,617	,484	,865
Interventionsgruppe	angenommen					
* Alterskategorie	Greenhouse-Geisser	76,939	7,903	9,735	,484	,863
	Huynh-Feldt	76,939	8,000	9,617	,484	,865
	Untergrenze	76,939	4,000	19,235	,484	,747
Zeitpunkt *	Sphärizität	81,634	4	20,409	1,028	,396
Geschlecht *	angenommen					
Alterskategorie	Greenhouse-Geisser	81,634	3,952	20,659	1,028	,396
	Huynh-Feldt	81,634	4,000	20,409	1,028	,396
	Untergrenze	81,634	2,000	40,817	1,028	,364
Zeitpunkt *	Sphärizität	157,206	8	19,651	,990	,448
Interventionsgruppe	angenommen					
* Geschlecht *	Greenhouse-Geisser	157,206	7,903	19,891	,990	,447
Alterskategorie	Huynh-Feldt	157,206	8,000	19,651	,990	,448
	Untergrenze	157,206	4,000	39,301	,990	,421
Fehler(Zeitpunkt)	Sphärizität	2303,571	116	19,858		
	angenommen					
	Greenhouse-Geisser	2303,571	114,596	20,102		
	Huynh-Feldt	2303,571	116,000	19,858		
	Untergrenze	2303,571	58,000	39,717		

Tabelle 39: Einfluss des Zeitpunkts und der Innersubjekteffekte Interventionsgruppe, Geschlechts und Alterskategorie auf die Stuhltrockenmasse (n = 76)

Maß: Trockenmasse

Multiple Comparisons

Bonferroni

(I)Interventionsgruppe	(J)Interventionsgruppe	Mittlere Differenz (I-J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Control	Protein low	0,367%	1,2062%	1,000	-2,607%	3,341%
	Protein high	-0,480%	1,0913%	1,000	-3,170%	2,211%
Protein low	Control	-0,367%	1,2062%	1,000	-3,341%	2,607%
	Protein high	-0,846%	1,2319%	1,000	-3,884%	2,191%
Protein high	Control	0,480%	1,0913%	1,000	-2,211%	3,170%
	Protein low	0,846%	1,2319%	1,000	-2,191%	3,884%

Tabelle 40: Paarweiser Vergleich der Stuhltrockenmasse in % zwischen den Interventionsgruppen (n = 76)

Aufnahme von Makronährstoffen

In Tabelle 41 bis Tabelle 46 sind die Mediane bzw. Mittelwerte der wichtigsten ernährungsbezogenen Parameter (Makronährstoffe und Gesamtenergie) der Interventionsgruppen bzw. der Geschlechter zu den drei Zeitpunkten dargestellt.

	Geschlecht		Statistik
Protein_T1 [g/d]	weiblich	Median	42,5
	männlich	Median	75,0
Protein_T2 [g/d]	weiblich	Median	63,0
	männlich	Median	93,0
Protein_T3 [g/d]	weiblich	Median	72,5
	männlich	Median	102,0

Tabelle 41: Darstellung der Mediane der Proteinaufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

Kohlenhydrate_T1 [g/d]	weiblich	Median	139,0
	männlich	Median	214,0
Kohlenhydrate_T2 [g/d]	weiblich	Median	153,5
	männlich	Median	206,5
Kohlenhydrate_T3 [g/d]	weiblich	Median	164,5
	männlich	Median	216,5

Tabelle 42: Darstellung der Mediane der Kohlenhydrataufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

	Geschlecht		Statistik
	Fett_T1 [g/d]	weiblich	Median
	männlich	Median	85,5
Fett_T2 [g/d]	weiblich	Median	69,0
	männlich	Median	97,5
Fett_T3 [g/d]	weiblich	Median	65,5
	männlich	Median	92,0

Tabelle 43: Darstellung der Mediane der Fettaufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

	Geschlecht		Statistik	Standard Fehler
	Wasser_ T1 [g/d]	weiblich	Mittelwert	2611,7
Standard Abweichung			514,3	
männlich		Mittelwert	2851,6	112,0
		Standard Abweichung	708,5	
Wasser_ T2 [g/d]	weiblich	Mittelwert	2551,5	88,4
		Standard Abweichung	530,2	
	männlich	Mittelwert	2727,1	95,0
		Standard Abweichung	601,0	
Wasser_ T3 [g/d]	weiblich	Mittelwert	2418,4	74,3
		Standard Abweichung	446,1	
	männlich	Mittelwert	2541,1	77,7
		Standard Abweichung	491,4	

Tabelle 44: Darstellung der Mittelwerte der Wasseraufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in g/d

	Interventionsgruppe		Statistik	Standard Fehler
	Energie_ T1 [kcal/d]	Control	Mittelwert	1803
Standard Abweichung			708	
Protein low		Mittelwert	2076	166
		Standard Abweichung	724	
Protein high		Mittelwert	1795	150
		Standard Abweichung	780	
Energie_ T2 [kcal/d]	Control	Mittelwert	1903	110
		Standard Abweichung	601	
	Protein low	Mittelwert	2201	158
		Standard Abweichung	690	
	Protein high	Mittelwert	2000	105
		Standard Abweichung	547	

Energie_T3 [kcal/d]	Control	Mittelwert	1895	86
		Standard Abweichung	473	
Protein low		Mittelwert	2186	136
		Standard Abweichung	594	
Protein high		Mittelwert	2003	101
		Standard Abweichung	525	

Tabelle 45: Darstellung der Mittelwerte der Energieaufnahme der Interventionsgruppen (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in kcal/d

		Geschlecht		Statistik	Standard Fehler
Energie_T1 [kcal/d]	weiblich	Mittelwert		1557	101
		Standard Abweichung		609	
	männlich	Mittelwert		2149	117
		Standard Abweichung		739	
Energie_T2 [kcal/d]	weiblich	Mittelwert		1676	83
		Standard Abweichung		499	
	männlich	Mittelwert		2315	85
		Standard Abweichung		541	
Energie_T3 [kcal/d]	weiblich	Mittelwert		1697	62
		Standard Abweichung		374	
	männlich	Mittelwert		2284	78
		Standard Abweichung		495	

Tabelle 46: Darstellung der Mittelwerte der Energieaufnahme der Geschlechter (n = 76) zu den Terminen T1, T2 und T3 in kcal/d

Bei den wichtigsten Ernährungsparametern war nur bei der Energieaufnahme Sphärizität gegeben, auf die anderen Parameter wurde die Korrektur nach Huynh-Feldt angewandt. Der Test der Innersubjekteffekte (siehe Tabelle 47) zeigt, dass der Zeitpunkt insgesamt einen signifikanten Einfluss auf die Proteinaufnahme, die Wasseraufnahme und die Energieaufnahme hat, hier gibt es also einen Haupteffekt des Messzeitpunkts in der Gesamtgruppe von 76 Personen (siehe Abbildung 11, Abbildung 12 bzw. Anhang Abbildung 18). Der Effekt auf die Kohlenhydrataufnahme und die Fettaufnahme ist jedoch nicht signifikant. Der Einfluss des Zeitpunkts und der Interventionsgruppe auf die Proteinaufnahme und Wasseraufnahme sind signifikant, während der Einfluss auf die anderen Parameter nicht signifikant ist. Außerdem spielt der Messzeitpunkt in Kombination mit dem Geschlecht einen signifikanten Einfluss auf die Proteinaufnahme. Die Fettaufnahme hingegen wird signifikant vom Messzeitpunkt und der Alterskategorie, sowie der Interventionsgruppe signifikant beeinflusst.

Die Tests der Zwischensubjekteffekte (siehe Tabelle 48) zeigen, dass es einen Haupteffekt der Interventionsgruppe auf die Proteinaufnahme gibt und es somit einen Unterschied der Gruppen in der Proteinaufnahme gibt. Außerdem zeigt sich ein Haupteffekt des Geschlechts auf die Proteinaufnahme, die Kohlenhydrataufnahme, die Fettaufnahme und die Energieaufnahme (siehe Tabelle 47).

Die in den Tabellen 48 und 50 dargestellten paarweisen Vergleiche unter Anwendung der Bonferroni-Korrektur zeigen einen signifikanten Unterschied in der Proteinaufnahme in der Kontrollgruppe im Vergleich zu der Protein low und der Protein high Gruppe, jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Proteininterventionsgruppen (Abbildung 11). Dagegen unterscheidet sich die Kategorie der 70-74,99 Jährigen signifikant von den 75-85 Jährigen bezüglich der Proteinaufnahme (siehe Abbildung 15). Die anderen Ernährungsbezogenen Parameter unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen.

Tests auf Univariate

Quelle	Maß		Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.
Zeitpunkt	Proteinaufnahme	Sphärizität angenommen	1,139	2	,569	44,126	,000
		Greenhouse-Geisser	1,139	1,683	,677	44,126	,000
		Huynh-Feldt	1,139	2,000	,569	44,126	,000
		Untergrenze	1,139	1,000	1,139	44,126	,000
	Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	5,778	2	2,889	,990	,375
		Greenhouse-Geisser	5,778	1,614	3,581	,990	,360
		Huynh-Feldt	5,778	2,000	2,889	,990	,375
		Untergrenze	5,778	1,000	5,778	,990	,324

	Fettaufnahme	Sphärizität angenommen	,079	2	,040	2,734	,069
		Greenhouse-Geisser	,079	1,777	,045	2,734	,076
		Huynh-Feldt	,079	2,000	,040	2,734	,069
		Untergrenze	,079	1,000	,079	2,734	,104
	Wasseraufnahme	Sphärizität angenommen	1830201,743	2	915100,871	7,424	,001
		Greenhouse-Geisser	1830201,743	1,722	1062765,937	7,424	,002
		Huynh-Feldt	1830201,743	2,000	915100,871	7,424	,001
		Untergrenze	1830201,743	1,000	1830201,743	7,424	,008
	Energieaufnahme	Sphärizität angenommen	1078295,055	2	539147,527	3,489	,034
		Greenhouse-Geisser	1078295,055	1,844	584830,110	3,489	,038
		Huynh-Feldt	1078295,055	2,000	539147,527	3,489	,034
		Untergrenze	1078295,055	1,000	1078295,055	3,489	,067
Zeitpunkt * Interventionsgruppe	Proteinaufnahme	Sphärizität angenommen	,972	4	,243	18,828	,000
		Greenhouse-Geisser	,972	3,366	,289	18,828	,000
		Huynh-Feldt	,972	4,000	,243	18,828	,000
		Untergrenze	,972	2,000	,486	18,828	,000
	Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	6,283	4	1,571	,538	,708

		Greenhouse-Geisser	6,283	3,228	1,947	,538	,670
		Huynh-Feldt	6,283	4,000	1,571	,538	,708
		Untergrenze	6,283	2,000	3,142	,538	,587
Fettaufnahme		Sphärizität angenommen	,062	4	,015	1,068	,376
		Greenhouse-Geisser	,062	3,554	,017	1,068	,373
		Huynh-Feldt	,062	4,000	,015	1,068	,376
		Untergrenze	,062	2,000	,031	1,068	,350
Wasseraufnahme		Sphärizität angenommen	1450375,488	4	362593,872	2,942	,023
		Greenhouse-Geisser	1450375,488	3,444	421103,758	2,942	,030
		Huynh-Feldt	1450375,488	4,000	362593,872	2,942	,023
		Untergrenze	1450375,488	2,000	725187,744	2,942	,061
Energieaufnahme		Sphärizität angenommen	231112,335	4	57778,084	,374	,827
		Greenhouse-Geisser	231112,335	3,688	62673,686	,374	,812
		Huynh-Feldt	231112,335	4,000	57778,084	,374	,827
		Untergrenze	231112,335	2,000	115556,168	,374	,690
Zeitpunkt * Geschlecht	Proteinaufnahme	Sphärizität angenommen	,121	2	,061	4,705	,011
		Greenhouse-Geisser	,121	1,683	,072	4,705	,016
		Huynh-Feldt	,121	2,000	,061	4,705	,011

	Untergrenze	,121	1,000	,121	4,705	,034
Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	2,624	2	1,312	,450	,639
	Greenhouse-Geisser	2,624	1,614	1,626	,450	,597
	Huynh-Feldt	2,624	2,000	1,312	,450	,639
	Untergrenze	2,624	1,000	2,624	,450	,505
Fettaufnahme	Sphärizität angenommen	,013	2	,007	,463	,630
	Greenhouse-Geisser	,013	1,777	,008	,463	,608
	Huynh-Feldt	,013	2,000	,007	,463	,630
	Untergrenze	,013	1,000	,013	,463	,499
Wasseraufnahme	Sphärizität angenommen	127735,036	2	63867,518	,518	,597
	Greenhouse-Geisser	127735,036	1,722	74173,487	,518	,570
	Huynh-Feldt	127735,036	2,000	63867,518	,518	,597
	Untergrenze	127735,036	1,000	127735,036	,518	,475
Energieaufnahme	Sphärizität angenommen	120301,632	2	60150,816	,389	,678
	Greenhouse-Geisser	120301,632	1,844	65247,463	,389	,662
	Huynh-Feldt	120301,632	2,000	60150,816	,389	,678
	Untergrenze	120301,632	1,000	120301,632	,389	,535

Zeitpunkt * Alterskategorie	Proteinaufnahme	Sphärizität angenommen	,117	4	,029	2,273	,066
		Greenhouse-Geisser	,117	3,366	,035	2,273	,078
		Huynh-Feldt	,117	4,000	,029	2,273	,066
		Untergrenze	,117	2,000	,059	2,273	,112
	Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	17,720	4	4,430	1,518	,202
		Greenhouse-Geisser	17,720	3,228	5,490	1,518	,212
		Huynh-Feldt	17,720	4,000	4,430	1,518	,202
		Untergrenze	17,720	2,000	8,860	1,518	,228
	Fettaufnahme	Sphärizität angenommen	,169	4	,042	2,910	,025
		Greenhouse-Geisser	,169	3,554	,047	2,910	,030
		Huynh-Feldt	,169	4,000	,042	2,910	,025
		Untergrenze	,169	2,000	,084	2,910	,062
	Wasseraufnahme	Sphärizität angenommen	238547,733	4	59636,933	,484	,748
		Greenhouse-Geisser	238547,733	3,444	69260,235	,484	,720
		Huynh-Feldt	238547,733	4,000	59636,933	,484	,748
		Untergrenze	238547,733	2,000	119273,866	,484	,619
	Energieaufnahme	Sphärizität angenommen	1020113,307	4	255028,327	1,650	,166

		Greenhouse-Geisser	1020113,307	3,688	276637,167	1,650	,172
		Huynh-Feldt	1020113,307	4,000	255028,327	1,650	,166
		Untergrenze	1020113,307	2,000	510056,654	1,650	,201
Zeitpunkt * Interventionsgruppe * Geschlecht	Proteinaufnahme	Sphärizität angenommen	,032	4	,008	,624	,646
		Greenhouse-Geisser	,032	3,366	,010	,624	,619
		Huynh-Feldt	,032	4,000	,008	,624	,646
		Untergrenze	,032	2,000	,016	,624	,539
	Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	4,447	4	1,112	,381	,822
		Greenhouse-Geisser	4,447	3,228	1,378	,381	,781
		Huynh-Feldt	4,447	4,000	1,112	,381	,822
		Untergrenze	4,447	2,000	2,223	,381	,685
	Fettaufnahme	Sphärizität angenommen	,056	4	,014	,973	,425
		Greenhouse-Geisser	,056	3,554	,016	,973	,419
		Huynh-Feldt	,056	4,000	,014	,973	,425
		Untergrenze	,056	2,000	,028	,973	,384
Wasseraufnahme	Sphärizität angenommen	357265,460	4	89316,365	,725	,577	
	Greenhouse-Geisser	357265,460	3,444	103728,882	,725	,558	
	Huynh-Feldt	357265,460	4,000	89316,365	,725	,577	

		Untergrenze	357265,460	2,000	178632,730	,725	,489
	Energieaufnahme	Sphärizität angenommen	520083,852	4	130020,963	,841	,502
		Greenhouse-Geisser	520083,852	3,688	141037,787	,841	,494
		Huynh-Feldt	520083,852	4,000	130020,963	,841	,502
		Untergrenze	520083,852	2,000	260041,926	,841	,436
Zeitpunkt *	Proteinaufnahme	Sphärizität angenommen	,198	8	,025	1,914	,064
Interventionsgruppe *		Greenhouse-Geisser	,198	6,732	,029	1,914	,078
Alterskategorie		Huynh-Feldt	,198	8,000	,025	1,914	,064
		Untergrenze	,198	4,000	,049	1,914	,120
	Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	26,976	8	3,372	1,155	,332
		Greenhouse-Geisser	26,976	6,455	4,179	1,155	,337
		Huynh-Feldt	26,976	8,000	3,372	1,155	,332
		Untergrenze	26,976	4,000	6,744	1,155	,340
	Fettaufnahme	Sphärizität angenommen	,242	8	,030	2,082	,043
		Greenhouse-Geisser	,242	7,108	,034	2,082	,051
		Huynh-Feldt	,242	8,000	,030	2,082	,043
		Untergrenze	,242	4,000	,060	2,082	,095

	Wasseraufnahme	Sphärizität angenommen	1108696,373	8	138587,04 7	1,124	,352
		Greenhouse-Geisser	1108696,373	6,8 88	160950,11 7	1,124	,354
		Huynh-Feldt	1108696,373	8,0 00	138587,04 7	1,124	,352
		Untergrenze	1108696,373	4,0 00	277174,09 3	1,124	,354
	Energieaufnahme	Sphärizität angenommen	931502,315	8	116437,78 9	,754	,644
		Greenhouse-Geisser	931502,315	7,3 75	126303,69 6	,754	,634
		Huynh-Feldt	931502,315	8,0 00	116437,78 9	,754	,644
		Untergrenze	931502,315	4,0 00	232875,57 9	,754	,560
Zeitpunkt * Geschlecht * Alterskategorie	Proteinaufnahme	Sphärizität angenommen	,024	4	,006	,457	,767
		Greenhouse-Geisser	,024	3,3 66	,007	,457	,735
		Huynh-Feldt	,024	4,0 00	,006	,457	,767
		Untergrenze	,024	2,0 00	,012	,457	,636
	Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	24,214	4	6,053	2,074	,089
		Greenhouse-Geisser	24,214	3,2 28	7,502	2,074	,104
		Huynh-Feldt	24,214	4,0 00	6,053	2,074	,089
		Untergrenze	24,214	2,0 00	12,107	2,074	,135
	Fettaufnahme	Sphärizität angenommen	,101	4	,025	1,749	,144

		Greenhouse-Geisser	,101	3,554	,029	1,749	,152
		Huynh-Feldt	,101	4,000	,025	1,749	,144
		Untergrenze	,101	2,000	,051	1,749	,183
	Wasseraufnahme	Sphärizität angenommen	54707,740	4	13676,935	,111	,978
		Greenhouse-Geisser	54707,740	3,444	15883,911	,111	,967
		Huynh-Feldt	54707,740	4,000	13676,935	,111	,978
		Untergrenze	54707,740	2,000	27353,870	,111	,895
	Energieaufnahme	Sphärizität angenommen	1038770,316	4	259692,579	1,681	,159
		Greenhouse-Geisser	1038770,316	3,688	281696,626	1,681	,165
		Huynh-Feldt	1038770,316	4,000	259692,579	1,681	,159
		Untergrenze	1038770,316	2,000	519385,158	1,681	,195
Zeitpunkt *	Proteinaufnahme	Sphärizität angenommen	,061	8	,008	,593	,782
Interventionsgruppe * Geschlecht		Greenhouse-Geisser	,061	6,732	,009	,593	,754
* Alterskategorie		Huynh-Feldt	,061	8,000	,008	,593	,782
		Untergrenze	,061	4,000	,015	,593	,669
	Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	15,666	8	1,958	,671	,716
		Greenhouse-Geisser	15,666	6,455	2,427	,671	,684
		Huynh-Feldt	15,666	8,000	1,958	,671	,716

	Untergrenze	15,666	4,000	3,917	,671	,615
Fettaufnahme	Sphärizität angenommen	,139	8	,017	1,195	,308
	Greenhouse-Geisser	,139	7,108	,020	1,195	,312
	Huynh-Feldt	,139	8,000	,017	1,195	,308
	Untergrenze	,139	4,000	,035	1,195	,323
Wasseraufnahme	Sphärizität angenommen	962090,729	8	120261,341	,976	,459
	Greenhouse-Geisser	962090,729	6,888	139667,288	,976	,452
	Huynh-Feldt	962090,729	8,000	120261,341	,976	,459
	Untergrenze	962090,729	4,000	240522,682	,976	,428
Energieaufnahme	Sphärizität angenommen	861745,179	8	107718,147	,697	,693
	Greenhouse-Geisser	861745,179	7,375	116845,228	,697	,682
	Huynh-Feldt	861745,179	8,000	107718,147	,697	,693
	Untergrenze	861745,179	4,000	215436,295	,697	,597
Fehler(Zeitpunkt)	Proteinaufnahme	1,497	116	,013		
	Greenhouse-Geisser	1,497	97,608	,015		
	Huynh-Feldt	1,497	116,000	,013		
	Untergrenze	1,497	58,000	,026		

Kohlenhydrataufnahme	Sphärizität angenommen	338,562	116	2,919	
	Greenhouse-Geisser	338,562	93,598	3,617	
	Huynh-Feldt	338,562	116,000	2,919	
	Untergrenze	338,562	58,000	5,837	
Fettaufnahme	Sphärizität angenommen	1,682	116	,015	
	Greenhouse-Geisser	1,682	103,072	,016	
	Huynh-Feldt	1,682	116,000	,015	
	Untergrenze	1,682	58,000	,029	
Wasseraufnahme	Sphärizität angenommen	14298131,046	116	123259,750	
	Greenhouse-Geisser	14298131,046	99,882	143149,535	
	Huynh-Feldt	14298131,046	116,000	123259,750	
	Untergrenze	14298131,046	58,000	246519,501	
Energieaufnahme	Sphärizität angenommen	17924814,989	116	154524,267	
	Greenhouse-Geisser	17924814,989	106,939	167617,284	
	Huynh-Feldt	17924814,989	116,000	154524,267	

Untergrenze	17924814,98	58,9	309048,53	4
-------------	-------------	------	-----------	---

Tabelle 47: Einfluss des Zeitpunkts und der Innersubjekteffekte Interventionsgruppe, Geschlechts und Alterskategorie auf die Aufnahme von Protein [g/d], Kohlenhydraten [g/d], Fett [g/d], Wasser [g/d] und Energie [kcal/d] (n = 76)

Multiple Comparisons

Bonferroni

Maß	(I)Interventionsgruppe	(J)Interventionsgruppe	Mittlere	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
			Differenz (I-J)			Untergrenze	Obergrenze
Proteinaufnahme	Control	Protein low	-,1138*	,03198	,002	-,1926	-,0349
		Protein high	-,1681*	,02894	,000	-,2395	-,0968
	Protein low	Control	,1138*	,03198	,002	,0349	,1926
		Protein high	-,0544	,03267	,304	-,1349	,0262
	Protein high	Control	,1681*	,02894	,000	,0968	,2395
		Protein low	,0544	,03267	,304	-,0262	,1349
Kohlenhydrataufnahme	Control	Protein low	-,5814	,61215	1,000	-2,0906	,9278
		Protein high	,3905	,55385	1,000	-,9750	1,7560
	Protein low	Control	,5814	,61215	1,000	-,9278	2,0906
		Protein high	,9719	,62519	,376	-,5694	2,5133
	Protein high	Control	-,3905	,55385	1,000	-1,7560	,9750
		Protein low	-,9719	,62519	,376	-2,5133	,5694
Fettaufnahme	Control	Protein low	-,0471	,03456	,534	-,1323	,0381
		Protein high	,0140	,03127	1,000	-,0631	,0911
	Protein low	Control	,0471	,03456	,534	-,0381	,1323
		Protein high	,0611	,03529	,266	-,0259	,1481
	Protein high	Control	-,0140	,03127	1,000	-,0911	,0631
		Protein low	-,0611	,03529	,266	-,1481	,0259
Wasseraufnahme	Control	Protein low	-90,11	128,993	1,000	-408,13	227,91
		Protein high	-178,34	116,708	,396	-466,07	109,39

	Protein low	Control	90,11	128,993	1,00	-227,91	408,13	
		Protein high	-88,23	131,743	1,00	-413,03	236,57	
	Protein high	Control	178,34	116,708	,396	-109,39	466,07	
		Protein low	88,23	131,743	1,00	-236,57	413,03	
	Energieaufnahme	Control	Protein low	-	125,750	,079	-	23,1352
			Protein high	286,89	57		596,915	
		Protein low	Control	286,89	125,750	,079	-	596,915
			Protein high	221,70	128,430	,269	-	538,335
Protein high		Control	65,187	113,774	1,00	-	345,686	
		Protein low	-	128,430	,269	-	94,9310	
			01	57		3		
			7	33	0	7	4	

Tabelle 48: Paarweiser Vergleich der ernährungsbezogenen Parameter zwischen den Interventionsgruppen (n = 76)

Ballaststoffe

Die Mediane der Ballaststoffaufnahme der Interventionsgruppen und der Geschlechter sind in Tabelle 15 bzw. Tabelle 49 dargestellt. Die Analyse der Ballaststoffaufnahme wurde unter dem Korrekturfaktor Epsilon nach Huynh-Feldt durchgeführt. Der Test der Innersubjekteffekte in Tabelle 52 zeigt einen signifikanten Einfluss durch den Messzeitpunkt in Kombination mit dem Geschlecht, andere Gruppierungen spielen hier jedoch keine Rolle. Auch der Test der Zwischensubjekteffekte ergibt keinen signifikanten Einfluss des Zeitpunkts alleine oder in Kombination mit anderen Faktoren wie Geschlecht, Alterskategorie oder Interventionsgruppe auf die Ballaststoffaufnahme. Auch der paarweise Vergleich mittels Bonferoni korrigiertem Post-Hoc-Test zeigt keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Ballaststoffaufnahme zwischen den Interventionsgruppen bzw. den Altersgruppen.

	Geschlecht		Statistik
Ballaststoffe_T1 [g/d]	weiblich	Median	13,5
	männlich	Median	20,5
Ballaststoffe_T2 [g/d]	weiblich	Median	17,5
	männlich	Median	14,0
Ballaststoffe_T3 [g/d]	weiblich	Median	13,5
	männlich	Median	14,5

Tabelle 49: Darstellung der Mediane der Ballaststoffaufnahme der Geschlechter (n = 58) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3 in g/d

Körpergewicht und BMI

In die Analyse des Körpergewichts und des BMI konnten 36 weibliche und 40 männliche Probanden miteinbezogen werden, die Mittelwerte der Geschlechter sind in Tabelle 53 bzw. Tabelle 54 dargestellt (Mittelwerte der Interventionsgruppen siehe Tabelle 17 bzw. Tabelle 19). Der Mauchly-Test auf Sphärizität ergab Signifikanz für das Körpergewicht und den BMI, daher wurde die Anpassung mit dem Korrekturfaktor Epsilon nach Huynh-Feldt herangezogen. Es hat sich gezeigt, dass der Messzeitpunkt einen signifikanten Einfluss auf das Körpergewicht und den BMI hat (siehe Anhang Abbildung 19 und Abbildung 21). Außerdem zeigt sich ein signifikanter Einfluss des Zeitpunkts in Kombination mit der Interventionsgruppe, der Alterskategorie und dem Geschlecht auf den BMI hat. Die Ergebnisse sind in Tabelle 55 dargestellt. Der paarweise Vergleichstest zeigte zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Körpergewichts bzw. des BMI.

	Geschlecht		Statistik	Standard Fehler
Gewicht_T1 [kg]	weiblich	Mittelwert	68,06	2,04
		Standard Abweichung	12,24	
	männlich	Mittelwert	80,48	1,73
		Standard Abweichung	10,95	
Gewicht_T2 [kg]	weiblich	Mittelwert	68,37	1,95
		Standard Abweichung	11,70	
	männlich	Mittelwert	80,63	1,70
		Standard Abweichung	10,72	

Gewicht_T3 [kg]	weiblich	Mittelwert	68,57	1,96
		Standard Abweichung	11,74	
	männlich	Mittelwert	81,18	1,79
		Standard Abweichung	11,34	

Tabelle 53: Darstellung der Mittelwerte des Gewichts der Geschlechter (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3

	Geschlecht		Statistik	Standard Fehler
BMI_T1 [kg/m ²]	weiblich	Mittelwert	26,0	,6
		Standard Abweichung	3,8	
	männlich	Mittelwert	25,8	,6
		Standard Abweichung	3,5	
BMI_T2 [kg/m ²]	weiblich	Mittelwert	26,2	,6
		Standard Abweichung	3,5	
	männlich	Mittelwert	25,9	,5
		Standard Abweichung	3,4	
BMI_T3 [kg/m ²]	weiblich	Mittelwert	26,2	,6
		Standard Abweichung	3,5	
	männlich	Mittelwert	26,0	,6
		Standard Abweichung	3,7	

Tabelle 54: Darstellung der Mittelwerte des BMI der Geschlechter (n = 76) zu den Zeitpunkten T1, T2 und T3

4.5. Gruppenunterschiede zu den einzelnen Zeitpunkten

Zeitpunkt T1

Zum Zeitpunkt T1 unterscheiden sich weder die Interventionsgruppen noch die Altersgruppen signifikant bezüglich ihrer Stuhltrockenmasse, ihrer Protein-, Fett-, Ballaststoff-, Kohlenhydrat- bzw. Energieaufnahme, sowie ihres Körpergewichts.

Zeitpunkt T2

Die Analyse ergibt zum Zeitpunkt T2 keine Unterschiede in der Stuhltrockenmasse zwischen den Interventionsgruppen und Alterskategorien. Wie Tabelle 56 und Abbildung 11 zeigen, unterscheiden sich zu diesem Zeitpunkt alle Interventionsgruppen signifikant in ihrer Proteinaufnahme voneinander. Außerdem unterscheiden sich die 65-69,99 Jährigen signifikant von den 75-85 Jährigen bzw. die

70-74,99 Jährigen von den 75-85 Jährigen (siehe Abbildung 15 und Anhang Tabelle 64). Bezüglich der Ballaststoffaufnahme unterscheiden sich die Interventionsgruppen und auch die Alterskategorien zum Zeitpunkt T2 nicht signifikant voneinander. Bei der Kohlenhydrataufnahme gibt es nur signifikante Unterschiede zwischen den jüngsten und den ältesten Probanden (siehe Anhang Tabelle 65). Die Interventionsgruppen unterscheiden sich zwar in der Energieaufnahme nicht voneinander, jedoch zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den 65-69,99 Jährigen und den 75-85 Jährigen, sowie zwischen den 70-74,99 Jährigen und den 75-85 Jährigen (siehe Anhang Tabelle 66). Das Körpergewicht der Probanden unterscheidet sich jedoch weder zwischen den Interventionsgruppen und Alterskategorien signifikant.

Abhängige Variable: Protein_T2*

Multiple Comparisons

Bonferroni

(I)Interventionsgruppe	(J)Interventionsgruppe	Mittlere Differenz (I-J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Control	Protein low	-,1070*	,03398	,008	-,1908	-,0232
	Protein high	-,2496*	,03075	,000	-,3254	-,1738
Protein low	Control	,1070*	,03398	,008	,0232	,1908
	Protein high	-,1426*	,03471	,000	-,2282	-,0570
Protein high	Control	,2496*	,03075	,000	,1738	,3254
	Protein low	,1426*	,03471	,000	,0570	,2282

Tabelle 56: Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen (n = 76) in der Proteinaufnahme zum Zeitpunkt T2

Zeitpunkt T3

Auch zum letzten Testzeitpunkt T3 sind keine signifikanten Unterschiede der Trockenmasse zwischen den Interventionsgruppen und Alterskategorien zu beobachten. Bezüglich der Proteinaufnahme unterscheiden sich zu diesem Zeitpunkt jedoch alle Interventionsgruppen signifikant voneinander, wie Tabelle 57 und Abbildung 11 zeigen. Keine signifikanten Unterschiede zeigen sich zu diesem Zeitpunkt zwischen den Alterskategorien.

Auch zum Zeitpunkt T3 unterscheiden sich weder die Interventionsgruppen noch die Alterskategorien signifikant voneinander hinsichtlich der Kohlenhydrataufnahme.

Betrachtet man die Energieaufnahme gibt es nur signifikante Unterschiede zwischen den jüngsten und ältesten (siehe Anhang Tabelle 67).

Die in Tabelle 58 und Abbildung 13 dargestellte Ballaststoffaufnahme zum Zeitpunkt T3 zeigt, dass sich die Mittelwerte der Kontrollgruppe signifikant von denen der Protein low Gruppe, sowie von denen der Protein high Gruppe unterscheiden. Die beiden Proteingruppen unterscheiden sich jedoch nicht signifikant voneinander und auch zwischen den Alterskategorien gibt es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Ballaststoffaufnahme. Der Mittelwert des Körpergewichts der Probanden unterscheidet sich nur signifikant zwischen der Kontrollgruppe und der Protein low Gruppe (siehe Tabelle 59 und Anhang Abbildung 19).

Multiple Comparisons

Abhängige Variable: Protein_T3*

Bonferroni

(I)Interventionsgruppe	(J)Interventionsgruppe	Mittlere	Standard	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
		Differenz			Fehler	Untergrenze
		(I-J)				
Control	Protein low	-,1382*	,03386	,000	-,2217	-,0547
	Protein high	-,2730*	,03063	,000	-,3485	-,1974
Protein low	Control	,1382*	,03386	,000	,0547	,2217
	Protein high	-,1347*	,03458	,001	-,2200	-,0495
Protein high	Control	,2730*	,03063	,000	,1974	,3485
	Protein low	,1347*	,03458	,001	,0495	,2200

Tabelle 57: Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen (n = 76) in der Proteinaufnahme zum Zeitpunkt T3

Multiple Comparisons

Abhängige Variable: Ballaststoffe_T3*

Bonferroni

(I)Interventionsgruppe	(J)Interventionsgruppe	Mittlere	Standard	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
		Differenz			Fehler	Untergrenze
		(I-J)				
Control	Protein low	,1755*	,05398	,006	,0423	,3086
	Protein high	,2131*	,04933	,000	,0914	,3348
Protein low	Control	-,1755*	,05398	,006	-,3086	-,0423
	Protein high	,0376	,05557	1,000	-,0994	,1747
Protein high	Control	-,2131*	,04933	,000	-,3348	-,0914

Protein low	-,0376	,05557	1,000	-,1747	,0994
-------------	--------	--------	-------	--------	-------

Tabelle 58: Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen (n = 58) in der Ballaststoffaufnahme zum Zeitpunkt T3

Multiple Comparisons

Abhängige Variable: Gewicht_3 [kg]

Bonferroni

(I)Interventionsgruppe	(J)Interventionsgruppe	Mittlere Differenz (I-J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Control	Protein low	-8,462*	3,3282	,041	-16,668	-,257
	Protein high	-,665	3,0112	1,000	-8,089	6,759
Protein low	Control	8,462*	3,3282	,041	,257	16,668
	Protein high	7,797	3,3992	,076	-,583	16,178
Protein high	Control	,665	3,0112	1,000	-6,759	8,089
	Protein low	-7,797	3,3992	,076	-16,178	,583

Tabelle 59: Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen (n = 76) im Körpergewicht zum Zeitpunkt T3

5. Diskussion

Über die relative Stuhl-trockenmasse, die mittels Gefrier-trocknung erhalten wurde, und die anschließende Messung der Restenergie mittels Bombenkalorimeter sollte die Menge an Protein ermittelt werden, die nicht verstoffwechselt werden konnte. In die Analyse konnten nur 76 bzw. bei der Analyse der Ballaststoffaufnahme nur 58 Probanden einbezogen werden, was zu relativ kleinen Interventionsgruppen führte. Im Vorfeld der Analysen wurde angenommen, dass die Gabe von Protein in einer Konzentration von 2 g/kg KG/d zu hoch ist, um vollständig vom Körper aufgenommen werden zu können. Demnach müsste das nicht aufgenommene Protein mit dem Stuhl ausgeschieden werden und sich in einer Erhöhung der Trockenmasse zeigen. Es gibt zwar insgesamt einen signifikanten Einfluss des Messzeitpunkts auf die Trockenmasse, jedoch unterscheiden sich die Mittelwerte der Trockenmassen der Interventionsgruppen nicht signifikant voneinander.

Wie in Abbildung 10 zu erkennen ist, folgen die relativen Trockenmassen der Interventionsgruppen einem ähnlichen Trend. Bei der getrennten Betrachtung der Interventionsgruppen fällt auf, dass sich die Trockenmasse der Kontrollgruppe am stärksten verändert hat. Diese Gruppe sollte die Ernährungsgewohnheiten beibehalten, weshalb erwartet wurde, dass sie sich nicht wesentlich vom Beginn der Studie verändert. Die Trockenmasse der Protein low Gruppe, die nach der gängigen Empfehlung 1 g/kg KG/d Protein aufnahm, veränderte sich nicht mehr als 0,2 %, während sich die Trockenmasse der Protein high Gruppe wesentlich stärker veränderte. Zum zweiten Messzeitpunkt liegt der Mittelwert der Trockenmasse unter dem Ausgangswert und steigt wieder um über 2 % an, jedoch ist dies keine signifikante Veränderung. Es hat sich also nur die Trockenmasse der Kontrollgruppe signifikant verändert (siehe Tabelle 4).

Die Ursachen für die signifikanten Unterschiede der Mittelwerte der relativen Trockenmasse in der Kontrollgruppe sind nicht eindeutig. In der Literatur werden als Einflussfaktoren auf die Stuhl-trockenmasse die Ernährung, insbesondere Ballaststoffe, als auch die Bioverfügbarkeit von Lebensmittelinhaltsstoffen, das Alter, sowie etwaige Krankheiten genannt, außerdem beeinflussen das Geschlecht und das Körpergewicht den Stuhl. [Rose et al., 2015; Grahofer et al., 2016; Schouw et al., 2002] Eindeutige Hinweise darauf, dass die Aufnahme von erhöhten Mengen an Protein einen Einfluss auf die Trockenmasse hat, gibt es nach aktuellem Stand nicht. Sowohl eine

gleichmäßige Verteilung der Geschlechter, als auch ein annähernd gleiches Durchschnittsalter ist zwischen den Interventionsgruppen gegeben (siehe Tabelle 1 und Anhang Tabelle 62), diese Faktoren können deshalb neben etwaigen Krankheiten als Ursache für die abweichenden Werte der Kontrollgruppe ausgeschlossen werden. Das durchschnittliche Körpergewicht der Probanden unterscheidet sich zwischen der Kontrollgruppe und der Protein high Gruppe kaum, jedoch liegt das Gewicht der Probanden der Protein low Gruppe wesentlich über dem der anderen Gruppen (siehe Abbildung 19), jedoch ist dieser Unterschied nicht signifikant.

Besonderes Augenmerk bei der Analyse wird auf die ernährungsbezogenen Parameter gelegt. Im Fokus steht die Proteinaufnahme, die sich in der Kontrollgruppe über die Studiendauer nur gering bzw. nicht signifikant erhöhte. Jedoch stiegen die beiden Protein Gruppen so stark an, dass sich die Proteinaufnahme der Protein low Gruppe, sowie der Protein high Gruppe zum Zeitpunkt T2 und T3 bereits signifikant von der Proteinaufnahme der Kontrollgruppe unterscheiden (siehe Abbildung 11). Betrachtet man die Wasseraufnahme (siehe Abbildung 12 und Tabelle 13), zeichnet sich in der Kontrollgruppe ein umgekehrtes Bild zur Trockenmasse ab. Von T1 ($2582,4 \pm 571,6$ g/d) zu T2 ($2663,9 \pm 528,2$ g/d) steigt die Wasseraufnahme, jedoch nicht signifikant, und fällt dann zum Zeitpunkt T3 ($2360,8 \pm 470,9$ g/d) signifikant ab. Generell sind die Entwicklungen der Trockenmasse und Wasseraufnahme eher gegenläufig, jedoch nicht signifikant. Eine derartige Entwicklung ist nicht überraschend, da die Aufnahme von Flüssigkeiten und die Konsistenz von Stuhl zusammenzuhängen scheinen. Markland et al. (2013) fanden einen Zusammenhang zwischen verminderter Flüssigkeitsaufnahme und Verstopfungen. Die Regulation von Verstopfungen durch die Aufnahme einer höheren Menge an Flüssigkeit [Markland et al., 2013] scheint ein einfaches und schnelles Tool zu sein, um die Stuhlzusammensetzung bzw. die Weichheit und den Wassergehalt zu beeinflussen. Durch die Veränderung der Wasseraufnahme könnte sich die Trockenmasse der Probanden in Kontrollgruppe dementsprechend entwickelt haben. Dies ist jedoch nur eine Mutmaßung, zur Klärung dieser Frage bedarf es noch weiterer spezifischerer Studien.

Außerdem wurden in der Kontrollgruppe die Ernährungsgewohnheiten beibehalten, was aber nicht bedeutet, dass jeden Tag dasselbe gegessen wird. Eine weitere mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Mittelwerte der Trockenmasse sind saisonale Unterschiede (die Studie wurde zwischen Juli 2018 und Dezember 2018 durchgeführt) in der Verfügbarkeit von Lebensmitteln oder in den individuellen

Vorlieben, wodurch es zu Veränderungen der Stuhlzusammensetzung kommen kann. Zusätzlich zur saisonbedingt veränderten Lebensmittelwahl, gibt es auch einen möglichen Einfluss der Flüssigkeitsaufnahme. Die Mittelwerte deuten darauf hin, dass sich die Flüssigkeitsaufnahme zu T3 reduziert hat. So gibt es in der Kontrollgruppe, sowie in der Protein high Gruppe signifikante Unterschiede zwischen T1 ($2947,9 \pm 766,9$ g/d) und T3 ($2584,6 \pm 509,6$ g/d).

Andere Parameter, wie u.a. die Ballaststoffaufnahme oder das Körpergewicht verändern sich nicht in der Kontrollgruppe über die Dauer der Studie und spielen keine Rolle für die signifikanten Unterschiede der Mittelwerte der Trockenmasse zu den Messzeitpunkten.

Eine mögliche Erklärung dafür, dass es keine Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Protein low Gruppe gibt, ist die Menge an Protein, die aufgenommen wurde. Die Empfehlung für die tägliche Proteinaufnahme wird in der Regel vom Großteil der europäischen Bevölkerung erreicht [EFSA, 2012]. Auch der derzeitige Trend zu proteinreicher Ernährung kann zum Erreichen der Empfehlung beigetragen. Von Senioren, die sich für Ernährungs- und Lifestyle-Themen interessieren, kann demnach angenommen werden, dass sie die Proteinempfehlung erreichen. Durch die Teilnahme an der „NutriAging“ Studie und die Proteinintervention sind bei diesen Personen nur geringe Erhöhungen bezüglich der Proteinaufnahme zu beobachten, weshalb sich auch die Stuhltrockenmasse nicht verändert.

Während sich die Trockenmasse nicht wesentlich verändert, steigt die Proteinaufnahme in der Protein low Gruppe leicht an und es gibt signifikante Unterschiede zwischen T1 (Median 70,0 g/d) und T3 (Median 80,0 g/d) (siehe Tabelle 8). Jedoch gibt es bei den anderen analysierten Parametern keine wesentlichen Veränderungen.

Die Mittelwerte der Stuhltrockenmasse zu den drei Messzeitpunkten in der Protein high Gruppe unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant voneinander, auch wenn es in Abbildung 10 einen klar ersichtlichen Aufwärtstrend von T2 auf T3 gibt, was auch der Entwicklung der Kontrollgruppe entspricht (jedoch mit signifikanten Unterschieden der Zeitpunkte). Durch die Aufnahme von 2 g/kg KG Protein steigt die Proteinaufnahme deutlich an und unterscheidet sich zu T2 signifikant von T1 und den anderen Gruppen, so auch zu T3 (siehe Tabelle 9). Betrachtet man die Wasseraufnahme der Protein high Gruppe (siehe Tabelle 14 und Abbildung 12), fällt auf, dass sie von T1 zu T2 bzw.

deutlich abfällt und sich T2 sowie T3 signifikant von T1 unterscheiden. Der Abfall der Wasseraufnahme geht jedoch in diesem Fall nicht mit einer gesteigerten Trockenmasse einher.

Während sowohl die Fett- als auch die Kohlenhydrataufnahme in der analysierten Suchgruppe keine wesentlichen Veränderungen zeigen, gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen T1 und T3 in der Ballaststoffaufnahme der Protein high Gruppe. Die Ballaststoffaufnahme sinkt zu T3 deutlich, während, wie in Abbildung 10 ersichtlich, die Trockenmasse (nicht signifikant) steigt. Eine solche Entwicklung ist auch in der Literatur zu finden. Durch die gute Wasserbindungsfähigkeit nicht löslicher Ballaststoffe wird mehr Wasser ausgeschieden und der Trockenmasseanteil am Stuhl erniedrigt. [Rose et al., 2015] Die kohärenten Ergebnisse einer Studie an Schweinen unterstützt zum Teil die These, jedoch wird davon ausgegangen, dass die Ballaststoffart eine entscheidende Rolle für den Einfluss auf die Stuhltrockenmasse spielt [Tabeling, Schwier & Kamphues, 2003]. Es ist jedoch zu beachten, dass die tatsächliche Ballaststoffaufnahme aufgrund des nicht bekannten Gehalts der Interventionslebensmittel wahrscheinlich höher ist, was einen Einfluss auf die beschriebenen Effekte haben kann.

Auch das Körpergewicht und somit der BMI verändern sich über die Zeit in der Protein high Gruppe nicht, daher ist davon auszugehen, dass sie die Entwicklung der Trockenmasse nicht beeinflussen.

Signifikante Unterschiede gibt es auch zwischen den Alterskategorien z.B. zum Zeitpunkt T2 in der Protein-, Kohlenhydrat- und Energieaufnahme, bzw. zum Zeitpunkt T3 in der Energieaufnahme. Jedoch ist nicht anzunehmen, dass diese Unterschiede einen Einfluss auf die Trockenmasse der Interventionsgruppen haben, da es keine signifikanten Unterschiede im durchschnittlichen Alter der Probanden, sowie in der Verteilung der Alterskategorien in den Interventionsgruppen gibt (siehe Anhang Tabelle 62).

6. Schlussbetrachtung

In dieser Arbeit werden die Stuhl trockenmasse und mögliche Einflussfaktoren auf diese analysiert. Besonderes Augenmerk wird dabei auf die Proteinaufnahme gelegt. Außerdem fließen ernährungsbezogene bzw. anthropometrische Parameter, die laut Literatur einen Einfluss auf die Trockenmasse haben können, in die Analyse mit ein. Dabei kann jedoch kein Einfluss der Proteinaufnahme in den Interventionsgruppen auf die Stuhl trockenmasse nachgewiesen werden.

Die einzige Gruppe, die signifikante Unterschiede der Mittelwerte der Trockenmasse zu den Messzeitpunkten aufweist, ist die Kontrollgruppe. Jedoch gibt es in diesem Fall keine eindeutige Erklärung für die Entwicklung der Trockenmasse. Möglicherweise könnte hier die Wasseraufnahme eine Rolle spielen, die sich entgegengesetzt zur Trockenmasse verhält. Zur Klärung dieses möglichen Zusammenhangs bedarf es jedoch weiterer Untersuchungen.

In der Protein low Gruppe zeichnet sich eine leichte Steigerung mit signifikantem Unterschied der Proteinaufnahme zwischen T1 (Median 70,0 g/d) und T3 (Median 80,0 g/d) ab. Jedoch gibt es in dieser Gruppe keine Veränderung der Trockenmasse vom Start der Studie bis zum Ende.

Auch die Mittelwerte der Trockenmasse der Protein high Gruppe unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt voneinander. Zu beobachten ist jedoch eine gesteigerte Proteinaufnahme, wie es geplant war. Diese Beobachtungen legen den Schluss nahe, dass das Protein wie gewöhnlich aufgenommen wurde und das „Mehr“ an Protein nicht wie vermutet über den Stuhl ausgeschieden wurde. Die Ballaststoffaufnahme der Protein high Gruppe sinkt zwischen T1 (Median 18,0 g/d) und T3 (Median 13,0 g/d) klar ersichtlich, während die Trockenmasse sich nach oben orientiert, aber keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten aufweisen kann. Ähnliche Ergebnisse sind auch in der Literatur zu finden. Auch hier ist zu beachten, dass die Ballaststoffaufnahme nicht vollständig dokumentiert ist.

Der Vergleich der Ergebnisse mit anderen Arbeiten fällt schwer, da diese Fragestellung an Menschen zu gleichen Bedingungen noch nicht untersucht wurde. Um die Frage zu beantworten, ob sich eine erhöhte Proteinaufnahme auf die Trockenmasse auswirkt, bzw. ob das gesamte Protein aufgenommen werden kann, oder ein Überschuss mit dem Stuhl ausgeschieden wird und dadurch die Stuhl trockenmasse erhöht, bedarf es

weiterer Studien. Nötig sind Studien unter standardisierten Rahmenbedingungen vor allem bezüglich der Ernährung. Dabei sollte die Zusammensetzung der Nahrung so gestaltet sein, dass der Fokus auf den Proteinen liegt und die Mengen an möglichen Einflussfaktoren, wie z.B. die Ballaststoffaufnahme auf einem konstanten Level niedrig gehalten wird.

7. Zusammenfassung

Die „NutriAging“ Studie ist ein EU-Projekt, das als Ziel die Untersuchung einzelner Nährstoffe zusammen mit Krafttraining hat und somit einen positiven Einfluss auf die Lebensqualität von Senioren erreichen will. Dazu wurde eine erste Interventionsstudie mit dem Fokus auf Protein über 17 Wochen durchgeführt. Die Probanden zwischen 65 und 85 Jahre wurden randomisiert einer von drei Gruppe zugeteilt. Es gab eine Kontrollgruppe, die ihre Ernährungs- und Bewegungsgewohnheiten beibehalten sollte, die Protein low Gruppe mit einer Zielaufnahme von Protein von 1 g/kg KG/d, was der gängigen täglichen Empfehlung in Österreich entspricht, und die Protein high Gruppe mit einer Zielaufnahme von 2 g/kg KG/d. Um die Proteinvorgabe zu erreichen, wurden die Probanden von einem Studienteam mit proteinreichen Lebensmitteln unterstützt.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu ergründen, ob eine erhöhte Aufnahme von Protein im Umfang von 2 g/kg KG/d überhaupt vom Körper aufgenommen werden kann, oder ob ein Überschuss mit dem Stuhl ausgeschieden wird. Dies wurde mittels Gefriertrocknung über die Stuhltrockenmasse untersucht. Die Probanden gaben zu drei Terminen Stuhlproben ab, nämlich zu Beginn der Studie vor Beginn der Intervention, sechs Wochen nach der ersten Abgabe, sowie acht Wochen nach der zweiten Abgabe bei Beendigung der Studie. Die Entwicklung der Trockenmasse innerhalb sowie zwischen den Interventionsgruppen und ernährungsbezogene Parameter wurden analysiert, außerdem wurden die Faktoren Alterskategorie und Geschlecht miteinbezogen.

Die Stuhltrockenmasse unterschied sich zu keinem Zeitpunkt zwischen den Interventionsgruppen. Die Unterschiede in der Proteinaufnahme zeigen demnach keinen Einfluss auf die Stuhltrockenmasse. Als einziges waren in der Kontrollgruppe signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten Trockenmasse zu beobachten, diese stieg von T1 ($26,36 \pm 6,11$ %) zu T3 ($29,74 \pm 5,95$ %) ($p < 0,05$) deutlich an. Die Protein low Gruppe veränderte sich nur in sehr geringem Ausmaß, während sich die Protein high Gruppe stärker veränderte und von T1 ($27,61 \pm 6,63$ %) zu T3 ($28,90 \pm 4,94$ %) auch anstieg, aber ohne signifikante Unterschiede. Welche Einflüsse bzw. Parameter sich besonders auf die Entwicklung der Stuhltrockenmasse über die Studiendauer ausgewirkt haben, konnte nicht zu Gänze geklärt werden. Als mögliche Einflussfaktoren könnten die Wasser- und Ballaststoffaufnahme eine Rolle spielen, jedoch scheint eine Erhöhung der Proteinaufnahme auf 2 g/kg KG/d keinen

entscheidenden Einfluss auf die Stuhltrockenmasse zu haben. Welche Mechanismen genau dahinter stecken und welche Parameter einen die Trockenmasse beeinflussen muss jedoch in weiteren Untersuchungen unter standardisierten Bedingungen bzw. mit standardisierter Basis-Ernährung und wenn möglich mit einer größeren Anzahl an Probanden erörtert werden.

8. Summary

The "NutriAging" study is an EU funded project that aims to improve the quality of life of senior citizens by investigating nutrients in combination with individual strength training. To this end, a first intervention study was carried out with a focus on protein over 17 weeks. The subjects between 65 and 85 years of age were randomly assigned to one of three groups. There was a control group that should maintain their eating and physical activity habits, the protein low group with a target intake of protein of 1 g/kg bw, which is the recommendation in Austria, and the protein high group with a target intake of 2 g/kg bw. In order to achieve the protein target, the study team supported the subjects by providing high protein foods.

The aim of this study was to assess whether an increased intake of protein in the amount of 2 g/kg bw/d can be taken up by the body at all, or whether an excess is excreted with the stool. This was investigated by freeze-drying the stool dry mass. The subjects donated stool samples at three time points, namely at the beginning of the study before the intervention, six weeks after the first submission, and eight weeks after the second submission at the end of the study. The development of the dry matter within and between the intervention groups and nutritional parameters were analyzed, as well as age category and sex, were considered.

Stool dry matter did not differ between intervention groups at any time point. Thus, the differences in protein intake did not show any influence on stool dry matter. Only in the control group significant differences between the mean dry matter values were observed, which increased significantly from T1 ($26,36 \pm 6,11$ %) to T3 ($29,74 \pm 5,95$ %) ($p < 0,05$). The protein low group changed only to a very small extent, while the protein high group changed more pronounced and also increased from T1 ($27,61 \pm 6,63$ %) towards T3 ($28,90 \pm 4,94$ %), but there were no significant differences. The influencing factors or parameters that had a particular effect on the development of the stool dry mass over the duration of the study could not be fully clarified. As possible influencing factors, water and fibre intake could play a role, but an increase of protein intake to 2 g/kg bw/d did not have an impact on stool dry matter in this study. However, the exact mechanism and the parameters that influence the stool dry matter must be investigated further under standardized conditions e.g. in a study with standardized basic nutrition and ideally with a larger number of test subjects.

9. Literaturverzeichnis

Abrahamson M, Hooker E, Ajami NJ, Petrosino JF, Orwoll ES. Successful collection of stool samples for microbiome analyses from a large community-based population of elderly men. *Contemporary Clinical Trials Communications*, 2017; 7: 158-162.

Achour L, Nancey S, Moussata D, Graber I, Messing B, Flourie B. Faecal bacterial mass and energetic losses in healthy humans and patients with a short bowel syndrome. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2007; 61, 233-238.

Aerts JV, De Brabander DL, Cottyn BG, Buysse FX, Moermans RJ. Comparison of Methods for Dry Matter Determination of High Moisture Roughages and Faeces. *J. Sci. Fd Agric.*, 1974; 25, 619-627.

Amesberger G, Finkenzeller T, Müller E, Würth S. Aging-related changes in the relationship between the physical self-concept and the physical fitness in elderly individuals. *Scand J Med Sci Sports*, 2019;29(Suppl. 1):26-34.

Atwater WO, Rosa EB. A new respiration calorimeter and experiments on the conservation of energy in the human body. I. *Phys Rev Ser I*, 1899;9:129-63.

Bax ML, Buffière C, Hafnaoui N, Gaudichon C, Savary-Auzeloux I, Dardevet D, Santé-Lhoutellier V, Rémond D. Effects of Meat Cooking, and of Ingested Amount, on Protein Digestion Speed and Entry of Residual Proteins into the Colon: A Study in Minipigs. *PLoS ONE*, 2013;8(4):e61252.

Biesalski HK, Grimm P. (2011). *Taschenatlas Ernährung* (5. Auflage). Stuttgart, Deutschland: Thieme.

Birkett A, Muir J, Phillips J, Jones G, O'Dea K. Resistant starch lowers fecal concentrations of ammonia and phenols in humans. *Am J Clin Nutr*, 1996;63:766-72.

Blachier F, Beaumont M, Portune KJ, Steuer N, Lan A, Audebert M, Khodorova N, Andriamihaja M, Airinei G, Benamouzig R, Davila AM, Armand L, Rampelli S, Brigidi P, TomD, Claus SP, Sanz Y. High-protein diets for weight management: Interactions with the intestinal microbiota and consequences for gut health. A position paper by the my new gut study group. *Clinical Nutrition*, 2019; 38:1012-1022

Blekhman R, Tang K, Archie EA, Barreiro LB, Johnson ZP, Wilson ME, Kohn J, Yuan ML, Gesquiere L, Grieneisen LE, Tung J. Common methods for fecal sample storage

in field studies yield consistent signatures of individual identity in microbiome sequencing data. *Sci. Rep.*, 2016; 6, 31519.

Bohé J, Low A, Wolfe RR, Rennie MJ. Human muscle protein synthesis is modulated by extracellular, not intramuscular amino acid availability: a dose–response study. *J Physiol*, 2003;552.1:315-324.

Calbet JA, Holst JJ. Gastric emptying, gastric secretion and enterogastrone response after administration of milk proteins or their peptide hydrolysates in humans. *Eur. J. Nutr.*, 2004;43:127-139.

Cherkasov NB, Savilov SV, Ivanov AS, Lunin VV. Bomb calorimetry as a bulk characterization tool for carbon nanostructures. *Carbon*, 2013; 63:324-329.

Corver J. The evolution of freeze-drying. *Innovations in Pharmaceutical Technology*, 2009;66-70.

Curtis KJ, Kim YS, Perdomo JM, Silk DBA, Whitehead JS. Protein digestion and absorption in the rat. *J. Physiol.*, 1978; 274:409-419.

Cortez MV, Soria EA. The Effect of Freeze-Drying on the Nutrient, Polyphenol, and Oxidant Levels of Breast Milk. *Breastfeeding Medicine*, 2016;11(10):551-554.

Dallas DC, Sanctuary MR, Qu Y, Haghghat Khajavi S, Van Zandt AE, Dyandra M, Frese SA, Barile D, German JB. Personalizing Protein Nourishment. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017;57(15):3313-3331.

Dangin M, Guillet C, Garcia-Rodenas C, Gachon P, Bouteloup-Demange C, Reiffers-Magnani K, Fauquant J, Ballèvre O, Beaufrère B. *J. Physiol.*, 2003, 549.2,: 635-644.

Daniel H, Vohwinkel M, Rehner G. Effect of casein and beta-casomorphins on gastrointestinal motility in rats. *J. Nutr.*, 1990;120:252-257.

Davenport ER, Mizrahi-Man O, Michelini K, Barreiro LB, Ober C, Gilad Y. Seasonal Variation in Human Gut Microbiome Composition. *PLoS ONE*, 2014;9(3):e90731.

Deda O, Gika HG, Wilson ID, Theodoridis GA. An overview of fecal sample preparation for global metabolic profiling. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2015; 113: 137-150.

Deepak B, Iqbal Z. Lyophilization – Process and Optimization for Pharmaceuticals. *International Journal of Drug Regulatory Affairs*, 2015; 3(1):30-40.

Deutz NEP, Bauer JM, Barazzoni R, Biolo G, Boirie Y, Bosy-Westphal A, Cederholm T, Cruz-Jentoft A, Krznarić Z, Nair KS, Singer P, Teta D, Tipton K, Calder PC. Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: Recommendations from the ESPEN Expert Group. *Clinical Nutrition*, 2014;33:929-936.

Devi S, Varkey A, Sheshshayee MS, Preston T, Kurpad AV. Measurement of protein digestibility in humans by a dual-tracer method. *Am J Clin Nutr*, 2018;107:984-991.

DGE. Protein (Stand: 2019). Internet: <https://www.dge.de/wissenschaft/referenzwerte/protein/> (Zugriff: 11.09.2019)

EFSA. EFSA sets population reference intakes for protein. (Stand: 2012). Internet: <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/120209> (Zugriff: 23.03.2020)

Fischer B, Hoh S, Wehler M, Hahn EG, Schneider HT. Faecal Elastase-1: Lyophilization of Stool Samples Prevents False Low Results in Diarrhoea. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2001; 36(7):771-774.

Franks F. Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 1998;45:221-229.

Franzke B, Neubauer O, Cameron-Smith D, Wagner KH. Dietary Protein, Muscle and Physical Function in the Very Old. *Nutrients*, 2018;10(935):1-14.

Gao X, Pujos-Guillot E, Sébédio JL. Development of a Quantitative Metabolomic Approach to Study Clinical Human Fecal Water Metabolome Based on Trimethylsilylation Derivatization and GC/MS Analysis. *Anal. Chem.*, 2010;82:6447-6456.

Grahofer A, Overesch G, Nathues H, Zeeh F. Effect of soy on faecal dry matter content and excretion of *Brachyspira hyodysenteriae* in pigs. *Vet Rec Open*, 2016;3:1-7.

Gratton J, Phetcharaburanin J, Mullish BH, Williams HRT, Thursz M, Nicholson JK, Holmes E, Marchesi JR, Li JV. Optimized sample handling strategy for metabolic profiling of human feces. *Anal. Chem.*, 2016; 88(9):4661-4668.

Gorissen SHM, Rémond D, van Loon LJC. The muscle protein synthetic response to food ingestion. *Meat Science*, 2015; 109: 96-100.

Han X, Guo J, You Y, Yin M, Ren C, Zhan J, Huang W. A fast and accurate way to determine short chain fatty acids in mouse feces based on GC–MS. *Journal of Chromatography B*, 2018;1099:73-82.

Hayakawa T, Sawada A, Tanabe AS, Fukuda S, Kishida T, Kurihara Y, Matsushima K, Liu J, Akomo-Okoue EF, Gravena W, Kashima M, Suzuki M, Kadowaki K, Suzumura T, Inoue E, Sugiura H, Hanya G, Agata K. Improving the standards for gut microbiome analysis of fecal samples: insights from the field. *Primates*, 2018.

Houston DK, Nicklas BJ, Ding J, Harris TB, Tyllavsky FA, Newman AB, Sun Lee J, Sahyoun NR, Visser M, Kritchevsky SB. Dietary protein intake is associated with lean mass change in older, community-dwelling adults: the Health, Aging, and Body Composition (Health ABC) Study. *Am J Clin Nutr*, 2008;87:150 -155.

Hsu YL, Chen CC, YT Lin, Wu WK, Chang LC, Lai CH, Wu MS, Kuo CH. Evaluation and Optimization of Sample Handling Methods for Quantification of Short-Chain Fatty Acids in Human Fecal Samples by GC–MS. *J. Proteome Res*, 2019;18:1948-1957.

Izutsu KI, Yonemochi E, Yomota C, Goda Y, Okuda H. Studying the Morphology of Lyophilized Protein Solids Using X-ray Micro-CT: Effect of Post-freeze Annealing and Controlled Nucleation. *AAPS PharmSciTech*, 2014;15(5):1181-1188.

Jahan-Mihan A, Luhovyy BL, El Khoury D, Anderson GH. Dietary Proteins as Determinants of Metabolic and Physiologic Functions of the Gastrointestinal Tract. *Nutrients*, 2011; 3:574-603

Jumpertz R, Son Le D, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI, Krakoff J. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr*, 2011;94:58-65.

Karu N, Deng L, Slae M, Guo AC., Sajed T, Huynh H, Wine E, Wishart DS. A review on human fecal metabolomics: Methods, applications and the human fecal metabolome database. *Analytica Chimica Acta*, 2018; 1030:1-24.

Kakiyama G, Muto A, Takei H, Nittono H, Murai T, Kurosawa T, Hofmann AF, Pandak WM, Bajaj JS. A simple and accurate HPLC method for fecal bile acid profile in healthy

and cirrhotic subjects: validation by GC-MS and LC-MS. *Journal of Lipid Research*, 2014; 55:978-990.

Kett V, McMahon D, Ward K. Freeze-drying of protein pharmaceuticals - The application of thermal analysis. *Cryoletters*, 2004; 25(6):389-404.

Kurniati DR, Rohman I. The concept and science process skills analysis in bomb calorimeter experiment as a foundation for the development of virtual laboratory of bomb calorimeter. *Journal of Physics: Conf. Series*, 2018;1013.

Labconco. *A Guide To Freeze Drying for the Laboratory*. Labconco Corporation, 2004.

Lale SV, Goyal M, Bansal AK. Development of lyophilization cycle and effect of excipients on the stability of catalase during lyophilization. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2011;1(4):214-221.

Lewis ZT, Davis JCC, Smilowitz JT, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. The impact of freeze-drying infant fecal samples on measures of their bacterial community profiles and milk-derived oligosaccharide content. *PeerJ*, 2016; 1612.

Löffler G, Schlömerich J. (2008). *Basiswissen Biochemie* (7. Auflage). Heidelberg, Deutschland: Springer Medizin Verlag.

Lovelady HG, Stork EJ. An Improved Method for Preparation of Feces for Bomb Calorimetry. *Clin. Chem.*, 1979; 16(3):253-254

Markland AD, Palsson O, Goode PS, Burgio KL, Busby-Whitehead J, Whitehead WE. Association of Low Dietary Intake of Fiber and Liquids with Constipation: Evidence from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Am J Gastroenterol.*, 2013; 108(5):796-803.

Mayeresse Y, Veillon R, Sibille PH, Nomine C. Freeze-drying Process Monitoring Using A Cold Plasma Ionization Device. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2007;61(3):160-174.

Mitchell CJ, Milan AM, Mitchell SM, Zeng N, Ramzan F, Sharma P, Knowles SO, Roy NC, Sjödin A, Wagner KH, Cameron-Smith D. The effects of dietary protein intake on appendicular lean mass and muscle function in elderly men: a 10-wk randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2017;106:1375-1383.

Moir L, Bentley L, Cox R.D. Comprehensive energy balance measurements in mice. *Curr. Protoc. Mouse Biol*, 2016;6:211-222.

Morgan CA, Herman N, White PA, Vesey G. Preservation of micro-organisms by drying; A review. *Journal of Microbiological Methods*, 2006;66:183-193.

Morton RW, McGlory C, Phillips SM. Nutritional interventions to augment resistance training-induced skeletal muscle hypertrophy. *Frontiers in Physiology*, 2015;6(245):1-9.

Moughan PJ, Rutherford SM. Gut luminal endogenous protein: Implications for the determination of ileal amino acid digestibility in humans. *British Journal of Nutrition*, 2012;108:258-263.

O'Sullivan V, Madrid-Gambin F, Alegra T, Gibbons H, Brennan L. Impact of Sample Storage on the NMR Fecal Water Metabolome. *ACS Omega*, 2018;3:16585-16590.

Passot S, Fonseca F, Alarcon-Lorca M, Rolland D, Marin M. Physical characterisation of formulations for the development of two stable freeze-dried proteins during both dried and liquid storage. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2005;60: 335-348.

Patel SM, Doen T, Pikal MJ. Determination of End Point of Primary Drying in Freeze-Drying Process Control. *AAPS PharmSciTech*, 2010;11(1):73-84.

Patráš P, Nitrayová S, Brestenský M, Heger J. Effect of dietary fibre and dietary protein level on nitrogen excretion pattern of growing pigs. *Archiva Zootechnica*, 2009;12(3):5-10.

Pedersen KS, Stege H, Nielsen JP. Evaluation of a microwave method for dry matter determination in faecal samples from weaned pigs with or without clinical diarrhea. *Preventive Veterinary Medicine*, 2011;100: 163-170.

Phua LC, Koh PK, Cheah PY, Ho HK, Chan ECY. Global gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry(GC/TOFMS)-based metabonomic profiling of lyophilized human feces. *Journal of Chromatography B*, 2013;937:103-113.

Portune KJ, Beaumont M, Davila AM, Tom D, Blachier F, Sanz Y. Gut microbiota role in dietary protein metabolism and health-related outcomes: The two sides of the coin. *Trends in Food Science & Technology*, 2016; 57:213-232.

Reitzle M, S Ruberto, Stierle R, Gross J, Janzen T, Weigand B. Direct numerical simulation of sublimating ice particles. *International Journal of Thermal Sciences*, 2019; 145:1-15.

Rowan AM, Moughan PJ, Wilson MN, Maher K, Tasman-Jones C. Comparison of the ileal and faecal digestibility of dietary amino acids in adult humans and evaluation of the pig as a model animal for digestion studies in man. *British Journal of Nutrition*, 1994; 71:29-42.

Rose C, Parker A, Jefferson B, Cartmell E. The Characterization of Feces and Urine: A Review of the Literature to Inform Advanced Treatment Technology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2015; 45:1827-1879.

Saric J, Wang Y, Li J, Coen M, Utzinger J, Marchesi JR, Keiser J, Veselkov K, Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E. Species Variation in the Fecal Metabolome Gives Insight into Differential Gastrointestinal Function. *Journal of Proteome Research*, 2008;7:352-360.

Schoenfeld BJ, Aragon AA. How much protein can the body use in a single meal for muscle-building? Implications for daily protein distribution. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2018;15(10):1-6.

Schouw NL, Danteravanich S, Mosbaek H, Tjell JC. Composition of human excreta - a case study from Southern Thailand. *The Science of the Total Environment*, 2002;286:155-166.

Silbernagl S, Despopoulos A. (2012) *Taschenatlas Physiologie* (8. Auflage). Stuttgart, Deutschland: Thieme.

Silk DBA, Grimble GK, Rees RG. Protein digestion and amino acid and peptide absorption. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1985; 44:63-72.

Sinha R, Ahn J, Sampson JN, Shi J, Yu G, Xiong X, Hayes RB, Goedert JJ. Fecal Microbiota, Fecal Metabolome, and Colorectal Cancer Interrelations. *PLoS ONE*, 2016; 11(3):1-13.

Song SJ, Amir A, Metcalf JL, Amato KR, Xu ZZ, Humphrey G, Knight R. Preservation methods differ in fecal microbiome stability, affecting suitability for field studies. *mSystems*, 2016; 1(3):00021–00016.

Statistik Austria. Bevölkerung. (Stand: 2019). Internet: https://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/bevoelkerung/index.html (Zugriff: 11.09.2019)

Sundaramurthi P, Suryanarayanan R. Calorimetry and complementary techniques to characterize frozen and freeze-dried systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012;64:384-395.

Tabeling R, Schwier S, Kamphues J. Effects of different feeding and housing conditions on dry matter content and consistency of faeces in sows. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.*, 2003;87:116-121.

Wang W. Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000; 203:1-60.

Weigle DS, Breen PA, Matthys CC, Callahan HS, Meeuws KE, Burden VR, Purnell JQ. A high-protein diet induces sustained reductions in appetite, ad libitum caloric intake, and body weight despite compensatory changes in diurnal plasma leptin and ghrelin concentrations. *Am J Clin Nutr*, 2005;82:41-8.

Wen X, Wang L, Zheng C, Yang X, Ma X, Wu Y, Chen Z, Jiang Z. Fecal scores and microbial metabolites in weaned piglets fed different protein sources and levels. *Animal Nutrition*, 2018;4:31-36.

Wenzl HH, Fine KD, Schiller LR, Fordtran JS. Determinants With Diarrhea of Decreased Fecal Consistency in Patients. *Gastroenterology*, 1995;108:1729-1738.

Wichert B, Liesegang A, Hartnack S. Estimating energy losses with urine in the cat. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2014; 98:628-635.

Wierdsma NJ, Peters JHC, van Bokhorst-de van der Schueren MAE, Mulder CJJ, Metgod I, van Bodegraven AA. Bomb calorimetry, the gold standard for assessment of intestinal absorption capacity: normative values in healthy ambulant adults. *J Hum Nutr Diet.*, 2013.

Wolfe RR. The role of dietary protein in optimizing muscle mass, function and health outcomes in older individuals. *British Journal of Nutrition*, 2012;108:88–93.

Wu WK, Chen CC, Panyod S, Chen RA, Wu MS, Sheen LY, Chang SC. Optimization of fecal sample processing for microbiome study d The journey from bathroom to bench. *Journal of the Formosan Medical Association*, 2019;118:545-555.

10. Anhang

Tests der Zwischensubjekteffekte

Transformierte Variable: Mittel

Quelle	Maß	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.
Konstanter Term	Proteinaufnahme	683,765	1	683,765	19153,546	,000
	Kohlenhydrataufnahme	37649,515	1	37649,515	2879,045	,000
	Fettaufnahme	704,917	1	704,917	16913,817	,000
	Wasseraufnahme	1361712509,746	1	1361712509,746	2345,0516	,000
	Energieaufnahme	773219005,451	1	773219005,451	1401,143	,000
Interventionsgruppe	Proteinaufnahme	,825	2	,413	11,561	,000
	Kohlenhydrataufnahme	47,625	2	23,812	1,821	,171
	Fettaufnahme	,205	2	,102	2,454	,095
	Wasseraufnahme	847252,459	2	423626,229	,730	,487
	Energieaufnahme	2793016,979	2	1396508,489	2,531	,088
Geschlecht	Proteinaufnahme	1,331	1	1,331	37,282	,000
	Kohlenhydrataufnahme	277,155	1	277,155	21,194	,000
	Fettaufnahme	1,137	1	1,137	27,292	,000
	Wasseraufnahme	1642160,388	1	1642160,388	2,828	,098
	Energieaufnahme	21101866,265	1	21101866,265	38,239	,000
Alterskategorie	Proteinaufnahme	,196	2	,098	2,740	,073
	Kohlenhydrataufnahme	4,040	2	2,020	,154	,857
	Fettaufnahme	,053	2	,027	,638	,532
	Wasseraufnahme	942725,637	2	471362,819	,812	,449
	Energieaufnahme	1237266,073	2	618633,036	1,121	,333

Interventionsgruppe * Geschlecht	Proteinaufnahme	,167	2	,084	2,342	,105
	Kohlenhydrataufnahme	6,800	2	3,400	,260	,772
	Fettaufnahme	,094	2	,047	1,131	,330
	Wasseraufnahme	2471735,912	2	1235867,956	2,128	,128
	Energieaufnahme	2272119,683	2	1136059,842	2,059	,137
Interventionsgruppe * Alterskategorie	Proteinaufnahme	,193	4	,048	1,350	,262
	Kohlenhydrataufnahme	54,439	4	13,610	1,041	,394
	Fettaufnahme	,418	4	,104	2,506	,052
	Wasseraufnahme	2600661,955	4	650165,489	1,120	,356
	Energieaufnahme	3118873,331	4	779718,333	1,413	,241
Geschlecht * Alterskategorie	Proteinaufnahme	,045	2	,022	,625	,539
	Kohlenhydrataufnahme	15,089	2	7,545	,577	,565
	Fettaufnahme	,127	2	,064	1,524	,226
	Wasseraufnahme	3447274,844	2	1723637,422	2,968	,059
	Energieaufnahme	880651,666	2	440325,833	,798	,455
Interventionsgruppe * Geschlecht * Alterskategorie	Proteinaufnahme	,126	4	,032	,884	,479
	Kohlenhydrataufnahme	52,452	4	13,113	1,003	,414
	Fettaufnahme	,189	4	,047	1,134	,349
	Wasseraufnahme	2904731,066	4	726182,766	1,251	,300
	Energieaufnahme	3393542,628	4	848385,657	1,537	,203
Fehler	Proteinaufnahme	2,071	5 8	,036		
	Kohlenhydrataufnahme	758,471	5 8	13,077		
	Fettaufnahme	2,417	5 8	,042		
	Wasseraufnahme	33679153,460	5 8	580675,060		
	Energieaufnahme	32007219,944	5 8	551848,620		

Tabelle 51: Tests der Zwischensubjekteffekte auf die ernährungsbezogenen Parameter (n = 76)

Multiple Comparisons

Bonferroni

Maß	(I)Alterskategorie	(J)Alterskategorie	Mittlere Differenz (I-J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
						Untergrenze	Obergrenze
Proteinaufnahme	65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	-,0231	,03062	1,000	-,0986	,0523
		75-85 Jahre	,0592	,03220	,214	-,0202	,1385
	70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	,0231	,03062	1,000	-,0523	,0986
		75-85 Jahre	,0823*	,02987	,023	,0086	,1560
	75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	-,0592	,03220	,214	-,1385	,0202
		70-74,99 Jahre	-,0823*	,02987	,023	-,1560	-,0086
Kohlenhydrataufnahme	65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	,4015	,58604	1,000	-1,0434	1,8463
		75-85 Jahre	,7821	,61625	,628	-,7372	2,3014
	70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	-,4015	,58604	1,000	-1,8463	1,0434
		75-85 Jahre	,3806	,57178	1,000	-1,0290	1,7903
	75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	-,7821	,61625	,628	-2,3014	,7372
		70-74,99 Jahre	-,3806	,57178	1,000	-1,7903	1,0290
Fettaufnahme	65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	-,0108	,03308	1,000	-,0924	,0708
		75-85 Jahre	,0213	,03479	1,000	-,0644	,1071
	70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	,0108	,03308	1,000	-,0708	,0924
		75-85 Jahre	,0321	,03228	,972	-,0475	,1117
	75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	-,0213	,03479	1,000	-,1071	,0644
		70-74,99 Jahre	-,0321	,03228	,972	-,1117	,0475
Wasseraufnahme	65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	-12,99	123,491	1,000	-317,45	291,46
		75-85 Jahre	193,20	129,858	,427	-126,95	513,36
	70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	12,99	123,491	1,000	-291,46	317,45
		75-85 Jahre	206,20	120,486	,277	-90,85	503,24
	75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	-193,20	129,858	,427	-513,36	126,95
		70-74,99 Jahre	-206,20	120,486	,277	-503,24	90,85
Energieaufnahme	65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	42,418	120,386	1,000	-	339,2197
		75-85 Jahre	258,09	126,593	,138	-	570,1993
	70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	-	120,386	1,000	-	254,3834
		75-85 Jahre	42,418	85	2	339,21	97

	75-85 Jahre	215,67 78	117,457 29	,214	- 73,901 2	505,2568
75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	- 258,09 60	126,593 47	,138	- 570,19 93	54,0074
	70-74,99 Jahre	- 215,67 78	117,457 29	,214	- 505,25 68	73,9012

Grundlage: beobachtete Mittelwerte.

Der Fehlerterm ist Mittel der Quadrate(Fehler) = 183949,540.

*. Die mittlere Differenz ist auf dem ,05-Niveau signifikant.

Tabelle 50: Paarweiser Vergleich der ernährungsbezogenen Parameter zwischen den Alterskategorien (n = 76)

Tests der Innersubjekteffekte

Maß: Ballaststoffaufnahme

Quelle		Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.
Zeitpunkt	Sphärizität angenommen	,073	2	,036	,686	,507
	Greenhouse-Geisser	,073	1,728	,042	,686	,487
	Huynh-Feldt	,073	2,000	,036	,686	,507
	Untergrenze	,073	1,000	,073	,686	,413
Zeitpunkt * Interventionsgruppe	Sphärizität angenommen	,284	4	,071	1,340	,262
	Greenhouse-Geisser	,284	3,455	,082	1,340	,267
	Huynh-Feldt	,284	4,000	,071	1,340	,262
	Untergrenze	,284	2,000	,142	1,340	,273
Zeitpunkt * Geschlecht	Sphärizität angenommen	,365	2	,183	3,451	,037
	Greenhouse-Geisser	,365	1,728	,212	3,451	,044
	Huynh-Feldt	,365	2,000	,183	3,451	,037
	Untergrenze	,365	1,000	,365	3,451	,071
Zeitpunkt * Alterskategorie	Sphärizität angenommen	,082	4	,021	,389	,816
	Greenhouse-Geisser	,082	3,455	,024	,389	,788
	Huynh-Feldt	,082	4,000	,021	,389	,816

	Untergrenze	,082	2,000	,041	,389	,680
Zeitpunkt *	Sphärizität	,011	4	,003	,054	,994
Interventionsgruppe	angenommen					
* Geschlecht	Greenhouse-Geisser	,011	3,455	,003	,054	,990
	Huynh-Feldt	,011	4,000	,003	,054	,994
	Untergrenze	,011	2,000	,006	,054	,947
Zeitpunkt *	Sphärizität	,128	8	,016	,302	,963
Interventionsgruppe	angenommen					
* Alterskategorie	Greenhouse-Geisser	,128	6,910	,018	,302	,949
	Huynh-Feldt	,128	8,000	,016	,302	,963
	Untergrenze	,128	4,000	,032	,302	,875
Zeitpunkt *	Sphärizität	,076	4	,019	,358	,837
Geschlecht *	angenommen					
Alterskategorie	Greenhouse-Geisser	,076	3,455	,022	,358	,810
	Huynh-Feldt	,076	4,000	,019	,358	,837
	Untergrenze	,076	2,000	,038	,358	,701
Zeitpunkt *	Sphärizität	,444	8	,055	1,048	,408
Interventionsgruppe	angenommen					
* Geschlecht *	Greenhouse-Geisser	,444	6,910	,064	1,048	,406
Alterskategorie	Huynh-Feldt	,444	8,000	,055	1,048	,408
	Untergrenze	,444	4,000	,111	1,048	,395
Fehler(Zeitpunkt)	Sphärizität	4,236	80	,053		
	angenommen					
	Greenhouse-Geisser	4,236	69,102	,061		
	Huynh-Feldt	4,236	80,000	,053		
	Untergrenze	4,236	40,000	,106		

Tabelle 52: Einfluss des Zeitpunkts und der Innersubjekteffekte Interventionsgruppe, Geschlechts und Alterskategorie auf die Aufnahme von Ballaststoffen (n = 58)

Tests auf Univariate

Quelle	Maß	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.	
Zeitpunkt	Körpergewicht	Sphärizität	20,294	2	10,147	7,641	,001
		angenommen					
		Greenhouse-Geisser	20,294	1,735	11,700	7,641	,001
		Huynh-Feldt	20,294	2,000	10,147	7,641	,001
		Untergrenze	20,294	1,000	20,294	7,641	,008

	BMI	Sphärizität angenommen	1,721	2	,861	4,652	,011
		Greenhouse- Geisser	1,721	1,755	,981	4,652	,015
		Huynh-Feldt	1,721	2,000	,861	4,652	,011
		Untergrenze	1,721	1,000	1,721	4,652	,035
Zeitpunkt *	Körpergewicht	Sphärizität angenommen	6,847	4	1,712	1,289	,278
Interventionsgruppe		Greenhouse- Geisser	6,847	3,469	1,974	1,289	,281
		Huynh-Feldt	6,847	4,000	1,712	1,289	,278
		Untergrenze	6,847	2,000	3,423	1,289	,283
	BMI	Sphärizität angenommen	,439	4	,110	,593	,669
		Greenhouse- Geisser	,439	3,510	,125	,593	,647
		Huynh-Feldt	,439	4,000	,110	,593	,669
		Untergrenze	,439	2,000	,219	,593	,556
Zeitpunkt *	Körpergewicht	Sphärizität angenommen	4,224	4	1,056	,795	,531
Alterskategorie		Greenhouse- Geisser	4,224	3,469	1,218	,795	,515
		Huynh-Feldt	4,224	4,000	1,056	,795	,531
		Untergrenze	4,224	2,000	2,112	,795	,456
	BMI	Sphärizität angenommen	,287	4	,072	,388	,817
		Greenhouse- Geisser	,287	3,510	,082	,388	,793
		Huynh-Feldt	,287	4,000	,072	,388	,817
		Untergrenze	,287	2,000	,143	,388	,680
Zeitpunkt *	Körpergewicht	Sphärizität angenommen	,705	2	,353	,265	,767
Geschlecht		Greenhouse- Geisser	,705	1,735	,406	,265	,736
		Huynh-Feldt	,705	2,000	,353	,265	,767
		Untergrenze	,705	1,000	,705	,265	,608
	BMI	Sphärizität angenommen	,151	2	,076	,409	,665
		Greenhouse- Geisser	,151	1,755	,086	,409	,638

		Huynh-Feldt	,151	2,000	,076	,409	,665
		Untergrenze	,151	1,000	,151	,409	,525
Zeitpunkt *	Körpergewicht	Sphärizität	9,198	8	1,150	,866	,547
Interventionsgruppe		angenommen					
* Alterskategorie		Greenhouse-Geisser	9,198	6,938	1,326	,866	,535
		Huynh-Feldt	9,198	8,000	1,150	,866	,547
		Untergrenze	9,198	4,000	2,300	,866	,490
	BMI	Sphärizität	1,831	8	,229	1,237	,284
		angenommen					
		Greenhouse-Geisser	1,831	7,021	,261	1,237	,290
		Huynh-Feldt	1,831	8,000	,229	1,237	,284
		Untergrenze	1,831	4,000	,458	1,237	,305
Zeitpunkt *	Körpergewicht	Sphärizität	11,197	4	2,799	2,108	,084
Interventionsgruppe		angenommen					
* Geschlecht		Greenhouse-Geisser	11,197	3,469	3,228	2,108	,095
		Huynh-Feldt	11,197	4,000	2,799	2,108	,084
		Untergrenze	11,197	2,000	5,598	2,108	,131
	BMI	Sphärizität	1,149	4	,287	1,553	,192
		angenommen					
		Greenhouse-Geisser	1,149	3,510	,327	1,553	,199
		Huynh-Feldt	1,149	4,000	,287	1,553	,192
		Untergrenze	1,149	2,000	,575	1,553	,220
Zeitpunkt *	Körpergewicht	Sphärizität	3,256	4	,814	,613	,654
Alterskategorie *		angenommen					
Geschlecht		Greenhouse-Geisser	3,256	3,469	,938	,613	,631
		Huynh-Feldt	3,256	4,000	,814	,613	,654
		Untergrenze	3,256	2,000	1,628	,613	,545
	BMI	Sphärizität	,979	4	,245	1,324	,265
		angenommen					
		Greenhouse-Geisser	,979	3,510	,279	1,324	,269
		Huynh-Feldt	,979	4,000	,245	1,324	,265
		Untergrenze	,979	2,000	,490	1,324	,274
Zeitpunkt *	Körpergewicht	Sphärizität	17,374	8	2,172	1,635	,122
Interventionsgruppe		angenommen					

* Alterskategorie * Geschlecht		Greenhouse-Geisser	17,374	6,938	2,504	1,635	,135
		Huynh-Feldt	17,374	8,000	2,172	1,635	,122
		Untergrenze	17,374	4,000	4,343	1,635	,178
	BMI	Sphärizität angenommen	3,076	8	,384	2,078	,043
		Greenhouse-Geisser	3,076	7,021	,438	2,078	,052
		Huynh-Feldt	3,076	8,000	,384	2,078	,043
		Untergrenze	3,076	4,000	,769	2,078	,095
	Fehler(Zeitpunkt)	Körpergewicht	Sphärizität angenommen	154,035	116	1,328	
Greenhouse-Geisser			154,035	100,606	1,531		
Huynh-Feldt			154,035	116,000	1,328		
Untergrenze			154,035	58,000	2,656		
BMI		Sphärizität angenommen	21,459	116	,185		
		Greenhouse-Geisser	21,459	101,801	,211		
		Huynh-Feldt	21,459	116,000	,185		
		Untergrenze	21,459	58,000	,370		

Tabelle 55: Einfluss des Zeitpunkts und der Innersubjekteffekte Interventionsgruppe, Geschlechts und Alterskategorie auf das Körpergewicht und den BMI der Probanden (n = 76)

		Alterskategorie					
		65-69,99 Jahre		70-74,99 Jahre		75-85 Jahre	
		Anzahl	Mittelwert	Anzahl	Mittelwert	Anzahl	Mittelwert
Geschlecht	weiblich	9		15		12	
	männlich	13		15		12	
Alter [Jahre]			67,66		72,27		78,75
BMI_1 [kg/m ²]			26,12		25,39		26,46
Gewicht_1 [kg]			77,0		72,7		74,8
Interventionsgruppe	Control	9		11		10	
	Protein low	6		8		5	
	Protein high	7		11		9	

Tabelle 60: Beschreibung der Alterskategorien zu Studienbeginn T1 (n = 76)

		Alterskategorie					
		65-69,99 Jahre		70-74,99 Jahre		75-85 Jahre	
		Anzahl	Mittelwert	Anzahl	Mittelwert	Anzahl	Mittelwert
Geschlecht	weiblich	7		13		8	
	männlich	7		13		10	
Alter [Jahre]			67,79		72,19		78,47
BMI_1 [kg/m ²]			26,39		25,37		26,20
Gewicht_1 [kg]			76,4		73,6		74,8
Interventionsgruppe	Control	4		10		7	
	Protein low	6		7		5	
	Protein high	4		9		6	

Tabelle 61: Beschreibung der Alterskategorien mit Personen, die in die Analyse der Ballaststoffaufnahme eingeschlossen wurden, zu Studienbeginn T1 (n = 58)

ANOVA-Tabelle

			Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Alter [Jahre] * Interventionsgruppe	Zwischen den Gruppen	(Kombiniert)	3,076	2	1,538	,066	,936
	Innerhalb der Gruppen		1701,797	73	23,312		
	Insgesamt		1704,873	75			
Gewicht_1 [kg] * Interventionsgruppe	Zwischen den Gruppen	(Kombiniert)	738,714	2	369,357	2,227	,115
	Innerhalb der Gruppen		12109,255	73	165,880		
	Insgesamt		12847,969	75			
BMI_1 [kg/m ²] * Interventionsgruppe	Zwischen den Gruppen	(Kombiniert)	53,391	2	26,695	2,118	,128
	Innerhalb der Gruppen		919,884	73	12,601		
	Insgesamt		973,275	75			

Tabelle 62: Unterschiede der Mittelwerte der Interventionsgruppen

Multiple Comparisons

Maß: Trockenmasse

Bonferroni

(I)Alterskategorie	(J)Alterskategorie	Mittlere Differenz (I- J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	0,459%	1,1548%	1,000	-2,388%	3,306%
	75-85 Jahre	-1,367%	1,2143%	,794	-4,361%	1,626%
70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	-0,459%	1,1548%	1,000	-3,306%	2,388%
	75-85 Jahre	-1,827%	1,1267%	,331	-4,604%	0,951%
75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	1,367%	1,2143%	,794	-1,626%	4,361%
	70-74,99 Jahre	1,827%	1,1267%	,331	-0,951%	4,604%

Grundlage: beobachtete Mittelwerte.

Der Fehlerterm ist Mittel der Quadrate(Fehler) = 16,925.

Tabelle 63: Paarweiser Vergleich der Trockenmasse zwischen den Alterskategorien

Multiple Comparisons

Abhängige Variable: Protein_T2*

Bonferroni

(I)Alterskategorie	(J)Alterskategorie	Mittlere Differenz (I- J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	-,0099	,03253	1,000	-,0901	,0703
	75-85 Jahre	,0938*	,03421	,024	,0094	,1781
70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	,0099	,03253	1,000	-,0703	,0901
	75-85 Jahre	,1036*	,03174	,006	,0254	,1819
75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	-,0938*	,03421	,024	-,1781	-,0094
	70-74,99 Jahre	-,1036*	,03174	,006	-,1819	-,0254

Grundlage: beobachtete Mittelwerte.

Der Fehlerterm ist Mittel der Quadrate(Fehler) = ,013.

*. Die mittlere Differenz ist auf dem 0,05-Niveau signifikant.

Tabelle 64: Unterschiede zwischen den Alterskategorien in der Proteinaufnahme zum Zeitpunkt T2

Multiple Comparisons

Abhängige Variable: Kohlenhydrate_T2*

Bonferroni

(I)Alterskategorie	(J)Alterskategorie	Mittlere Differenz (I- J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	,5305	,54849	1,000	-,8217	1,8828
	75-85 Jahre	1,5923*	,57677	,023	,1703	3,0143
70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	-,5305	,54849	1,000	-1,8828	,8217
	75-85 Jahre	1,0618	,53514	,156	-,2576	2,3811
75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	-1,5923*	,57677	,023	-3,0143	-,1703
	70-74,99 Jahre	-1,0618	,53514	,156	-2,3811	,2576

Grundlage: beobachtete Mittelwerte.

Der Fehlerterm ist Mittel der Quadrate(Fehler) = 3,818.

*. Die mittlere Differenz ist auf dem 0,05-Niveau signifikant.

Tabelle 65: Unterschiede zwischen den Alterskategorien in der Kohlenhydrataufnahme zum Zeitpunkt T2

Multiple Comparisons

Abhängige Variable: Energie_T2 [kcal/d]

Bonferroni

(I)Alterskategorie	(J)Alterskategorie	Mittlere Differenz (I- J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	31,7879	130,33505	1,000	-289,5399	353,1157
	75-85 Jahre	393,5795*	137,05456	,017	55,6855	731,4736
70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	-31,7879	130,33505	1,000	-353,1157	289,5399
	75-85 Jahre	361,7917*	127,16341	,018	48,2832	675,3001
75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	-393,5795*	137,05456	,017	-731,4736	-55,6855
	70-74,99 Jahre	-361,7917*	127,16341	,018	-675,3001	-48,2832

Grundlage: beobachtete Mittelwerte.

Der Fehlerterm ist Mittel der Quadrate(Fehler) = 215607,097.

*. Die mittlere Differenz ist auf dem 0,05-Niveau signifikant.

Tabelle 66: Unterschiede zwischen den Alterskategorien in der Energieaufnahme zum Zeitpunkt T2

Multiple Comparisons

Abhängige Variable: Energie_T3 [kcal/d]

Bonferroni

(I)Alterskategorie	(J)Alterskategorie	Mittlere Differenz (I- J)	Standard Fehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
65-69,99 Jahre	70-74,99 Jahre	190,9182	125,48607	,401	-118,4550	500,2913
	75-85 Jahre	329,2765*	131,95558	,046	3,9535	654,5996
70-74,99 Jahre	65-69,99 Jahre	-190,9182	125,48607	,401	-500,2913	118,4550
	75-85 Jahre	138,3583	122,43242	,789	-163,4863	440,2030
75-85 Jahre	65-69,99 Jahre	-329,2765*	131,95558	,046	-654,5996	-3,9535
	70-74,99 Jahre	-138,3583	122,43242	,789	-440,2030	163,4863

Grundlage: beobachtete Mittelwerte.

Der Fehlerterm ist Mittel der Quadrate(Fehler) = 199862,637.

*. Die mittlere Differenz ist auf dem 0,05-Niveau signifikant.

Tabelle 67: Unterschiede zwischen den Alterskategorien in der Energieaufnahme zum Zeitpunkt T3

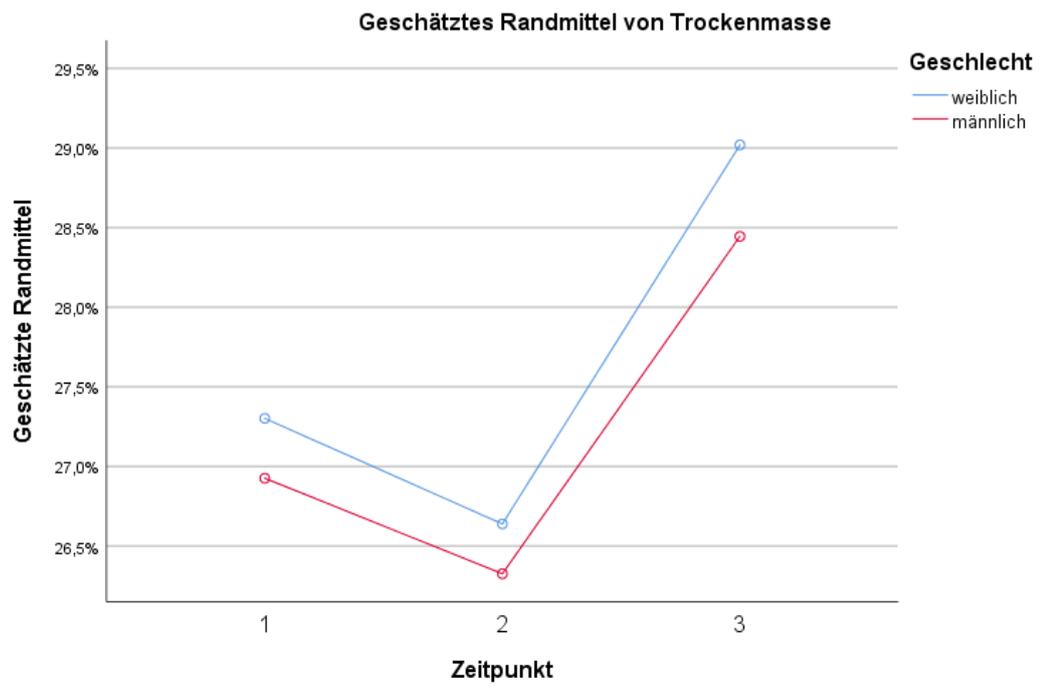


Abbildung 16: Entwicklung der Trockenmasse der Geschlechter über die Zeit

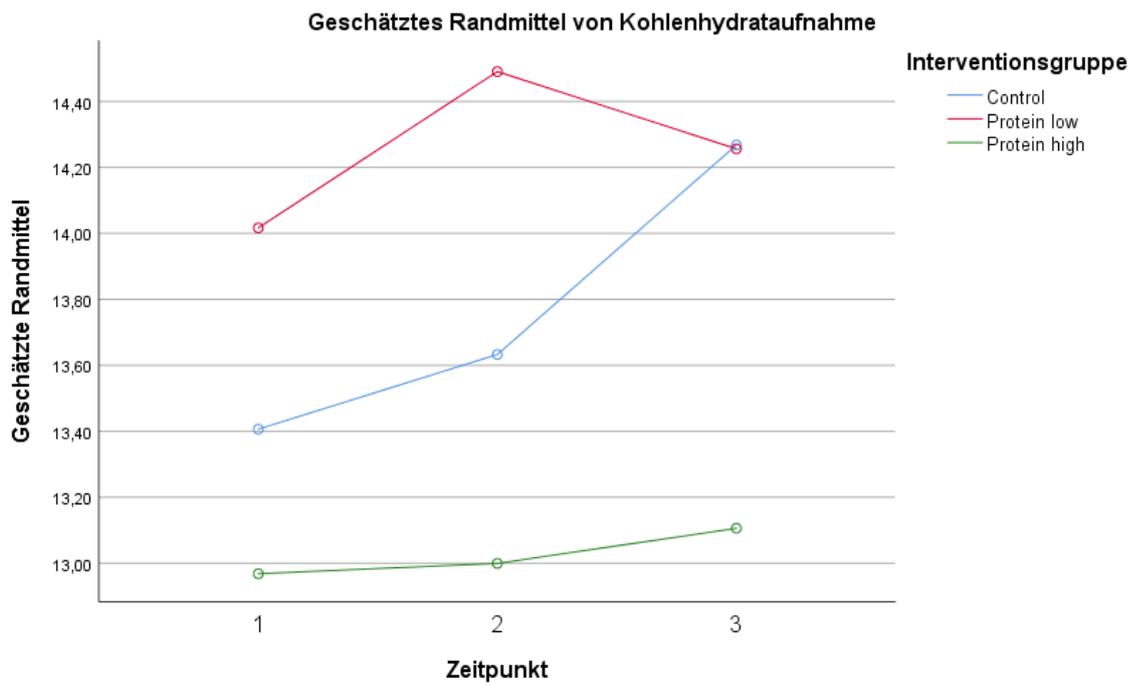


Abbildung 17: Entwicklung der Kohlenhydrataufnahme der Interventionsgruppen über die Zeit

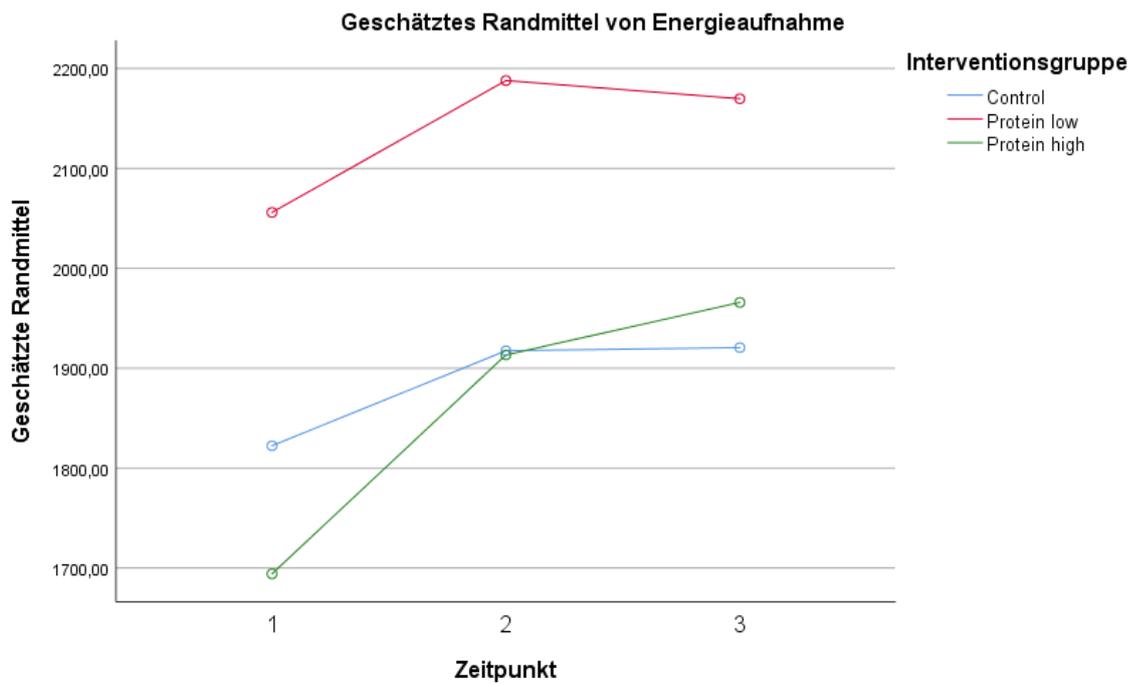


Abbildung 18: Entwicklung der Energieaufnahme der Interventionsgruppen über die Zeit

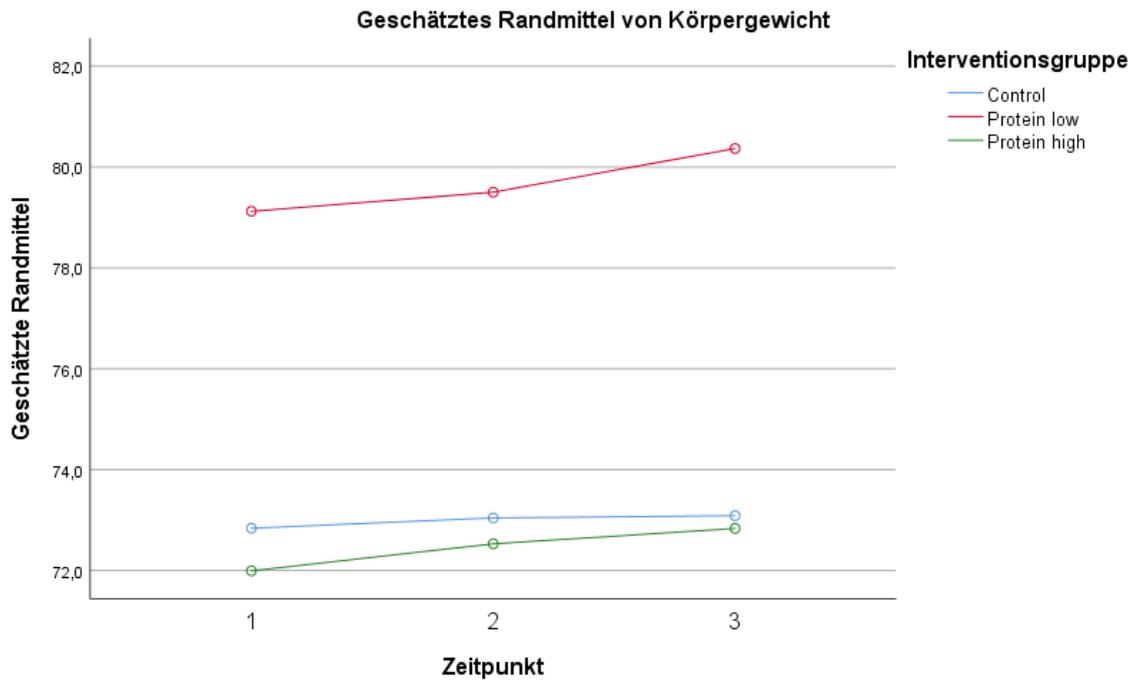


Abbildung 19: Entwicklung des Körpergewichts der Interventionsgruppen über die Zeit

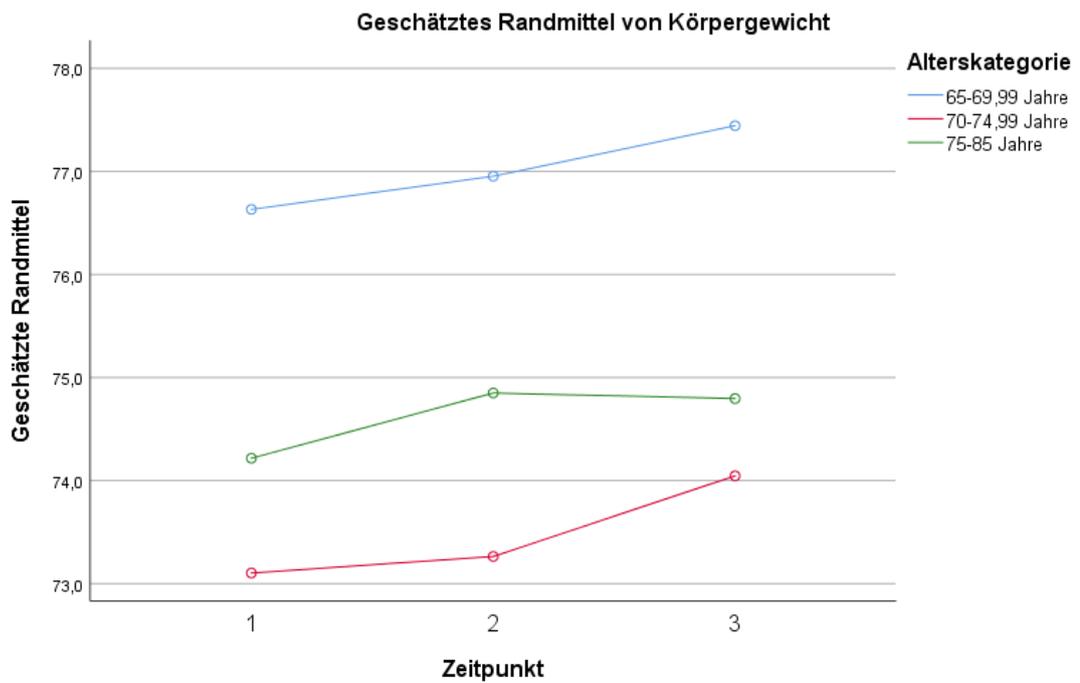


Abbildung 20: Entwicklung des Körpergewichts der Alterskategorien über die Zeit

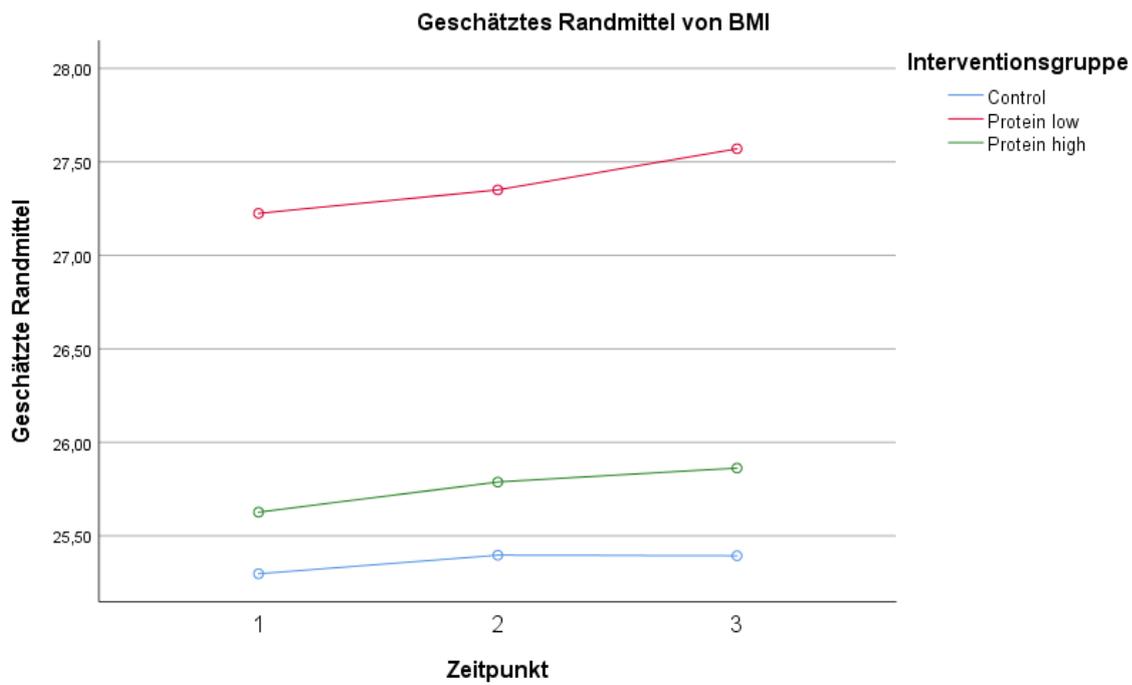


Abbildung 21: Entwicklung des BMI der Interventionsgruppen über die Zeit

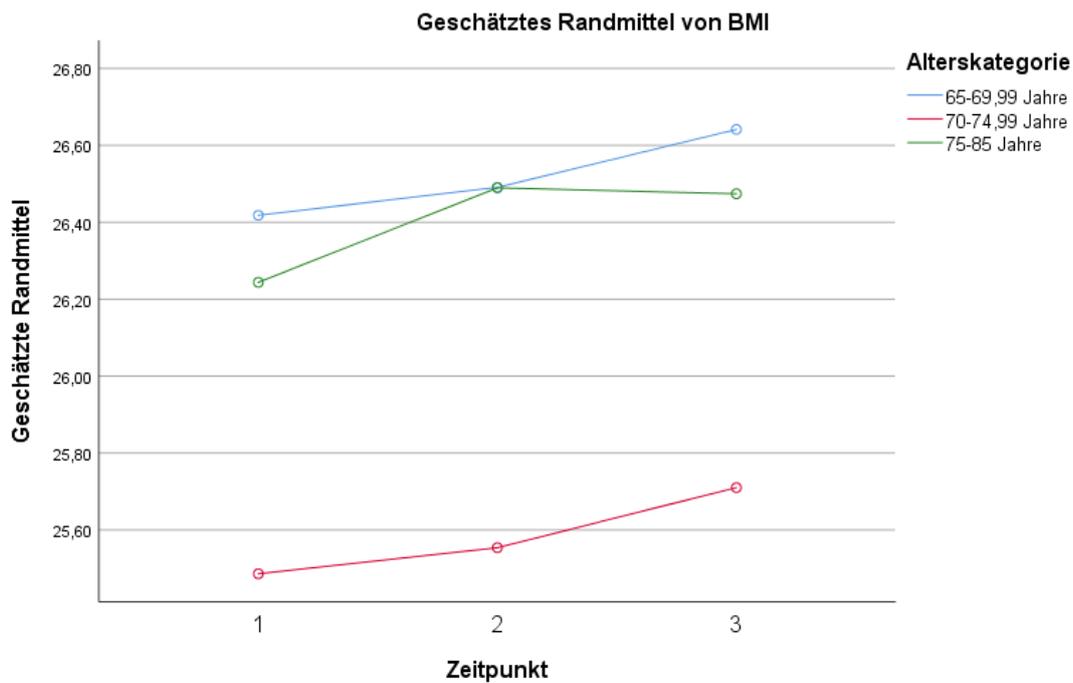


Abbildung 22: Entwicklung des BMI der Alterskategorien über die Zeit

