

Studienrichtung: Nutztierwissenschaften

1.Prüfer: Prof. Dr. J. Gertheiss

2.Prüfer: J. Trautmann, M.Sc.

Abgabetermin: 23.09.2015



Über den Einfluss des OR7D4-Rezeptors auf die olfaktorische Wahrnehmung von Androstenon und α -Androstenol: Bivariate und Multivariate Analysen

BACHELORARBEIT

Elisa Oertel

Matr.-Nr: 21027416

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	2
1 Einführung	4
1.1 Grundlagen	4
Genetik des OR7D4	5
1.2 Androstenon & α -Androstenol	7
Anosmie	10
1.3 Material & Methoden	12
2 Datenanalyse	14
2.1 Übersicht der Daten	14
2.1.1 Genotypen	14
2.1.2 Bewertungen	15
2.1.3 Graphische Darstellung	16
2.2 Bivariate Methoden	17
2.2.1 Unabhängigkeitstets	18
2.2.2 Mittelwertvergleiche	19
2.2.3 Graphische Darstellung	21
2.3 Multivariate Methoden	22
2.3.1 Logit-Modell Androstenon	24
2.3.2 Logit-Modell α -Androstenol	28
3 Fazit	30
4 Anhang	31
Literaturverzeichnis	32
Eidesstattliche Erklärung	37

Vorwort

„Ebergeruch im Schweinefleisch? - Die Sauerei mit den Ferkeln.“

Udo Pollmer¹ - Deutschlandradio Kultur

Von einer agrarwissenschaftlichen Fachzeitschrift – wie der *Agrarheute* – erwartet man mindestens einmal pro Ausgabe einen aktuellen Schweinemastartikel. Doch auch in überregionalen Tageszeitungen, wie beispielsweise der *Süddeutschen*, oder gar im Kulturradio? Dort häufen sich in den letzten fünf Jahren die Berichte über Eberfleisch und Ebergeruch sowie Kastration und Kastrationsverbot. Der Spiegel zitierte bereits 2011 einen Landwirt, der den Verzicht auf Kastration als: „eine der größten Herausforderungen für die Schweinemast, die es je gegeben hat“ bezeichnete [DS] und ein Jahr später fragte sogar das Göttinger Tageblatt: „Schmeckt Eber-Fleisch anders?“ [GT].

Unkastrierte Schweine riechen streng und nicht nur das, auch der Geruch des Fleisches ist für einen Anteil der Bevölkerung unappetitlich, sodass Kastrationen bereits seit mindestens 37 v.Chr. zur gängigen Methode wurden (Flach, 2006). Das Verbot der Kastration ohne Betäubung sollte laut Bundesregierung 2017 gesetzlich in Kraft treten, jedoch wurde dieses Vorhaben im Jahr 2013 im Rahmen der Novellierung des Tierschutzgesetzes auf Januar 2019 vertagt. Diskussionen und Kampagnen aller Interessengruppen laufen seit 2010 und Alternativen werden heftig diskutiert. Die Bundesregierung selbst möchte 2016 über Alternativen informieren [BR]. Das Thema Tierwohl gehört zum Geist der Zeit, was durchaus positiv bewertet werden kann. Doch ist es ratsam eine jahrhundertealte Tradition über Bord zu werfen und damit vielleicht sogar mehr Leid über Tier und Mensch zu bringen als zuvor? Was ist mit Ebermast? Was mit dem Ebergeruch? Wie sollen sich die Betriebe konkret umstellen? Betäubung: ja?, nein? Ist Betäubung überhaupt *Bio* oder gefällt den ökologischen Produzenten lediglich das Wort Betäubung? Wie kann man die Metzger beruhigen, die nun um ihren Schweinefleischumsatz fürchten? Diese Fragen gehören in der Tat öffentlich diskutiert und ebenfalls wissenschaftlich untersucht.

¹Die Autorin vertritt nicht die Ansichten des Herrn Pollmer.

Nach dem Siegeszug der Tierschützer bezüglich des Käfighaltungsverbots in Legehennenbetrieben, kommt nun der allgemeine Wunsch nach einem Kastrationsverbot für Ferkel. Da Betäubungen für einige Firmen kostspielig werden können, werden Alternativen wie die der Ebermast immer häufiger in Betracht gezogen. Staaten wie die Niederlande und England liefern hierfür gute Beispiele. Obschon in England die Kastration junger Schweine seit jeher eine sehr geringe Rolle spielte, konnten die Niederlande das System erfolgreich adaptieren. Eberfleisch findet beispielsweise bei der „Bacon-Herstellung“ Verwendung, sodass niederländische Unternehmen vom Verkauf ihrer Produkte auf dem englischen Markt profitieren [NFE]. Der Ebermast folgt jedoch die Geruchsproblematik und empfindliche Nasen könnten komplett auf den Verzehr von Schweinefleisch verzichten. Die vorliegende Arbeit bietet einen Überblick über die Ursprünge menschlicher Geruchswahrnehmung, der Entstehung des sogenannten Ebergeruchs und widmet sich im Anschluß der statistischen Auswertung eines im Rahmen des Projekts: „Odorant receptor OR7D4 and its effect on the 5α -androst-16-en-3 α -ol (androstenol) perception of truffle lovers“ durchgeführten Experiments, welches die Beteiligung der Polymorphismen eines Geruchsrezeptoren an der Wahrnehmung des Ebergeruchs sowie eines verwandten Trüffelsteroids zu erforschen sucht.

In seinem 1990 veröffentlichten Werk: „Riechstoffe und Geruchssinn: Die molekulare Welt der Düfte“, schreibt Günther Ohloff zur Überlegenheit des Geruchssinns über die anderen Sinne: „Der Geruchssinn dagegen kann eine praktisch unbegrenzte Anzahl chemischer Verbindungen bei äußerst niedrigen Schwellenwerten unterscheiden“. Und nicht nur daran zeigt sich die Wichtigkeit des olfaktorischen Systems, auch dass etwa 4% des menschlichen Erbguts der Entschlüsselung von Gerüchen dient (Firestein, 2001), ist beeindruckend. Der Hund gehört bekanntlich zu den besten Riechern und damit zu den sogenannten Makrosmatikern. Ein Dackel etwa besitzt 125 Millionen Rezeptoren die zur Geruchsaufnahme bestimmt sind, hingegen der Mensch gerade mal ein Zehntel davon (Loeffler und Gäbel, 2009). Beim Hund sind 1200 unterschiedliche Rezeptoren bekannt, beim Menschen lediglich etwa 400 (Gilad und Lancet, 2003), von denen wiederum nur 6 näher erforscht sind. Einem dieser sechs soll sich in der vorliegenden Arbeit näher gewidmet werden: Dem OR7D4.

1 Einführung

1.1 Grundlagen

Der Mensch ist ein Mikrosmatiker, d.h., sein Geruchssinn ist nur schwach ausgeprägt und spielt eine untergeordnete Rolle (Loeffler und Gäbel, 2009). Dennoch bestimmen Duftstoffe unseren Alltag maßgeblich. Die Wahrnehmung eines Geruches, d.i. die olfaktorische Wahrnehmung, hängt unmittelbar von dem Zusammenspiel der Duftstoffe (in Form chemischer Verbindungen) und der Rezeptorausstattung der Riechzellen ab. Geruchsstoffe sind Teil der Atemluft und befinden sich als solche nur temporär im Organismus.

Damit eine Perzeption erreicht wird, müssen die Moleküle in der Riechzone (*Regio olfactoria*) angereichert werden. Sie grenzt im oberen Bereich der Nasenhöhle an die Siebbeinplatte (vgl. Abb. 1.1), und enthält die primären Sinneszellen. Diese Riechzellen sind spezialisierte Nervenzellen und so bezeichnete bipolare Neurone. Als solche besitzen sie sowohl Dendriten als auch Neuriten. Erstere liegen an der Schleimhautoberfläche und Letztere ziehen sich durch die Siebplatte des Siebbeins zum Riechkolben (*Bulbus olfactorius*). So bilden sie das periphere Bindeglied bei der Kontaktaufnahme zwischen einem chemischen Reiz und den Nervenzellen im Gehirn (Ohloff, 1990). An den Dendriten liegen, als Ausläufer dieser Nervenzellen, synaptische Eingänge und somit Rezeptoren, an denen Duftstoffe binden. Die Rezeptoren sind nicht nur zell- sondern auch duftstoff-spezifisch und ermöglichen eine vielfältige Geruchsdifferenzierung. Bindet ein Geruchsstoff an einem Rezeptor, können teils tausende Ionenkanäle gleichzeitig geöffnet werden, was in der Riechzelle zu einer kaskadischen Verstärkung, der sog. „Reizpotenzierung“ führt, die das Wahrnehmen von Gerüchen selbst bei niedriger Duftstoffkonzentration bzw. geringen Schwellenwerten ermöglicht (Loeffler und Gäbel, 2009).

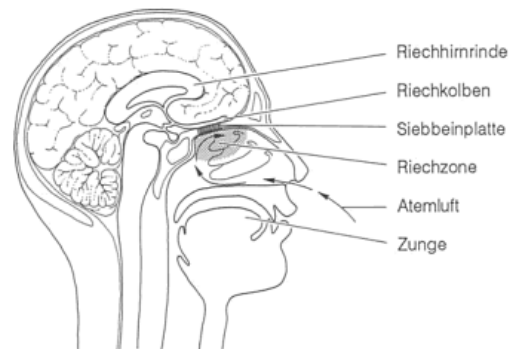


Abbildung (1.1) Schema¹

¹aus: Ohloff, 1990

Genetik des OR7D4

Der Name des OR7D4 setzt sich aus seiner Funktion als olfaktorischer Rezeptor (OR) und seiner genetischen Klassifizierung im Nomenklatorsystem nach Gustavo Glusman zusammen. So gehören mindestens sechs weitere Rezeptorfamilien der Überfamilie OR an (bezeichnet als: OR1-OR6) und der hier untersuchte wird einer siebten zugezählt. In diesen Familien fasst man Rezeptorproteine zusammen, die mindestens zu 40% in ihrer Proteinstruktur übereinstimmen. Innerhalb der Familie werden wiederum Unterfamilien definiert, die letztendlich aus Isoformen bestehen. Jede Unterfamilie beinhaltet Sequenzen, die sich zu mindestens 60% ähnlich sind. Sie werden mit den Buchstaben A,B,C,... bezeichnet. Es lässt sich zusammenfassend formulieren, dass der OR7D4 die vierte Isoform der D-Unterfamilie von olfaktorischen Rezeptoren der siebten Familie ist (Glusman et al., 2000). Gemäß Keller et al., (2007) tragen die weiteren Familien des Proteinkomplexes der OR nicht zur Detektion von Androstenon oder ähnlichen Steroiden bei, sodass sie in dieser Arbeit nicht weiter berücksichtigt werden.

Als membranständiger Rezeptor dient OR7D4 der Aufnahme spezifischer Geruchsstoffe, da diese die Zellmembran der Riechzellen nicht durchdringen können. Die Aufnahme eines Geruchsstoffes erfolgt je nach Größe des Moleküls über Liganden (bei kleinen Molekülen) oder nach dem fit-in- bzw. Schlüssel-Schloß-Prinzip (größere Moleküle). Der Rezeptor sorgt für die Aktivierung der second messenger in der Zelle, die die Informationen weiterleiten, indem sie weitere Proteine aktivieren und damit auch die Ionenkanäle steuern (Loeffler und Gäbel, 2009). Er gehört zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und seine Proteinstruktur (und damit die Spezifität) wird durch das OR7D4-Gen bestimmt (Oboti et al., 2011). Dieses Gen beinhaltet mindestens vier relevante Basenpaar-Punktmutationen, sogenannte Einzelnukleotid-Polymorphismen (eng. Single Nucleotide Polymorphism, im Folgenden mit SNP abgekürzt) (Willam und Simianer, 2011).

Die bekanntesten SNP's (vgl. Abb. 1.2) des OR7D4-Gen sind die Polymorphismen: rs61729907:C>T und rs5020287:C>T , welche gekoppelt vorliegen und in zwei Aminosäuresubstitutionen resultieren: R88W und T133M (Razafindrazaka et al., 2015). Somit ergeben sich drei genotypische Varianten: RT/RT als das häufigste Allel, gefolgt von der heterozygoten RT/WM-Variante und seltener auftretend WM/WM (Keller et al., 2007). Die Versuchsgruppe um Andreas Keller stellte fest, dass der Besitz des RT-Allels zu einer hohen Empfindlichkeit bezüglich bestimmter Steroidverbindungen führt und damit zu einem hochaffinen Rezeptor. Die WM/WM-Gruppe zeigte dazu konträr die geringste Sensibilität.

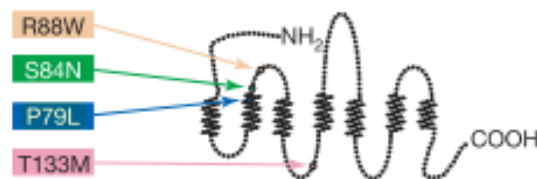


Abbildung (1.2) SNP's des OR7D4²

Zwei weitere, jedoch ungekoppelte SNP's finden sich etwas weiter vorn im Gen: rs61732668:C>T und rs5020280:G>A, bezeichnet als P79L und S84N, die als Heterozygoten in Europa nach Angabe von Razafindrazaka jedoch eher selten vorkommen (Razafindrazaka et al., 2015). Der P79L tritt als Wildform homozygot in der Ausprägung CC auf und kann als Mutante in Form von CT oder auch TT auftreten. Wiederum gilt für den S84N die ebenfalls homozygote Wildform GG, deren Mutationen als GA bzw. AA auftreten³. Die Auswirkungen des jeweiligen Genotypes auf die Geruchswahrnehmung sowie deren statistische Auswertung umfasst den weiteren Teil dieser Arbeit.

²aus: Keller et al., 2007

³Frei zitiert aus der Erläuterung von Frau Isabel Wiedemann, welche die Gensequenzierung für die Arbeitsgruppe durchführte.

1.2 Androstenon & α -Androstenol

Jeder Organismus setzt sich aus Naturstoffen (d.i.: Chemische Verbindungen, die biologische Funktionen im Körper erfüllen), zusammen. Dabei überwiegen die chemischen Verbindungen der Kohlenstoffatome, die auch als *organische Moleküle* bezeichnet werden. Kohlenstoff ist sehr reaktionsfreudig und besitzt vier Bindungsmöglichkeiten pro Atom, wodurch es in Verbindung mit weiteren C-Atomen äußerst lange Ketten bilden kann. Bei den organischen Molekülen im Körper, oder auch den primären Naturstoffen, werden zumeist die vier Gruppen der Lipide (Fette), Proteine (Eiweiße), Kohlenhydrate (Zucker, etc.) und Nukleinsäuren unterschieden. Lipide untergruppieren sich, je nach strukturellem Aufbau, ebenfalls in jeweils vier Klassen: Fettsäuren, Phospholipide, Triacylglycerine und Steroide (Loeffler und Gäbel, 2009). Die Letztere beschreibt dabei die Klasse der ringförmigen Kohlenwasserstoffe, zu der Cholesterin und die daraus abgeleiteten Geschlechtshormone (Androgene) gehören. Androgene setzen ein gemeinsames Grundgerüst voraus: Androstan, eine chemische Struktur aus 19 C-Atomen, die sich zu vier Ringen verbunden hat. Androstan ist ein Derivat des Sterans, welches wiederum die Grundstruktur der Steroide bildet. Es besteht aus drei sechsgliedrigen und einem fünfgliedrigen Ring (siehe Abb.: 1.3) (Mortimer und Müller, 2001). Das wiederum bekannteste Androgen ist das Testosteron, welches in den Leydig-Zwischenzellen der Hoden produziert wird (Loeffler und Gäbel, 2009). Androstane befinden sich im Körper in ständigem Umbau, sodass

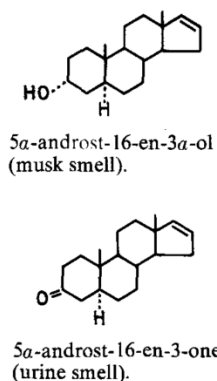


Abbildung (1.3) Gegenüberstellung Androstenon und α -Androstenol⁴

es eine Vielzahl von Derivaten gibt. Strukturelle Modifikationen verändern ebenso die chemischen Eigenschaften des jeweiligen Steroids, sodass bei bestimmten Verbindungen von einem „Steroid-typischen“ Geruch gesprochen wird (Ohloff et al., 1983). Dieser Geruch stellt eine Informationsübertragung dar, sodass diese speziellen Verbindungen Funktionen von Botenstoffen übernehmen – als steroidale Pheromone. Sowohl Androstenon (5 α -androst-16-en-3-on) als auch α -Androstenol (5 α -androst-16-en-3 α -ol) sind als solche zu benennen. Ein chemischer Vergleich beider Stoffe sei in der folgenden Tabelle aufgeführt:

⁴aus: Claus et al., 1981

Tabelle (1.1) Chemischer Vergleich

	<i>Androstenon</i>	<i>α-Androstenol</i>
Formel	$C_{19}H_{28}O$	$C_{19}H_{30}O$
Siedepunkt	157,7 °C	167,9 °C
Konfiguration	<i>trans</i>	<i>trans</i>
Molekulargewicht	$272,43 \frac{g}{mol}$	$274,44 \frac{g}{mol}$
biolog. Vorkommen	<i>E, M</i>	<i>E, M, T</i>

Pheromon beim Eber (E), menschliche Schweißdrüsen (M), Trüffel (T)

Es lässt sich sowohl in Abbildung 1.3, als auch in Tabelle 1.1 schnell ersehen, dass sich beide Stoffe sehr ähnlich sind [GC]. So bestehen lediglich minimale Abweichungen in Molekulargewicht und Siedepunkt, als auch in der Art der Bindung zum Sauerstoffatom. Die Konfiguration der Moleküle ist insofern interessant, als dass nur für *trans*-Konjugationen eine Geruchsausprägung festgestellt wurde. In der *cis*-Form bleiben die Rezeptoren nahezu inaktiv (Ohloff et al., 1983). Die Geruchsausprägung selbst stellt jedoch einen namhaften Unterschied dar. Ohloff et al., stellten 1983 in ihrem Versuch fest, dass Androstenon zu den Androstan-Derivaten gehört, die olfaktorisch als urin-ähnlich beschrieben werden. Hingegen wird α -Androstenol neben einigen anderen ähnlichen Verbindungen als moschusartig empfunden. Aus der Annahme beider Derivate als Pheromone des Menschen (Benton, 1982; Pause, 2004), resultierten diverse Studien zur Untersuchung der Bedeutsamkeit dieser Erkenntnis hinsichtlich menschlicher Interaktion. Im Rahmen dieser Arbeit wird auf diese Zusammenhänge jedoch nicht weiter eingegangen, sondern es werden lediglich die Schwerpunkte Eberpheromon und Trüffelsteroid näher beleuchtet.

Im Eber werden sowohl Androstenon als auch α -Androstenol in den Hoden synthetisiert und wandern durch dessen Blutstrom ins Fettgewebe und die Speicheldrüsen. Dort werden sie angereichert, um vor der Befruchtung intensiv sekretiert zu werden. Dies geschieht durch Kieferbewegungen des Ebers im sich daraus bildenden Speichelschaum (Claus et al., 1981; Loeffler und Gäbel, 2009). In Trüffeln konnte α -Androstenol erstmals 1981 sowohl durch Radioimmunoassay als auch Gas-Chromatographie nachgewiesen werden. Obwohl vermutet wurde, dass α -Androstenol verantwortlich für das Auffinden von Trüffeln bei weiblichen Schweinen ist (Claus et al., 1981), konnte die Arbeitsgruppe um Splivallo nachweisen, dass ein weiterer im Trüffel befindlicher Stoff – Dimethylsulfid – sie anlockt. Auf diesen Geruchsstoff lassen sich auch Hunde abrichten (Splivallo et al., 2011). Ob den beiden Gerüchen bei ihrer Detektion auch der Rezeptor gemein ist, oder ob es sich um ein Konglomerat verschiedenster Auslöser handelt, wurde bislang noch nicht nachgewiesen und soll ab dem zweiten Kapitel mit den zur Verfügung gestellten Daten überprüft werden.

Anosmie

Nach aktueller Ausgabe der internationalen statistischen Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme (ICD-10) wird Anosmie neben Parosmie im Kapitel XVIII als Störung des Geruchs- und Geschmackssinnes gelistet [IC]. Wo Parosmie eine von der Norm der Bevölkerung abweichende Geruchserfahrung beschreibt, ist Anosmie das Ausbleiben jeglicher olfaktorischer Wahrnehmung. Im Fall von Androstenon kann dieser Effekt jedoch gezielt auf nur dieses Molekül zuzutreffen. Sowohl die Bandbreite der olfaktorischen Bewertung von Androstenon als auch die grundlegende Fähigkeit zur Wahrnehmung differiert stark (Bremner et al., 2003). Diese spezifische Androstenon-Anosmie könnte einerseits geschlechtsabhängig sein (Griffiths und Patterson, 1970) oder auf der Grundlage genereller genetischer Ausstattung basieren. Keller et al., (2007) haben nachgewiesen, dass der OR7D4 teilweise durch Androstenon und auch artverwandte Steroide aktiviert wird. Dabei konnten sie für die SNP's P79L und S84N eine starke Sensibilität bezüglich mehrerer Steroidverbindungen zeigen, allerdings nur in vitro. Für den AS-SNP galt, dass in der WM/WM-Variante eine solche Aktivierung nach Freisetzung des Duftstoffes nicht bzw. nur sehr vermindert nachgewiesen werden konnte und auch die Mischform RT/WM ähnliche Ergebnisse zeigte. Allein die RT/RT-Rezeptortypen zeigten die stärkste Antwort und reagierten selektiv auf die verschiedenen Neurosteroide. Bislang ist allerdings unklar, warum der Verlust eines Allels so starke Auswirkungen auf die Funktion des Rezeptors hat (Keller et al., 2007).

Bezüglich der Androstenon-Anosmie sind jedoch noch weitere Faktoren denkbar, wie etwa:

- Herkunft/Lerneffekte
- Raucher/Nichtraucher
- Geschlecht
- Alter

Die Idee, dass die Androstenonwahrnehmung bei Testpersonen steigt, die dem Geruch häufiger ausgesetzt waren, findet sich in mehreren Studien (Wysocki et al., 1989; Keller et al., 2012; Mörlein et al., 2013). In dieser Arbeit wird der Aspekt der Lernfähigkeit über die Variable der Herkunft überprüft. Die Herkunft spiegelt sich dabei in dem Ort wieder, an dem man geboren bzw. aufgewachsen ist und der anhand der Einwohnerzahl quantifiziert wurde. Dabei wird die These überprüft, ob beispielsweise gebürtige Dorfbewohner gegenüber Stadtbewohnern eine höhere Perzeptionsfähigkeit für Androstenon aufweisen (Näheres siehe Auswertung 2. Kapitel).

Generell steht fest, dass das Wahrnehmen von Androstenon stark zwischen Testpersonen innerhalb der verschiedenen Studien variierte (Olender und Lancet, 2012; Keller et al., 2012). Es wird nun angenommen, dass ein Großteil der Varianz nicht durch oben beschriebene Faktoren erklärt werden kann, sondern genotypisch verankert ist. Obige Faktoren spielen zwar wahrscheinlich auch weiterhin eine Rolle, wenn es um Adaption oder selbstverschuldete Anosmie (wie etwa bei Rauchern) geht, jedoch konnte durch die Untersuchungen von Keller et al., (2007) nachgewiesen werden, dass das Vorhandensein der Polymorphismen im OR7D4 stark zur Perzeption von Androstenon und weiteren Neurosteroiden beiträgt. Für α -Androstenol ist ferner keine spezifische Anosmie bekannt.

1.3 Material & Methoden

Vom 14.10.2014 bis 24.10.2014 wurden im Rahmen der Studie „Odorant receptor OR7D4 and its effect on the 5α -androst-16-en-3 α -ol (androst-enol) perception of truffle lovers“ Geruchstests⁵ durchgeführt. Die Arbeitsgruppe um Projektkoordinatorin Johanna Trautmann hat das Ziel nachzuweisen, dass SNP's im OR7D4 neben der Androstenonaktivierung auch verantwortlich für die Wahrnehmung von 5α -androst-16-en-3 α -ol in Trüffeln sind. Die Studie wurde im italienischen Raum an 164 Versuchsteilnehmern durchgeführt (vgl. Tab. 1.2). Probanden anderer Nationalität lagen mit 1 : 3 in der Minderheit. Deutschland war neben Italien die zweitgrößte vertretene Nation mit 8 Probanden. Die Altersspanne umfasste 18 bis 72 Jahre und der Median lag bei 27 Jahren. Es nahmen mehrheitlich Nichtraucher und nur sehr wenige Vegetarier teil. Die Verteilung von Männern und Frauen kann approximativ als ausgeglichen bezeichnet werden, ebenso die Herkunft. Dies schlug sich darin nieder, dass aus den fünf Herkunftskategorien (Dorf, Kleinstadt, Stadt, Großstadt, Metropole) gleichverteilt jeweils um die 30 Probanden stammten. Um weitere Charakteristika der Teilnehmer zu evaluieren, sollten diese einen Fragebogen ausfüllen, nachdem sie per Riechstreifen einen Geruchstest absolvierten. Die Tests wurden von mehreren Testern an den verschiedenen Terminen, einerseits in der University of Gastronomic Sciences in Pollenzo und andererseits auf der Trüffelmesse in Alba, Piemont, durchgeführt. Von allen Probanden wurden DNA-Samplings genommen. Der Geruchstest bestand aus fünf Einzeltests, welche als Dreieckstest mit 3-facher Wiederholung aufgebaut waren. Der erste Abschnitt diente zur Kontrolle des grundsätzlichen Geruchvermögens, wobei 1,5%-D-(+)-Carvon benutzt wurde. Dieses Keton ist Teil ätherischer Öle und findet sich beispielsweise in Dill und Mandarinenschalen [CL]. Probanden wurden nur in die spätere Auswertung mit aufgenommen, wenn sie in dieser Kontrolle einen Erfolg mit 3/3 erreichten.

Tabelle (1.2) Testteilnehmer

	ja	nein
Raucher	48	116
Frauen	92	72
Stadtbewohner ⁶	61	103
über 27 Jahre	81	83
Trüffelkonsum	153	7
Vegetarier	5	159

⁵Die Daten wurden von der Arbeitsgruppe zur Verfügung gestellt.

⁶bedeutet hier Städte ab 100.000 Einwohnern

Tabelle (1.3) Geruchstest

	Abkürzung	Verdünnungsstufe	Konzentration
Abschnitt Androstenon	an9	0,5 $\mu\text{g/ml}$	niedrig
	an6	4,3 $\mu\text{g/ml}$	hoch
Abschnitt α -Androstenol	α -an6	4,3 $\mu\text{g/ml}$	hoch
	α -an3	34,05 $\mu\text{g/ml}$	sehr hoch

Der Begriff „Erfolg“ soll künftig stets als Bezeichnung für das Erkennen des im Test sogenannten „odd sample“ dienen, wobei ein Erkennen ab 2/3 richtig beantworteten Dreieckstests gilt. Bei einem geringeren Verhältnis wird im Folgenden von Anosmikern gesprochen. Der zweite und dritte Abschnitt des Tests enthielt Geruchsproben von Androstenon in starker Verdünnung und anschließend geringer Verdünnung (vgl. Tab. 1.3). Analog enthielten der vierte und fünfte Testabschnitt α -Androstenol in starker und schwacher Verdünnung. In zweiter Stufe sollte sowohl die Intensität als auch der eigene Zuspruch auf einer vorher festgelegten Skala bewertet und anhand von Deskriptoren beschrieben werden. Die sich daraus ergebenden Erkenntnisse werden in dieser Arbeit nicht im Kompletten behandelt, jedoch findet sich in der Datenübersicht (Unterabschnitt 2.1.2) eine erste Tendenz der Ergebnisse. Bezüglich des eigenen Zuspruchs, konnte per single choice zwischen 1 (sehr unangenehm) und 9 (sehr angenehm) ganzzahlig gewählt werden. Bei einigen Probanden fanden sich hierbei unklare Angaben (etwa Mehrfachangaben), sodass mittels zufälliger Ziehung im Nachhinein ein Wert festgelegt wurde. Ferner gaben drei Anosmiker an dieser Stelle gar nichts an, sodass sie bei der statistischen Auswertung aus den Boxplots herausgenommen wurden.

Zentrale Fragestellungen der Arbeitsgruppe waren sowohl der Zusammenhang zwischen dem RT/RT-Genotyp und olfaktorischem Erfolg (Hypothese 1: Es gibt einen Zusammenhang), als auch die Vermutung, dass Zugehörige dieser Gruppe Androstenon negativer bewerten als die Vergleichsgruppe (Hypothese 2: Die Mittelwerte der Bewertung sind signifikant verschieden). Der Tatsache folgend, dass ein konkreter genetischer Zusammenhang mit α -Androstenol noch nicht untersucht wurde, stellt dieses Steroid zwar einen Nebenschauplatz dar, doch die starke Verwandtschaft mit Androstenon legt den Schluß nahe, dass es auch hier Korrelationen geben könnte. Im kommenden Kapitel werden die ermittelten Häufigkeiten der Genotypen nebst Auswertung der zweiten Stufe (Bewertung des Geruchs) tabellarisch vorgestellt. Die Zusammenhangsanalysen finden sich nachstehend.

2 Datenanalyse

2.1 Übersicht der Daten

2.1.1 Genotypen

Tabelle (2.1) Genotypen Übersicht

SNP	Ausprägung	Probanden	Anosmiker an6	Anosmiker α -an3
AS	RT/RT	111	36	35
	RT/WM	46	18	9
	WM/WM	7	3	3

Aufgrund der geringen Anzahl von Probanden in der WM/WM-Gruppe, wurde diese Gruppe für die statistische Auswertung mit der RT/WM-Gruppe zusammengelegt und wird in der Arbeit unter der Bezeichnung „Sonstige“ für den AS-SNP geführt. In Tabelle 2.1 sind vorrangig die Anosmiker aufgeführt, da sich im Abschnitt 2.2.1 konkreter auf die Erfolge (in Form von Unabhängigkeitstest zur Überprüfung der Hypothese 1) bezogen wird. Entgegen der ersten Annahme mit Blick auf Tabelle 2.1, gibt es bei den Anosmikern für Androstenon und den Anosmikern für α -Androstenol nur wenige Überschneidungen. So sind es in der RT/RT-Gruppe lediglich zehn und in der RT/WM-Gruppe nur noch zwei. Es kann eine Verbindung zwischen spezifischer Androstenon-Anosmie und einer eventuell damit einhergehenden α -Androstenol-Anosmie bei den vorliegenden Daten ausgeschlossen werden. Es erfolgte ebenfalls eine Ermittlung der Basenpaare für die SNP's P79L und S84N, jedoch konnten hierbei keine heterozygoten Ausprägungen festgestellt werden. Für den S84N gab es lediglich einen Probanden, der nicht als Wildform auftrat. So war ein Einbezug dieser beiden Polymorphismen in die statistische Auswertung, aufgrund fehlender Heterogenität der Daten, nicht möglich.

2.1.2 Bewertungen

Im Rahmen des Fragebogens sollte von den Probanden eine Bewertung zweier Gerüche vorgenommen werden, zu denen ihnen jeweils 15 Deskriptoren vorgegeben waren. Sie wurden angehalten, dem Geruch jeweils mindestens einen dieser Deskriptoren zuzuordnen, es waren jedoch auch Mehrfachangaben möglich. Hinter den Gerüchen verbarg sich erneut die jeweils höchste, verwendete Konzentration von Androstenon und α -Androstenol. Zur Auswahl standen: Holz, Parfüm, Trüffel, süß, Fäkalien, Stall, Schweiß, Erde, Sandelholz, Moschus, Urin, blumig, Luft, Abwaschwasser/Desinfektionsmittel, keines davon.

Nach den Funden von Keller, et al. (2007), wurde eine erhöhte Häufigkeit der Angaben „Schweiß“ für Androstenon und „Moschus“ für α -Androstenol erwartet. In Abbildung 2.1 sind die sieben häufigsten Angaben zum jeweiligen Duftstoff visuell dargestellt. Diese waren überraschenderweise für beide Stoffe zusammenfallend, wenn auch in anderer Häufigkeit. Das ringförmige Raster in der Abbildung ist im Zehnerabstand (bei zehn beginnend), angeordnet, sodass für α -Androstenol beispielsweise knapp 60 Nennungen für „blumig“ gezählt wurden. Für Androstenon wurde auffällig häufig angegeben, dass kein spezieller Duft wahrgenommen wurde (49 x „Luft“), diese Angaben decken sich überschlägig mit Tabelle 2.1 und es kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei diesen Bewertungen vorwiegend um Anosmiker handelt.

Die verbleibenden Probanden haben für Androstenon nahezu gleichverteilte Angaben zu den Deskriptoren gemacht, sodass bis auf die Prädikate „Holz“ und „blumig“ keine gewichtigen Häufigkeiten mehr auftraten. α -Androstenol hingegen wurde übereinstimmender bewertet, wobei sich hier die Attribute „blumig“ und „Parfüm“ deutlich abzeichnen. Die erwartete Bewertung als moschus-artig blieb mit lediglich 21 Angaben hinten an und liegt mit dieser Häufigkeit auf Augenhöhe mit Androstenon, für welches nahezu die gleiche Häufigkeit beobachtet werden kann. Ein Unterschied zwischen diesen beiden Geruchstoffen kann mit den vorliegenden Daten nicht bestätigt werden.

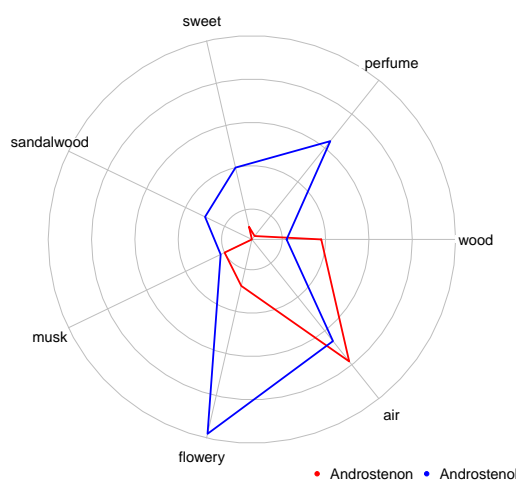
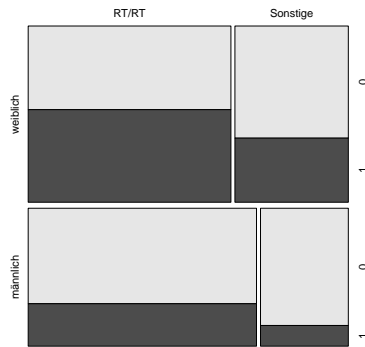


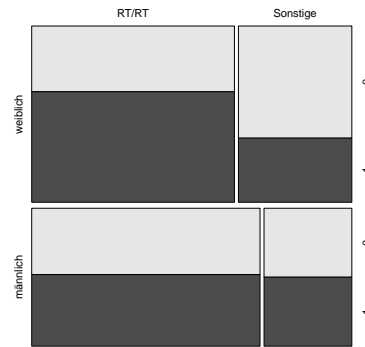
Abbildung (2.1) Netzdiagramm¹

¹Das Diagramm wurde mit der Funktion *radial.plot()* aus dem **R**-Packages *plotrix* (Lemon (2006)) erstellt.

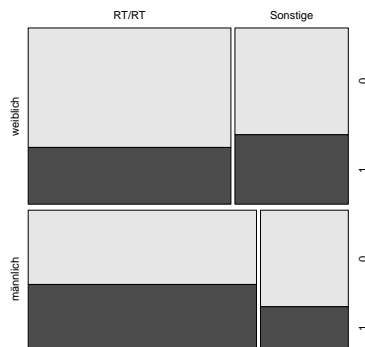
2.1.3 Graphische Darstellung



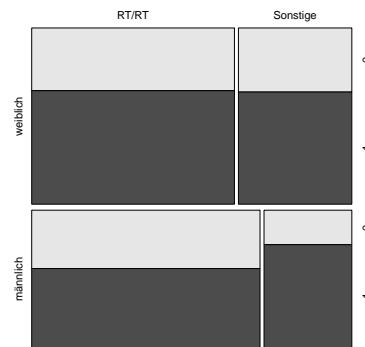
(a) Androstenon Stufe 9



(a) Androstenon Stufe 6



(b) α -Androstenol Stufe 6



(b) α -Androstenol Stufe 3

Abbildung (2.2) Starke Verdünnung **Abbildung (2.3)** Schwache Verdünnung

Zum Ende dieses Unterkapitels sind die Daten im Gesamten dargestellt, um den Unterschied zwischen den Verdünnungen sichtbar zu machen. Die Mosaikplots wurden mittels des **R**-Packages `vcd` (Meyer et al., 2006) und der Funktion `mosaic()` trivariat erstellt, indem die Komponenten Geschlecht, Genotyp und Erfolge (0/1) miteinander verbunden wurden. Aufgrund der nahezu gleich großen Gruppen, lässt sich vergleichend formulieren, dass Frauen der RT/RT-Gruppe bei Androstenon besser abschnitten als Männer. Ebenso zeigt sich (bis auf die Gruppe der Männer in Abb. 2.3 (a)), dass RT/RT-Genotypen ebenfalls mehr Erfolge erzielten. Für α -Androstenol kann das Verhältnis der Erfolge sowohl in Bezug auf das Geschlecht als auch bezüglich des Genotypens als ausgeglichen bezeichnet werden.

2.2 Bivariate Methoden

Die deskriptive Statistik eröffnet grundlegende Möglichkeiten bei der Untersuchung empirischer Fragestellungen und ist gerade in Bezug auf Zusammenhänge zwischen Daten sinnvoll einsetzbar. Der erste Teil des behandelten Fragebogens bestand aus personenbezogenen Angaben, die sich in den Daten hauptsächlich als qualitative Merkmale niederschlagen. Das Alter der Probanden (als einziges quantitativ stetiges Merkmal), wurde aus den Angaben zum Geburtsjahr ermittelt. Weitere Angaben, wie beispielsweise über die Rauchgewohnheiten der Testperson, wurden dichotomisiert und die Geruchstests sowie -bewertungen aus dem zweiten Teil des Fragebogens mit Zahlen kodiert und für die Statistik-Software **R** (R Development Core Team, 2011) im späteren Verlauf der Datenaufbereitung je nach Bedarf entweder als *integer* oder *factor* eingelesen. Tautologisch handelt es sich bei bivariaten statistischen Verfahren um die Analyse von lediglich zwei Merkmalen, die zumeist als unabhängige und als abhängige Variable in die Betrachtung einbezogen werden. Für die Beantwortung einer simplen Frage, wie etwa dem Zusammenhang von x und y , sind derlei Methoden als Vorabbetrachtung unabdingbar und nutzenstiftend. Im Folgenden werden die beiden Variablen Geruchserfolg (abhängige Variable) und Genotyp (unabhängige Variable) miteinander in Verbindung gesetzt und nach Abhängigkeiten in Form von Signifikanzen untersucht. Ob eine Signifikanz vorliegt, wird mit Hilfe von statistischen Tests überprüft. Diese Prüfverfahren folgen dem Prinzip der mathematischen Widerlegung einer Behauptung (der Nullhypothese), mit dem Resultat, dass die Intention des Testers belegt werden kann. In dieser Arbeit wird sich darauf konzentriert, die Nullhypothese stets unter der Bedingung einer homogenen Grundgesamtheit zu formulieren, in der Hoffnung, Unterschiede aufdecken zu können. Ob ein Unterschied vorliegt (und die Nullhypothese damit abgelehnt werden kann), soll im Folgenden durch den Signifikanzwert (eng. p-value) beschrieben werden. Der p-Wert erteilt Aussage darüber, wie hoch die Wahrscheinlichkeit unter Annahme der Nullhypothese ist, einen Wert zu erhalten der mindestens so auffällig ist wie der geprüfte Wert. Daraus folgt, dass ein sehr niedriger p-Wert erstrebenswert ist. Im wissenschaftlichen Kontext liegt der Konsens zumeist bei einem Signifikanzniveau von 5%, sodass der p-Wert unter die 0,05-Marke fallen muss um eine Signifikanz aufzuzeigen.

2.2.1 Unabhängigkeitstests

Die erste Hypothese formuliert die Arbeitsgruppe in ihrem Research Proposal wie folgt: „Higher proportion of correct triangle tests (3/3) for androstenone for a specific concentration in the RT/RT group compared to RT/WM and WM/WM“. Es gilt somit zu prüfen, ob ein größerer Anteil der „RT“-Gruppe gegenüber der „Sonstige“-Gruppe, Erfolge in der Wahrnehmung der Androstenonproben erzielte. Es werden nur die Kontingenztafeln sowie die resultierenden p-Werte gezeigt, für das komplette **R**-Skript siehe Anhang Kapitel 4. Alle Kontingenztafeln sind mit der Funktion `xtabs()` des `stats`-Packages² erstellt worden. Der χ^2 -Test entstammt ebenfalls `stats` und bezieht sich auf den Pearson'schen Unabhängigkeitstest mit der Funktion `chisq.test()`. Daraus folgt die Nullhypothese H_0 : „Es gibt keinen signifikanten Unterschied in der Wahrnehmung“. Es wird von einem α von 5% ausgegangen.

```
          sensan9
AS         0  1
RT/RT     64 47
Sonstige  38 15

[1] 0.08287734

          sensalphaan6
AS         0  1
RT/RT     68 43
Sonstige  34 19

[1] 0.7211489

Abbildung (2.4) Vierfeldertafeln
der schwachen Konzentration
```

```
          sensan6
AS         0  1
RT/RT     47 64
Sonstige  31 22

[1] 0.05278899

          sensalphaan3
AS         0  1
RT/RT     43 68
Sonstige  17 36

[1] 0.4073617

Abbildung (2.5) Vierfeldertafeln
der hohen Konzentration
```

Für beide Verdünnungsstufen ist der p-Wert [1] nicht niedrig genug, um eine Signifikanz bei vorausgesetztem Niveau aufzuzeigen (wobei für `an6` mit 0.052 nahezu erreicht). Bei einer etwas großzügigeren Auslegung, etwa einem α von 10%, ließen sich die von Keller et al., (2007) ermittelten Ergebnisse dennoch bestätigen ($0.082 \wedge 0.052 < 0.1$). Selbiges lässt sich für α -Androstenol jedoch in beiden Konzentrationen nicht zeigen, so kann hier eine Ablehnung von H_0 nicht vorgenommen werden und die gekoppelten AS-SNP's müssen weiterhin als effektfrei in Bezug auf dieses Steroid gelten.

²stats ist fester Bestandteil von **R** und daher als Paket nicht zitiert

2.2.2 Mittelwertvergleiche

Die zweite Hypothese wird von der Arbeitsgruppe wie folgt formuliert: „With regard to the liking (scale: 1=dislike extremely; 9=like extremely): Lower mean for the RT/RT group compared to RT/WM and WM/WM.“ So gilt es nun die Bewertung zu prüfen, die die Probanden bezüglich der Geruchsproben gegeben haben. In diesem Zusammenhang wurden jedoch nur die jeweils hohen Konzentrationen bewertet, sodass sich in diesem Teil nur auf die Auswertung von Androstenon₆ und α -Androstenol₃ bezogen wird. Es soll die Nullhypothese widerlegt werden, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Bewertung beider Genotyp-Gruppen gab.

Tabelle (2.2) Mittelwerte AS

Probanden	RT/RT	Sonstige	p-Wert
Mittel an ₆ like	5,15	4,96	0.3851847
Mittel α -an ₃ like	5,79	5,91	0.6421881

Da sowohl die Anzahl der Testteilnehmer (vgl. Tab. 2.2), als auch die Varianz in beiden Gruppen unterschiedlich groß ist, wurde sich nach Hedderich und Sachs (Hedderich und Sachs, 2011) für einen Zweistichproben-t-Test entschieden. Die Statistik:

$$\hat{t} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

In **R** erfolgt der Test mittels der Funktion *t.test()* aus dem Package *stats* und wird als Welch-Test ausgegeben. Die p-Werte aus Tab. 2.2 zeigen jedoch keine Signifikanzen für die Mittelwerte zwischen den Genotypen auf, sodass die Nullhypothese: $H_0 : \mu_1 = \mu_2$ beibehalten werden muss. Ebenso ein versuchsweise über die Mittelwerte bezüglich der Geschlechter durchgeführter Test ergab keine signifikanten Resultate. Es muss davon ausgegangen werden, dass mit den hier zugrundeliegenden Daten keiner der Funde früherer Experimente anderer Arbeitsgruppen bezüglich der Hypothese Zwei bestätigt werden kann.

Für den Fall, dass es sich bei diesen Resultaten jedoch um eine „Diktatur der Massen“ handelt insofern, als dass die Teilnehmer, die tatsächlich einen Geruch wahrnahmen lediglich in der Menge der nicht-Wahrnehmenden untergingen, sei in Abb. 2.6 sowie Abb. 2.7 die Auffächerung der Mittelwerte in die Teilnehmergruppen mit Erfolg bezüglich der Genotypen abgebildet. Die Darstellungsform entspringt der Funktion *apply()* aus dem Package base.

	0	1
RT/RT	5.702128	4.750000
Sonstige	5.161290	4.681818

Abbildung (2.6) Androstenon6

	0	1
RT/RT	5.441860	6.014706
Sonstige	5.176471	6.250000

Abbildung (2.7) α -Androstenol3

Entgegen der bisherigen Mittelwerte lässt sich nun ein deutlicher Unterschied zwischen den Bewertungen der Probanden, die Androstenon in hoher Konzentration wahrnehmen konnten als auch jenen, die keinen Erfolg hatten, ausmachen. Diese Werte lassen den Rückschluss zu, dass bei erkannter Androstenonprobe durchaus eine im Mittel niedrigere Bewertung vorgenommen wurde, was auf eine unangenehme Assoziation bei den Probanden hindeutet. Allerdings steht diese niedrigere Bewertung, den Ergebnissen aus Abb. 2.6 folgend, nicht mit dem Genotyp in Verbindung, sodass ein Signifikanztest ausgespart wurde. Gleiches gilt für die hohe Konzentration von α -Androstenol. Es ist eine Differenz in der Bewertung zwischen den erfolgreichen Probanden und den Anosmikern feststellbar, die signalisiert, dass bei wahrgenommener Probe diese im Mittel positiver bewertet wurde. Dessen ungeachtet beweisen diese Ergebnisse lediglich, dass die im Experiment verwendeten Gerüche tatsächlich chemisch unterschiedlich waren. So lässt sich auch nach detaillierterer Auffächerung der Mittelwerte keine Signifikanz in den Genotypen bezüglich der Bewertung des jeweiligen Geruchstoffes festmachen und die eingangs genannte Hypothese zwei der Arbeitsgruppe nicht bestätigen.

2.2.3 Graphische Darstellung

Um einen eventuellen Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Bewertung zu überprüfen, wurden die Daten mittels Boxplots des Packages ggplot2 (Wickham, 2009) visualisiert.

Die nebenstehende Abbildung zeigt den Vergleich der Mittelwerte für Androstenon. Da Androstenon auch in menschlichen Schweißdrüsen vorkommt (Knaapila et al., 2008) und daher von einigen Forschern als Pheromon angesehen wird, könnte sich durchaus ein Zusammenhang zwischen einer durchschnittlich eher höheren Bewertung bei Frauen, im Vergleich zu Männern, auf tun. Auch könnte sich die Wahrnehmung bei steigendem Alter verschlechtern. Mit Blick auf Abb. 2.8 ist jedoch lediglich die Gruppe älterer Männer der RT/RT-Gruppe auffällig. Sonst findet sich das Mittel durchgehend bei fünf, was für alle Testpersonen bedeutet, dass sie den Geruch auf einer Skala von „sehr negativ“ bis „stark positiv“ neutral bewerteten.

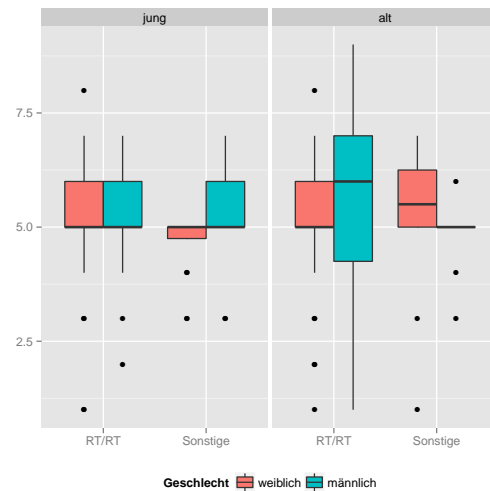


Abbildung (2.8) Boxplot Androstenon6

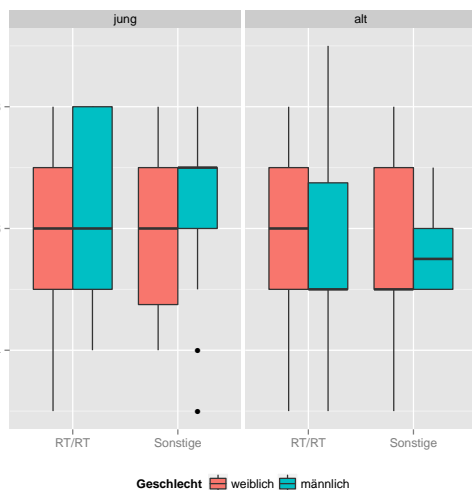


Abbildung (2.9) Boxplot α -Androstenol3

Linker Hand nun die Darstellung für α -Androstenol: In dieser Grafik gibt es neben einer größeren Varianz ebenfalls einen weitgehenden Konsens in der Bewertung mit weniger extremen Ausreißern. Grundsätzlich wurde dieser Geruch positiver bewertet. Wo die jungen Teilnehmer nahezu übereinstimmend positiv bewerteten, lag das Mittel älterer Teilnehmer wieder im Bereich des Neutralen. Auch zwischen den Genotypen lässt sich kein deutlicher Unterschied ersehen, viel eher scheint sowohl die genetische Ausstattung als auch das Geschlecht bei der persönlichen Bewertung von α -Androstenol unerheblich zu sein.

2.3 Multivariate Methoden

Da bivariate Methoden schnell an ihre Grenzen stoßen, wenn man komplexe Zusammenhänge betrachtet, werden im Folgenden ausgewählte Variablen der Versuchsreihe in einem multivariaten Modell dargestellt. Zu diesem Zweck wurden die beiden Proben Androstenon6 und α -Androstenol3 ausgewählt, da sie aufgrund der schwachen Verdünnung die aussagekräftigsten Resultate versprechen. Mittels einer Regression sollen mehrdimensional ($X = (X_1, X_2, \dots, X_n)$) die Einflussgrößen: „Geschlecht“, „Alter“, „Raucher“, „Herkunft“, „Schweinefleischkonsum“, „Trüffelkonsum“ und der AS-SNP des OR7D4 bezüglich der Erfolge (als abhängige Variable Y) berücksichtigt werden. Es gilt eine bedingte Wahrscheinlichkeit für Y :

$$P(Y = 1 \mid X = x) = \pi(x) \quad (2.1)$$

Im Jahr 1972 veröffentlichten John Nelder und Robert Wedderburn eine Verallgemeinerung (Generalisierung) der bislang genutzten linearen Regressionsmodelle (Nelder und Wedderburn, 1972). Dies führte dazu, dass nicht nur normalverteilte Einflussgrößen in Regressionen eingesetzt werden konnten, sondern auch bspw. Poissonverteilungen oder Binomialverteilungen. Das generalisierte lineare Modell wird in \mathbf{R} mittels der Funktion *glm()* ausgeführt und unterteilt sich in drei Untertypen (logistische Regression, Poisson-Regression und Ereigniszeitanalyse), die per Link angesprochen werden. Da die abhängige Variable („Erfolg“ ja oder nein) binär ist, wurde die logistische Regression (auch: Logit-Modell) gewählt. Es gilt die Transformation:

$$\eta(x) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n \quad (2.2)$$

$$\pi(x) = \frac{e^{\eta(x)}}{1 + e^{\eta(x)}} \quad 0 \leq \pi(x) \leq 1 \quad (2.3)$$

Für das Modell folgt, dass es notwendig ist, nicht-metrische Einflussgrößen ebenfalls als binäre Variablen mit 0/1-Kodierung aufzunehmen. Bei den Variablen „Geschlecht“ und „Raucher“ ist dies bereits der Fall, doch bei den kategorialen Daten mit Mehrfachoption, wie etwa bei der Variable „Herkunft“ und auch bei „Schweinefleischkonsum“ und „Trüffelkonsum“, ist das gewünschte Resultat nur über eine Dummy-Kodierung möglich.

Dazu wurden die Objekte des Datentyps *integer* in Objekte des Typs *factor* konvertiert und gleichzeitig umbenannt, wodurch die Kodierung nun nicht mehr numerisch sondern durch *character* erfolgt. Diese Zeichenketten werden von **R** als Dichotomien erkannt, sodass das Programm automatisch eine 0/1-Kodierung für jede Einzelne vornimmt (mehr dazu in der Modellauswertung). Metrische Daten, wie die des Alters, können hingegen direkt übernommen werden.

Dass das Geschlecht für die Androstenon-Wahrnehmung relevant ist, wurde in vorhergehenden Studien belegt (Weiler et al., 1997; Renfro und Hoffmann, 2013). Auch, dass die olfaktorische Perzeption mit wachsendem Alter nachlässt, ist erwiesen (Doty et al., 1984). Studien zum Tabakkonsum waren jedoch bislang nicht eindeutig (Bekaert et al., 2011). Spannend kann auch ein potentieller Zusammenhang mit der Herkunft sein. Ist es Personen, die auf dem Lande aufgewachsen sind, durch die anzunehmende, stärkere Verbindung zu Natur und Landwirtschaft, eher möglich Androstenon zu detektieren? Oder haben sie gegenteilig eine Gewöhnung entwickelt? Wie steht es um den Zusammenhang mit Schweinefleisch- und Trüffelkonsum? Zeigt sich eine Signifikanz, dass Personen, die eines der beiden Produkte häufiger konsumieren dies aufgrund einer Anosmie bzw. einer erhöhten Wahrnehmung und einen daran gekoppelten, intensiveren Geschmack tun? In welchem Ausmaß ist der OR7D4 daran beteiligt? Das Logit-Modell kann einen Ansatz zur Klärung dieser Fragen bereitstellen und soll folgend beschrieben und ausgewertet werden.

2.3.1 Logit-Modell Androstenon

Call:

```
glm(formula = sensan6 ~ d.gender + age + smoker + d.origin +  
    d.pork + d.truffle + AS, family = binomial(logit), data = Try)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.6768	-1.1099	0.8053	1.1039	1.6505

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	0.871517	0.648545	1.344	0.1790
d.gendermännlich	0.004205	0.346858	0.012	0.9903
age	0.001718	0.013456	0.128	0.8984
smoker	-0.152121	0.390754	-0.389	0.6971
d.origin>20.000	-0.098723	0.378805	-0.261	0.7944
d.origin>500.000	-0.318996	0.476278	-0.670	0.5030
d.porkmedium	-1.022224	0.440348	-2.321	0.0203 *
d.porkheavy	-0.474051	0.411156	-1.153	0.2489
d.trufflemedium	0.154291	0.397984	0.388	0.6983
d.truffleheavy	-0.220884	0.479325	-0.461	0.6449
ASSonstige	-0.650485	0.357741	-1.818	0.0690 .

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 226.96 on 163 degrees of freedom
Residual deviance: 215.72 on 153 degrees of freedom
AIC: 237.72

Number of Fisher Scoring iterations: 4

Verwendete Kategorien:

gender (männlich/weiblich), origin (<20.000/>20.000/>500.000),
pork (low/medium/heavy)³, truffle (low/medium/heavy), AS (RT/Sonstige)

³low=0-1, medium=2-4, heavy=>4 Mal Konsum pro Monat

In der Ausgabe beschreibt „Call“ die in **R** eingegebene Funktion für die multiple logistische Regression. Die Zielvariable ist „sensa6“. Sie ist als abhängige Variable binär mit Erfolg (1) oder Misserfolg (0) abgebildet. Hinter der Tilde folgen die Prädiktorvariablen (auch: Kovariablen), deren Einfluss auf die Steigung der Chance einer Wahrnehmung modelliert werden soll. Die „Deviance Residuals“ beschreiben die gemessenen Abweichungen von Beobachtung und Prognose (Hatzinger et al., 2014). Der Abschnitt „Coefficients“ wird auf der nachfolgenden Seite besprochen. Die Abweichungen am Ende der Ausgabe sind als Gütemaß der Anpassung für die Datenbeschreibung des Modells zu interpretieren (analog zum Bestimmtheitsmaß R^2 für lineare Modelle), wobei das Modell in der „Null deviance“ lediglich die Konstante (Intercept) umfasst und in der „Residual Deviance“ alle Einflussgrößen miteinbezogen werden. Das Basismodell (Null deviance) ist angesehen das denkbar schlechteste Modell für die Beschreibung der Daten. Ob die Daten jedoch mit dem Modell aller Einflussgrößen besser beschrieben werden, lässt sich durch verschiedene Methoden überprüfen. Hier soll nun mittels der Funktion *pchisq()* aus dem **R**-Package stats, ein Vergleich beider Modelle über die Signifikanz der Verringerung der Abweichung durchgeführt werden⁴:

```
> 1-pchisq(226.96-215.72,163-153)
```

```
[1] 0.3391281
```

Dieser p-Wert zeigt keine Signifikanz an, sodass die Nullhypothese dieses kurzen Einschubs (d.h.: beide Modelle entsprechen sich), nicht verworfen werden darf. Es muss also davon ausgegangen werden, dass das Prädiktorenmodell die Beobachtungen nicht wesentlich besser beschreibt als das Basismodell. Dennoch soll folgend ein kurzer Blick auf die Ausgabe der Koeffizienten geworfen werden.

⁴Idee von Jeff Hamrick [JH]

In der **R**-Ausgabe lassen sich die Schätzwerte (β -Werte) der erklärenden Variablen unter der Spalte Estimate ablesen. Sie wurden per Maximum Likelihood Methode von **R** geschätzt. Die Konstante (Intercept) stellt dabei β_0 aus Formel (2.2) dar. Für das geschätzte Modell bezüglich Androstenon folgt:

$$\eta(x) = 0,8715 + 0,004männlich + 0,001Alter - 0,152Raucher - \dots - 0,65Sonstige$$

Dass beispielsweise in der Kategorie „gender“ nur *männlich* als Kovariable aufgeführt wird, liegt an der Beschaffenheit des Modells. So verwendet **R** das fehlende Attribut gleicher Kategorie (in diesem Falle *weiblich*) als Referenzkategorie. Selbiges gilt für die Dummy-Variablen bezüglich der Herkunft, dem Schweinefleisch- und dem Trüffelkonsum. Die ursprünglichen fünf Herkunftskategorien (vgl. Abschnitt 1.3), wurden auf drei reduziert und es fehlt die Kategorie *<20.000 inhab.*, da diese als Referenz geführt wird und die verbleibenden zwei in Bezug zu ihr gesetzt werden. Das bedeutet, dass der Schätzwert unter der ceteris paribus-Bedingung (d.i.: alle anderen Kovariablen bleiben fix), für den Großstadtbewohner um -0,3189 geringer ist, als für den Dorfbewohner. Selbiges gilt für die anderen Koeffizienten mit jeweiligem Vorfaktor. Dieser Wert sagt allerdings noch nicht viel aus, da es sich bei den Schätzwerten um die logarithmierten Odds (Logits) handelt. Erst durch exponieren, erhält man die Veränderung der Chance:

```
> exp(-0.3189)
```

```
[1] 0.7269482
```

Das bedeutet, dass sich die Chance Androstenon zu erkennen um den Faktor 0,73 verändert und damit ceteris paribus mit etwa 27% fällt, wenn der Proband aus einer Großstadt stammte. Im Rahmen des Modells wurde diese Chance allerdings nicht als signifikant gekennzeichnet, da der p-Wert der Teststatistik mit 0,503 zu hoch ist.

Auf dieser Basis kann das Modell beispielsweise auch für Vorhersagen genutzt werden. Angenommen es soll die Vorhersage zur Fähigkeit der Androstenonwahrnehmung einer Frau gemacht werden, von der bekannt ist, dass sie Nichtraucherin und Vegetarierin ist, vom Dorf kommt und noch nie Trüffel gegessen hat. Weiterhin ist sie dem Genotyp der RT/RT-Gruppe zuzuordnen und 20 Jahre alt. Mit Blick in das Modell bedeutet das $\eta(x_1) = 0,891$, dies wiederum in Formel (2.3) eingesetzt ergibt ihre Wahrscheinlichkeit von:

$$\pi(x_1) = \frac{e^{0,891}}{1 + e^{0,891}} = 0,709 \approx 71\%$$

einen Erfolg zu erzielen. Eine weitere Probandin, auf die ebenfalls all diese Kriterien zutreffen, die indessen 70 Jahre alt ist, hätte vergleichsweise eine Wahrscheinlichkeit von $\pi(x_2) = 0,719 \approx 72\%$. Diese minimale Steigerung ist unter ceteris paribus Bedingung jedoch nicht signifikant, sodass ein Zusammenhang mit dem Alter in Bezug auf Androstenon erneut in dieser Studie nicht nachgewiesen werden kann. Lediglich der Schweinefleischkonsum weist einen geringen p-Wert auf. Von den drei Kategorien „low-“, „medium-“ und „heavy-user“, fallen die Chancen der Schweinefleischessenden gegenüber der Gruppe der Vegetarier und jenen, die selten Schweinefleisch konsumieren. Allerdings zeigen sich nur die Probanden signifikant, die in normalem Maße Schweinefleisch konsumieren. Es kann allerdings vermutet werden, dass die steigende Wahrnehmungswahrscheinlichkeit für die „low-user“, im Vergleich zu den regelmäßiger Schweinefleischessenden, ein ausschlaggebendes Kriterium ihres Vegetarismus sein könnte. Letztendlich ist eine solche Vorhersage für die hiesige Fragestellung aber nicht sehr ergiebig, sodass mit Bezug auf die p-Werte erneut festgestellt werden muss, dass selbst unter Betrachtung aller Einflussgrößen abermals nur der Genotyp RT/RT eine signifikante (wenn auch nur geringe) und ausschlaggebende Chancensteigerung verspricht.

2.3.2 Logit-Modell α -Androstenol

Call:

```
glm(formula = sensalphaan3 ~ d.gender + age + smoker + d.origin +  
     d.pork + d.truffle + AS, family = binomial(logit), data = Try)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.1331	-1.0471	0.6102	0.8881	1.8088

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.51503	0.68499	2.212	0.02698 *
d.gendermännlich	0.14224	0.37717	0.377	0.70608
age	-0.03111	0.01419	-2.193	0.02832 *
smoker	0.46969	0.42246	1.112	0.26623
d.origin>20.000	0.06812	0.40277	0.169	0.86570
d.origin>500.000	0.56641	0.54646	1.037	0.29996
d.porkmedium	1.01058	0.48973	2.064	0.03906 *
d.porkheavy	0.20390	0.42857	0.476	0.63424
d.trufflemedium	-1.22152	0.43636	-2.799	0.00512 **
d.truffleheavy	-1.19184	0.52199	-2.283	0.02242 *
ASSonstige	0.10478	0.39026	0.268	0.78832

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 215.40 on 163 degrees of freedom

Residual deviance: 192.04 on 153 degrees of freedom

AIC: 214.04

Number of Fisher Scoring iterations: 4

Die Interpretation des zweiten Modells für das Trüffelsteroid verläuft analog zum Androstenonmodell. Als erstes soll erneut überprüft werden, wie gut das Modell an die beobachteten Daten angepasst ist:

```
> 1-pchisq(215.40-192.04,163-153)
```

```
[1] 0.009492987
```

Dieses Modell erreicht eine Signifikanz selbst wenn das Signifikanzlevel bei 1% angesetzt wird. Das heißt, dieses Mal beschreiben die geschätzten Werte die beobachteten Daten recht gut. Auch gibt es mehr Signifikanzen bei den einzelnen Parametern. Dass die Konstante als signifikant angezeigt wird, bezieht sich auf die Erfolgswahrscheinlichkeit des Basismodells. Angenommen die Konstante inklusive Kovariablen wäre Null, hieße dies nach Formel 2.3 eine 50%ige Wahrscheinlichkeit Androstenol zu erkennen. Die Konstante allein gibt also eine Verschiebung der Odds und damit der Wahrscheinlichkeit an, die sich in diesem Falle positiv in Richtung des Erfolgs auswirkt. Interessant ist, dass das Alter an dieser Stelle einen signifikanten Einfluss auf die Wahrnehmung hatte. Der negative Schätzwert gibt, gemäß der vorherigen Modellbeschreibung, die Richtung des Zusammenhangs wieder, sodass mit steigendem Alter die Erfolgchancen α -Androstenol zu detektieren, signifikant fallen. Erneut lässt sich zwar kein essentieller Zusammenhang mit der Herkunft aufzeigen, jedoch die Korrelation zum Schweinefleischkonsum fällt wiederholt auf. Im Vergleich zu Vegetariern, steigen die Chancen laut Modell erheblich für einen Schweinefleischessenden, das Trüffelsteroid erfolgreich wahrzunehmen. Dem Trüffelkonsum kommt hingegen eine noch größere Bedeutsamkeit zu: Probanden, die selten bis nie Trüffel konsumieren, haben eine signifikant höhere Chance den Geruch zu erkennen. Es kann somit die Behauptung aufgestellt werden, dass die Fähigkeit zur Wahrnehmung des Steroids zu einem vergleichsweise deutlich verringerten Konsum führt. Die genotypische Ausstattung stellt entgegen erster Vermutungen jedoch kein ausschlaggebendes Kriterium dar.

3 Fazit

Mit 164 Teilnehmern deckt die Studie: „Odorant receptor OR7D4 and its effect on the 5α -androst-16-en-3 α -ol (androstenol) perception of truffle lovers“, nicht einmal 10% der Versuchsgruppe von Keller et al., (2007) ab, sodass trotz starkem Fokus auf die Ergebnisse jener Studie, diese nicht zur Genüge bewiesen zu haben keinen Grund zur Ablehnung darstellt. Viel eher kann die Studie als Bestätigung des Nature-papers angesehen werden, welche jedoch in ihrem Versuch, die Reihe steroidartiger Verbindungen die zur Aktivierung des OR7D4 führen um α -Androstenol zu erweitern, als gescheitert betrachtet werden muss. Trotz sehr enger Verwandtschaft beider Geruchsstoffe, muss die Beteiligung des OR7D4 in Bezug auf den AS-SNP und der Wahrnehmung des Trüffelsteroids, bei den vorliegenden Daten ausgeschlossen werden. Eine Beteiligung an der Perzeption von Androstenon konnte hingegen erneut belegt werden. Weitere Einflussfaktoren, wie die des Alters, des Geschlechts, des Tabakkonsums und auch der Herkunft, waren indessen weder im bivariaten noch im multivariaten Vergleich hinreichend auffällig.

Mit Bezug auf das Prädiktorenmodell für α -Androstenol, scheint die vorliegenden Arbeit mit ihren Ergebnissen eher für den Trüffelmarkt interessant zu sein und weniger für die Problematik der Eberkastration, doch folgt man den Hypothesen, ist *kein* aussagekräftiges Resultat an dieser Stelle, eine gute Erscheinung. So könnte es beispielsweise bedeuten, dass die Ängste der Schweinefleischindustrie unbegründet sind, dass viel weniger Leute den „Ebergeruch“ überhaupt wahrnehmen können als anfänglich gemutmaßt und dass die Ebermast in Europa eine Zukunft hat.

4 Anhang

Der **R**-Quellcode auf CD.

Abbildungsverzeichnis

1.1	Perzeptionsschema	4
1.2	SNP's des OR7D4	6
1.3	chem. Gegenüberstellung	7
2.1	Netzdiagramm ¹	15
2.2	Starke Verdünnung	16
2.3	Schwache Verdünnung	16
2.4	Vierfeldertafeln der schwachen Konzentration	18
2.5	Vierfeldertafeln der hohen Konzentration	18
2.6	Androstenon6	20
2.7	α -Androstenol3	20
2.8	Boxplot Androstenon6	21
2.9	Boxplot α -Androstenol3	21

Tabellenverzeichnis

1.1	Chemischer Vergleich	8
1.2	Testteilnehmer	12
1.3	Geruchstest	13
2.1	Genotypen Übersicht	14
2.2	Mittelwerte AS	19

Literaturverzeichnis

- K. M. Bekaert, F. A. M. Tuytens, L. Duchateau, H. F. De Brabander, M. Aluwé, S. Millet, F. Vandendriessche, und L. Vanhaecke. The sensitivity of Flemish citizens to androstenone: Influence of gender, age, location and smoking habits. *Meat Science*, 88(3):548–552, 2011. ISSN 03091740. doi: 10.1016/j.meatsci.2011.02.010.
- D. Benton. The influence of androstenol - a putative human pheromone - on mood throughout the menstrual cycle. *Biological Psychology*, 15(3-4):249–256, 1982. ISSN 03010511. doi: 10.1016/0301-0511(82)90047-3.
- E. A. Bremner, J. D. Mainland, R. M. Khan, und N. Sobel. The prevalence of androstenone anosmia. *Chemical Senses*, 28(5):423–432, 2003. ISSN 0379864X. doi: 10.1093/chemse/28.5.423.
- R. Claus, H. O. Hoppen, und H. Karg. The secret of truffles: A steroidal pheromone? *Experientia*, 37(11):1178–1179, 1981. ISSN 00144754. doi: 10.1007/BF01989905.
- R. L. Doty, P. Shaman, S. L. Applebaum, R. Giberson, L. Siksorski, und L. Rosenberg. Smell identification ability: changes with age. *Science (New York, N.Y.)*, 226(4681):1441–1443, 1984. ISSN 0036-8075. doi: 10.1126/science.6505700.
- S. Firestein. How the olfactory system makes sense of scents. *Nature*, 413(6852):211–218, 2001. ISSN 0028-0836. doi: 10.1038/35093026.
- D. Flach. *Marcus Terentius Varro: Über die Landwirtschaft*. Wissenschaftliche Buchgesellschaft, Darmstadt, 2006.
- Y. Gilad und D. Lancet. Population differences in the human functional olfactory repertoire. *Molecular Biology and Evolution*, 20(3):307–314, 2003. ISSN 07374038. doi: 10.1093/molbev/msg013.
- G. Glusman, A. Bahar, D. Sharon, Y. Pilpel, J. White, und D. Lancet. The olfactory receptor gene superfamily: data mining, classification, and nomenclature. *Mammalian Genome*, 11(11):1016–1023, 2000. ISSN 0938-8990. doi: 10.1007/s003350010196.
- N. M. Griffiths und R. L. Patterson. Human olfactory responses to 5-alpha-androst-16-en-3-one—principal component of boar taint. *Journal of the science of food and agriculture*, 21(1):4–6, 1970. ISSN 0022-5142. doi: 10.1002/jsfa.2740210102.

- R. Hatzinger, K. Hornik, H. Nagel, und M. J. Maier. *R - Einführung durch angewandte Statistik*. Pearson, Hallbergmoos, 2. Ausgabe, 2014. ISBN 978-3-86894-250-7.
- J. Hedderich und L. Sachs. *Angewandte Statistik*. Springer, New York, 14. Ausgabe, 2011. ISBN 3642244009.
- A. Keller, H. Zhuang, Q. Chi, L. B. Vosshall, und H. Matsunami. Genetic variation in a human odorant receptor alters odour perception. *Nature*, 449(7161):468–472, 2007. ISSN 0028-0836. doi: 10.1038/nature06162.
- A. Keller, M. Hempstead, I. A. Gomez, A. N. Gilbert, und L. B. Vosshall. An olfactory demography of a diverse metropolitan population. *BMC Neuroscience*, 13(1):122, 2012. ISSN 1471-2202. doi: 10.1186/1471-2202-13-122. URL [BMC Neuroscience](http://www.biomedcentral.com/1471-2202-13-122).
- A. Knaapila, H. Tuorila, K. Silventoinen, M. J. Wright, K. O. Kyvik, L. F. Cherkas, K. Keskitalo, J. Hansen, N. G. Martin, T. D. Spector, J. Kaprio, und M. Perola. Genetic and Environmental Contributions to Perceived Intensity and Pleasantness of Androstenone Odor: An International Twin Study. *Chemosensory Perception*, 1(1):34–42, 2008. ISSN 1936-5802. doi: 10.1007/s12078-007-9005-x.
- J. Lemon. Plotrix: a package in the red light district of R. *R-News*, 6:8–12, 2006.
- K. Loeffler und G. Gäbel. *Anatomie und Physiologie der Haustiere*. UTB, Stuttgart, 12. Ausgabe, 2009. ISBN 978-3-8252-0013-8.
- D. Meyer, A. Zeileis, und K. Hornik. The Strucplot Framework: Visualizing Multi-Way Contingency Tables with vcd. *Journal of Statistical Software*, 17(3):1 – 48, 2006. URL <http://www.jstatsoft.org/v17/i03/>.
- D. Mörlein, L. Meier-Dinkel, J. Moritz, A. R. Sharifi, und C. Knorr. Learning to smell: Repeated exposure increases sensitivity to androstenone, a major component of boar taint. *Meat Science*, 94(4):425–431, 2013. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.03.020.
- C. E. Mortimer und U. Müller. *Chemie*. Thieme, 7. Ausgabe, 2001. ISBN 978-3134843071.
- J. A. Nelder und R. W. M. Wedderburn. Generalized Linear Models. *Journal of the Royal Statistical Society*, 135(3):370–384, 1972. doi: 10.2307/2344614.
- L. Oboti, P. Peretto, S. de Marchis, und A. Fasolo. From chemical neuroanatomy to an understanding of the olfactory system. *European Journal of Histochemistry*, 55(4):194–199, 2011. ISSN 1121760X. doi: 10.4081/ejh.2011.e35.
- G. Ohloff. *Riechstoffe und Geruchssinn: Die molekulare Welt der Düfte*. Springer, Berlin, 1990. ISBN 978-3-540-52560-8.

- G. Ohloff, B. Maurer, B. Winter, und W. Giersch. Structural and Configurational Dependence of the Sensory Process in Steroids. *Helvetica Chimica Acta*, 66(20):192–217, 1983. ISSN 0018019X.
- T. Olender und D. Lancet. Evolutionary grass roots for odor recognition. *Chemical Senses*, 37(7):581–584, 2012. ISSN 0379864X. doi: 10.1093/chemse/bjs054.
- B. Pause. Are androgen steroids acting as pheromones in humans? *Physiology & Behavior*, 83(1):21–29, 2004. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.07.019.
- R. R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing, 2011. ISSN 16000706. URL <http://www.r-project.org>.
- H. Razafindrazaka, A. Monnereau, und D. Razafindrazaka. Genetic Admixture and Flavor Preferences : Androstenone Sensitivity in Malagasy Populations. *Human Biology*, 87(1), 2015.
- K. J. Renfro und H. Hoffmann. The relationship between oral contraceptive use and sensitivity to olfactory stimuli. *Hormones and Behavior*, 63(3): 491–496, 2013. ISSN 0018506X. doi: 10.1016/j.yhbeh.2013.01.001. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2013.01.001>.
- R. Splivallo, S. Ottonello, A. Mello, und P. Karlovsky. Truffle volatiles: From chemical ecology to aroma biosynthesis. *New Phytologist*, 189(3):688–699, 2011. ISSN 0028646X. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03523.x.
- U. Weiler, K. Fischer, H. Kemmer, A. Dobrowolski, und R. Claus. Influence of androstenone sensitivity on consumer reactions to boar meat. *Meat Science*, pages 147–151, 1997.
- H. Wickham. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer New York, 2009. ISBN 978-0-387-98140-6. URL <http://had.co.nz/ggplot2/book>.
- A. Willam und H. Simianer. *Tierzucht*. UTB, Stuttgart, 1. Ausgabe, 2011. ISBN 978-3-8252-3526-0.
- C. J. Wysocki, K. M. Dorries, und G. K. Beauchamp. Ability to perceive androstenone can be acquired by ostensibly anosmic people. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(20):7976–7978, 1989.

Verzeichnis der Webadressen

- [DS] Der Spiegel. <http://www.spiegel.de/spiegel/print/d-78413787.html> Eingesehen am 12.08.2015
- [GT] Göttinger Tageblatt. <http://www.goettinger-tageblatt.de/Nachrichten/Wissen/Wissen-vor-Ort/Schmeckt-Eber-Fleisch-anders> Eingesehen am 22.07.2015
- [BR] Die Bundesregierung. <http://www.bundesregierung.de/ContentArchiv/DE/Archiv17/Artikel/2012/05/2012-05-23-novelle-tierschutzgesetz.html> Eingesehen am 10.09.2015
- [NFE] Der Newsletter der Niederländischen Ferkel-Experteure. <http://bnve.nl/wordpress/wp-content/uploads/2013/01/bignews-2-2012.pdf> Eingesehen am 13.09.2015
- [GC] Guidechem www.guidechem.com Produktsuche: androstenone, androstenol Eingesehen am 25.07.2015
- [IC] ICD-10 www.icd-code.de Codesuche: R43 Eingesehen am 19.08.2015
- [CL] Chemielexikon www.chemie.de/lexikon/Carvon.html Eingesehen am 22.08.2015
- [JH] Jeff Hamrick www.youtube.com/watch?v=xl5dZo_BSJk Eingesehen am 16.09.2015

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken entnommene Stellen habe ich unter Angabe der Quellen kenntlich gemacht. Die Richtlinien zur Sicherung der guten wissenschaftlichen Praxis an der Universität Göttingen wurden von mir beachtet.

Datum:

Unterschrift: