

## 6 SUMMARY

In the present paper, the influence of the natural antioxidant  $\alpha$ -tocopherol in feedstuff on the quality of meat (pork and beef) and Salami was evaluated. Dietary  $\alpha$ -tocopherol supplementation increases the concentration of  $\alpha$ -tocopherol in tissues by “natural” incorporation into the membranes, where it performs its physiological role of protecting membranal lipids and myoglobin from oxidation. As a counterpart to numerous trials, which have been performed under US American conditions, the present studies should instead apply European feeding strategies and should additionally cover alternative sources of feed as well as meat products.

The aims of the different feeding trials were

- (i) to measure the extent of incorporation of  $\alpha$ -tocopherol from the feed into different tissues, depending on the feed itself, concentration in the feed, as well as duration of feeding,
- (ii) to detect modifications of fatty acid composition, influenced by either the feed itself or the concentrations of  $\alpha$ -tocopherol in the tissues or other antioxidants present, and
- (iii) to study, if the problem of oxidation processes during storage is diminished by the inclusion of  $\alpha$ -tocopherol into the tissues.

**Pork Experiments.** The influence of common feeding techniques (intensive and extensive) as well as contemporary diets (containing lecithin or glycerol; the latter is a waste product from bio-diesel production) on  $\alpha$ -tocopherol content was studied for pigs slaughtered at live weights between 100 and 160 kg. For all diets, the basic content was ca. 30 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg dry matter. Within each feeding group the concentration of  $\alpha$ -tocopherol increased with duration, so that the heaviest animals contained the highest levels. There was no difference between intensive and extensive feeding (ca. 2.0-3.0 mg/kg, depending on duration), but there were variations due to addition of lecithin or glycerol. Surprisingly,  $\alpha$ -tocopherol values were highest for glycerol (3.2 mg/kg for pigs of 160 kg live weight), and rapeseed oil. The next highest levels were obtained from feeding rapeseed lecithin, but the lowest values (2.2 mg/kg) were obtained from soya lecithin. This might be due to higher contents of polyunsaturated fatty acids in soya lecithin, which oxidise more readily and  $\alpha$ -tocopherol content decreases when reacting with oxidative species. Other reasons might be that soya contains rather  $\gamma$ - and  $\delta$ - than  $\alpha$ -tocopherol or that the basic concentrations were actually higher than determined.

**Beef Experiments.** Bulls were fed either no supplemental  $\alpha$ -tocopherol or in a two-factorial supplementation design (quantity x duration). Fatty acid patterns were not significantly affected by  $\alpha$ -tocopherol supplementation, and tissue concentrations of  $\alpha$ -tocopherol depended more on the daily dose than the duration of supplementation. Concentrations of  $\alpha$ -tocopherol in serum and liver reflected the immediate nutritional status of the animal, whereas the  $\alpha$ -tocopherol concentrations in adipose and skeletal muscle tissues reflected its long-term nutritional history.  $\alpha$ -Tocopherol uptake reached a certain plateau in all tissues, except for liver and adipose tissue. But even the maximum levels in *longissimus* muscle were below the proposed value of 3.0-4.0 mg/kg of fresh muscle as the ideal concentration for prevention of lipid oxidation. Nevertheless, meat from these animals did show enhanced colour stability and resistance to rancidity. Cattle cannot synthesise  $\alpha$ -tocopherol and normally obtain it by consuming pasture, whereas grains are relatively poor sources of  $\alpha$ -tocopherol, so another study was designed to follow the effect of duration of supplementation with pasture and compare it with silage. In this study, steers were used and  $\alpha$ -tocopherol contents were significantly higher the longer the grazing period. In this experiment fatty acid patterns did vary in dependence on feeding, even in the phospholipid fraction that is proposed to be very stable because of its biological role. This was mainly detected in the polyunsaturated fatty acid contents.  $\alpha$ -Tocopherol in itself could not be the reason for these effects, so it was concluded, that a synergistic effect with other components in pasture must have been the cause.

**Salami Experiments.** Salami was used as a minced meat product to study changes during storage. Meat and backfat from pigs supplemented with different amounts of  $\alpha$ -tocopherol were mixed with beef and the necessary ingredients (curing salt premix, sugar, ascorbate, smoke). Two different starter cultures were applied, but no difference arose from that. Feed supplementation led to higher  $\alpha$ -tocopherol contents, and fatty acid composition in the phospholipid fraction was more stable. The influence of  $\alpha$ -tocopherol was also detectable in lower hexanal contents. In a second study, two commercial rosemary extracts were also blended into the Salami mixture.  $\alpha$ -Tocopherol concentrations were again correlated with supplementation and with one of the rosemary extracts, but storage stability and changes in fatty acids were not associated. Dietary supplementation of  $\alpha$ -tocopherol seemed to be more efficient than *post mortem* addition of rosemary extract. The results from this study though were very contradictory, which was attributed to the experimental cuts of backfat being stored for too long before usage.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluß des natürlichen Antioxidans  $\alpha$ -Tocopherol im Futter auf die Qualität von Schweine- und Rindfleisch sowie Salami beschrieben.  $\alpha$ -Tocopherolzusatz in der Nahrung erhöht bekanntermaßen die Konzentration im Gewebe, wo es seine physiologische Wirkung entfaltet und Membranlipide und Myoglobin vor Oxidation schützt. Als Gegenstück zu zahlreichen Experimenten, die hauptsächlich unter US-Amerikanischen Fütterungsbedingungen durchgeführt wurden, sollten für die vorliegende Studie Europäische Fütterungsstrategien angewandt und zusätzlich alternative Futterquellen und Fleischprodukte berücksichtigt werden. Die Ziele der verschiedenen Fütterungsversuche waren

- (i) das Ausmaß der Einlagerung von  $\alpha$ -Tocopherol aus dem Futter in die unterschiedlichen Gewebe, in Abhängigkeit des Futters, der Konzentration im Futter, sowie der Fütterungsdauer zu messen,
- (ii) Veränderungen des Fettsäuremusters unter dem Einfluß des Futters selbst oder der Gehalte an  $\alpha$ -Tocopherol und anderen Antioxidantien festzustellen, sowie
- (iii) zu untersuchen, ob das Problem der Oxidationsprozesse während der Lagerung durch die Einlagerung von  $\alpha$ -Tocopherol in die Gewebe verringert wird.

**Schweinefleisch Experimente.** Untersucht wurden die Einflüsse normaler (intensiv und extensiv) und zeitgemäßer Fütterungstechniken (mit Lecithin oder Glycerin; letzteres als Abfallprodukt der Biodiesel-Produktion) auf den  $\alpha$ -Tocopherol Gehalt von Schweinen, geschlachtet bei Lebendgewichten von 100-160 kg. Alle Futter enthielten ca. 30 mg  $\alpha$ -Tocopherol pro kg Trockenmasse. Innerhalb der Fütterungsgruppen stieg die  $\alpha$ -Tocopherol Konzentration bei längerer Fütterung an, so daß die schwersten Tiere die höchsten Gehalte aufwiesen. Zwischen intensiver und extensiver Fütterung konnten keine Unterschiede festgestellt werden (ca. 2.0-3.0 mg/kg, abhängig von der Fütterungsdauer), aber der Zusatz von Lecithin oder Glycerin bewirkte eine Veränderung. Erstaunlicherweise waren die Werte für Glycerin am höchsten (3.2 mg/kg für Schweine mit 160 kg Lebendgewicht), gefolgt von Rapsöl und Rapslecithin. Die niedrigsten Gehalte (2.2 mg/kg) wurden für Fütterung mit Sojalecithin ermittelt, evtl. aufgrund höherer Gehalte an polyungesättigten Fettsäuren, welche leicht oxidieren und damit indirekt den  $\alpha$ -Tocopherolgehalt verringern. Zudem enthält Sojaöl hauptsächlich  $\gamma$ - und  $\delta$ - statt  $\alpha$ -Tocopherol bzw. die Grundgehalte im Futter könnten höher gewesen sein als bestimmt wurde.

**Rindfleisch Experimente.** Bullen wurden entweder ohne  $\alpha$ -Tocopherolzusatz oder mittels zweifaktorieller Supplementierung (Menge x Dauer) aufgezogen. Fettsäuremuster wurden nicht signifikant beeinflusst. Jedoch hatte  $\alpha$ -Tocopherol einen starken Einfluß auf die entsprechenden Gewebekonzentrationen; die tägliche Dosis stärker als die Dauer. Die Konzentrationen in Serum und Leber reflektieren dabei den momentanen Ernährungszustand des Tieres, während Fett- und Muskelgewebe die langfristige Versorgung widerspiegeln. Die  $\alpha$ -Tocopherolaufnahme erreichte ein bestimmtes Plateau in allen Geweben außer Leber und Fettgewebe. Aber sogar die maximalen Gehalte im *longissimus* Muskel waren unterhalb der vorgeschlagenen 3.0-4.0 mg/kg als idealer Konzentration zur Vermeidung der Lipidoxidation. Trotzdem wies Fleisch dieser Versuchstiere erhöhte Farbstabilität und geringere Neigung zur Fettranzigkeit auf. Rinder können  $\alpha$ -Tocopherol nicht synthetisieren und nehmen es normalerweise durch Grünfutter auf, wohingegen Getreide eine relativ schlechte Quelle ist. In einem dritten Versuch wurde daher bei Ochsen der Einfluß der Dauer von Weide- mit Silagefütterung verglichen.  $\alpha$ -Tocopherolgehalte waren signifikant höher mit Dauer der Weidefütterung. In dieser Studie veränderten sich auch die Fettsäuremuster in Abhängigkeit der Fütterung, sogar in der Phospholipidfraktion, die aufgrund ihrer biologischen Rolle besonders stabil sein soll. Unterschiede wurden hauptsächlich in den Gehalten polyungesättigter Fettsäuren festgestellt. Da  $\alpha$ -Tocopherol nicht der alleinige Grund für diese Einflüsse sein kann, wurde gefolgert, daß ein synergistischer Effekt mit anderen Grünfutters-Komponenten vorliegt.

**Salami Experimente.** Untersucht wurden Veränderungen während der Lagerung im Fleischprodukt Salami. Fleisch und Speck von Schweinen, die verschiedene Mengen  $\alpha$ -Tocopherolzusatz bekommen hatten, wurden mit Rindfleisch und den notwendigsten Zutaten zur Salamiherstellung (Pökelsalz, Zucker, Ascorbat, Rauch) gemischt. Zwei verschiedene Starterkulturen wurden eingesetzt, die zu keinen Unterschieden führten, während der  $\alpha$ -Tocopherolzusatz einen höheren Gehalt in der Salami und ein stabileres Fettsäuremuster in der Phospholipidfraktion bewirkte. Auch aus den niedrigeren Hexanalgehalten konnte ein Einfluß des  $\alpha$ -Tocopherolzusatzes abgeleitet werden. Im zweiten Versuch wurden zwei kommerzielle Rosmarinextrakte der Salamimischung zugesetzt. Die  $\alpha$ -Tocopherolkonzentrationen korrelierten mit dem Futterzusatz und mit einem der Rosmarinextrakte, jedoch nicht mit Lagerstabilität und Veränderungen der Fettsäuremuster. Ein Futterzusatz von  $\alpha$ -Tocopherol scheint folglich effektiver zu sein als *post mortem* Zusatz von Rosmarinextrakt. Die Ergebnisse dieses Versuches waren jedoch sehr widersprüchlich, welches den Speckabschnitten zugeschrieben wurde, die bereits zu lange gelagert waren.