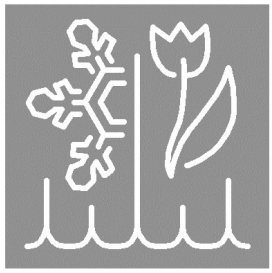
α-Tocopherol, β-Carotin und L-Ascorbinsäure in der Rindermast

---

Einfluss auf Qualitätsparameter

Dissertation



zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg

aus dem
Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie
- Abteilung Lebensmittelchemie -
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Sven Linden
aus Hamburg

Hamburg 2003

Der praktische Teil der vorliegenden Arbeit wurde in der Zeit von April 1999 bis Februar 2002 unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. Hans Steinhart am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Abteilung Lebensmittelchemie, an der Universität Hamburg angefertigt.

1. Gutachter: Professor Dr. Dr. Hans Steinhart
2. Gutachter: Professor Dr. Bernward Bisping

Tag der mündlichen Prüfung: 16. April 2003

Danksagung

Für die vielseitige Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit möchte ich mich bedanken.

Insbesondere gilt mein Dank:

Herrn Prof. Dr. Dr. Hans Steinhart für die Überlassung der interessanten Themenstellung sowie für die Betreuung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Bernward Bisping für die Übernahme des Koreferates.

Herrn Prof. Dr. Frieder J. Schwarz und seinen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für die Durchführung der Tierfütterungsversuche und die freundliche Zusammenarbeit.

Herrn Prof. Dr. Christoph Augustini und seinen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für die Probenbereitstellung.

Herrn Dr. Thomas J. Simat für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse und seine Diskussionbereitschaft.

Sylvia Neumann, Vivian Rebbin, Fernando Campos-Ziegenbein und Shirin Keyhanian für die tatkräftige methodische Unterstützung.

Meinen Eltern für die finanzielle und sonstige Unterstützung sowie die Hilfe beim Korrekturlesen dieser Arbeit.

Meinem Bruder für den technischen Beistand und den telefonischen Support bei Hard- und Softwareproblemen.

Meiner Freundin, die mich während der praktischen Arbeiten und der Anfertigung dieser Arbeit stets unterstützt hat.

Allen Kolleginnen und Kollegen der Abteilung Lebensmittelchemie für die nette Zusammenarbeit.

Publikationen

LINDEN, S., STEINHART, H. (2001): Entwicklung einer Methode zur Bestimmung natürlicher Antioxidantien in Rindergeweben, *Lebensmittelchemie* 55, 19

LINDEN, S., STEINHART, H. (2001): Fütterungseinflüsse in der Rindermast - Auswirkungen von supplementierten Antioxidantien auf ausgewählte Parameter in unterschiedlichen Geweben, *Lebensmittelchemie* 55, 92-93

LINDEN, S., STEINHART, H. (2001): Supplementierung antioxidativer Substanzen in der Rindermast, In: SCHUBERT, R. (Hrsg.): Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier, *8. Symposium 26. und 27. September 2001 Jena/ Thüringen*, 223-230

LINDEN, S., REBBIN, V., STEINHART, H. (2002): Authentifizierung von Öko-Rindfleisch, *Lebensmittelchemie* 56, 8

LINDEN, S., SCHWARZ, F. J., AUGUSTINI, C., STEINHART, H.: Influence of antioxidative supplements to different types of silage on tissue antioxidants and fatty acid profiles of young Simmental bulls, *in Vorbereitung*

LINDEN, S., SCHWARZ, F. J., AUGUSTINI, C., STEINHART, H.: Antioxidants and fatty acid patterns in Simmental heifers' tissues fed with pasture or maize-silage supplemented with α-tocopherol, *in Vorbereitung*

LINDEN, S., REBBIN, V., STEINHART, H.: Distribution of α-tocopherol stereoisomers in muscle of Simmental bulls and heifers supplemented with synthetic α-tocopheryl-acetate, *in Vorbereitung*

Poster

LINDEN, S., NEUMANN, S., STEINHART, H.: Bestimmung natürlicher Antioxidantien in Rindergeweben, *Deutscher Lebensmittelchemiker-Tag in Stuttgart-Hohenheim*, 11.09.2000 - 13.09.2000

LINDEN, S., REBBIN, V., STEINHART, H.: Authentifizierung von Rindfleisch, *Deutscher Lebensmittelchemiker-Tag in Braunschweig*, 10.09.2001 - 12.09.2001

SCHWARZ, F. J., LINDEN, S., AUGUSTINI, C., STEINHART, H.: Auswirkungen von supplementierten Antioxidantien auf Vitamin E- und β-Carotingehalte in unterschiedlichen Geweben und auf die Fleischfarbe von Mastrindern bei verschiedenen Grundfuttern, *56. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie in Göttingen*, 06.03.2002 - 08.03.2002

LINDEN, S., SCHWARZ, F. J., STEINHART, H.: Einfluß supplementierter Antioxidantien auf die Rindfleisch-Qualität, *Symposium „Lebensmittel - Mittel zum Leben!" in Münster*, 08.04.2002 - 10.04.2002

Vorträge

LINDEN, S., STEINHART, H.: Fütterungseinflüsse in der Rindermast - Auswirkungen von supplementierten Antioxidantien auf ausgewählte Parameter in unterschiedlichen Geweben, *Gemeinsame Arbeitstagung der Regionalverbände Nord und Nordost der Lebensmittelchemischen Gesellschaft in Hannover*, 23.03.2001

LINDEN, S., STEINHART, H.: Effects of supplemented antioxidants on beef quality, *24th World Congress and Exhibition of the International Society for Fat Research (ISF) in Berlin*, 18.09.2001

LINDEN, S., STEINHART, H.: Supplementierung antioxidativer Substanzen in der Rindermast, *8. Vitamin-Symposium in Jena*, 27.09.2001

Abkürzungsverzeichnis

ABAP	2,2'-Azo-bis-(2-amidinopropan)
abs.	absolut
ABTS	2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)
ACN	Acetonitril
BHA	Butylhydroxyanisol, *tert.*-Butyl-4-hydroxyanisol
BHT	Butylhydroxytoluol, 2,6-Di-*tert.*-butyl-*p*-kresol
BSTFA	Bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamid
c	cis
CE	Cholesterolester
CLA	conjugated linoleic acid, konjugierte Linolsäure
DAD	Diodenarray-Detektor
DCM	Dichlormethan
DNA	deoxyribonucleic acid, Desoxyribonucleinsäure
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DETBA	1,3-Diethyl-2-thiobarbitursäure
ELSD	evaporative light scattering detector, Lichtstreudetektor
entm.	entmineralisiert
ESR	Elektronenspinresonanz
EtOH	Ethanol
FA	fatty acids, Fettsäuren
FAME	fatty acid methyl ester, Fettsäuremethylester
FD	Fluoreszenzdetektor, Fluoreszenzdetektion
FID	Flammenionisationsdetektor
FRAP	ferric reducing antioxidant power
GC	Gaschromatographie
GS	Grassilage
GS Asc.	Grassilage mit L-Ascorbinsäure-Supplementierung
GS C	Grassilage mit β-Carotin-Supplementierung
GS K	Grassilage Kontrolle (ohne Supplementierung)
GS T	Grassilage mit α-Tocopherylacetat-Supplementierung
HDL	high density lipoproteins, Lipoproteine hoher Dichte
HPLC	high performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigchromatographie
HPTLC	high performance thin layer chromatography, Hochleistungsdünnschichtchromatographie
ID	Innendurchmesser
IE	internationale Einheit(en)
IS	Interner Standard
KOH	Kaliumhydroxid
LDL	low density lipoproteins, Lipoproteine geringer Dichte
Lsg.	Lösung
MAK	maximale Arbeitsplatz Konzentration

MDA	Malondialdehyd
MeOH	Methanol
min	Minute(n)
MLD	*musculus longissimus dorsi*
MS	Maissilage
MS Asc.	Maissilage mit L-Ascorbinsäure-Supplementierung
MS C	Maissilage mit β-Carotin-Supplementierung
MS K	Maissilage Kontrolle (ohne Supplementierung)
MS T	Maissilage mit α-Tocopherylacetat-Supplementierung
MSD	massenselektiver Detektor, massenselektive Detektion
MST	*musculus semitendinosus*
MUFA	monounsaturated fatty acids, einfach ungesättigte Fettsäuren
MW	Mittelwert
n	Anzahl
n. b.	nicht bestimmbar
n. n.	nicht nachweisbar
NP	Normalphase
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PI	Phosphatidylinositol
PL	Phospholipide
PS	Phosphatidylserin
PUFA	polyunsaturated fatty acids, mehrfach ungesättigte Fettsäuren
r	Korrelationskoeffizient
RP	reversed phase, Umkehrphase
ROS	reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies
SFA	saturated fatty acids, gesättigte Fettsäuren
SPE	solid phase extraction, Festphasenextraktion
Stabw.	Standardabweichung
t	trans
Tab.	Tabelle
TBA	thiobarbituric acid, 2-Thiobarbitursäure
TBARS	thiobarbituric acid reactive substances, Thiobarbitursäure reaktive Substanzen
TBP	Tocopherol-bindendes Protein
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity
TG	Triglyceride
THF	Tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography, Dünnschichtchromatographie
U	Umdrehungen
UV	ultraviolett
VIS	visibel
VLDL	very low density lipoproteins, Lipoproteine sehr geringer Dichte

Inhaltsverzeichnis

I ALLGEMEINER TEIL

1 Einleitung 1

2 Grundlagen und Arbeitsplan 3

2.1 Fleischqualität 3

2.2 Lipide des Gewebes und des Blutplasma 4

2.2.1 Lipidoxidation 7

2.2.2 Gesundheitliche Aspekte 10

2.3 Antioxidantien 12

2.3.1 Tocopherol 14

2.3.2 Carotin 19

2.3.3 L-Ascorbinsäure 21

2.3.4 Enzymsysteme 22

2.3.5 Gesundheitliche Aspekte 23

2.4 Arbeitsplan 28

II MATERIAL UND METHODEN

3 Untersuchungsmaterial 30

3.1 Deutsches Fleckvieh 30

3.2 Fütterungsversuche 31

3.3 Schlachtung 31

3.4 Proben 31

4 Methoden 32

4.1 Bestimmung der Antioxidantien 32

4.2 Bestimmung der Fettsäuremuster 33

4.3 Bestimmung der antioxidativen Kapazität 35

4.4 Bestimmung von MDA 36

4.5 Bestimmung der Stereoisomere des α-Tocopherols 37

III ERGEBNISTEIL

5 Ergebnisse und Diskussion der Methodenentwicklungen 38
5.1 Bestimmung der Antioxidantien 38
5.1.1 Auswahl der Bestimmungsmethode 38
5.1.2 Extraktion der Antioxidantien 40
5.2 Bestimmung der Fettsäuremuster 43
5.2.1 Extraktion der Lipide 43
5.2.2 Fraktionierung der Lipide mittels SPE 45
5.2.3 Fraktionierung der Lipide mittels HPLC-ELSD 47
5.2.4 Derivatisierung und Bestimmung der Fettsäuren 49
5.3 Bestimmung der antioxidativen Kapazität 51
5.3.1 Auswahl des geeigneten Testsystems 51
5.3.2 Herstellung der Muskelextrakte 53
5.4 Bestimmung von MDA 54
5.4.1 Auswahl der Bestimmungsmethode 55
5.4.2 Herstellung der Extrakte 57
5.5 Bestimmung der Stereoisomere des α-Tocopherols 58
6 Fütterungsversuche 64
6.1 Fütterungsversuch I (Färsen) 64
6.2 Ergebnisse 65
6.2.1 Gehalte an Antioxidantien und Retinol 65
6.2.2 Fettsäurespektren 67
6.2.3 antioxidative Kapazität 78
6.2.4 MDA-Gehalte 79
6.3 Fütterungsversuch II (Jungbullen) 80
6.4 Ergebnisse 81
6.4.1 Gehalte an Antioxidantien und Retinol 81
6.4.2 Fettsäurespektren 83
6.4.3 antioxidative Kapazität 92
6.4.4 MDA-Gehalte 93
6.5 Diskussion 94
6.5.1 α-Tocopherol-Gehalte 94
6.5.2 β-Carotin- und Retinol-Gehalte 107
6.5.3 Fettsäurespektren 109
6.5.4 antioxidative Kapazität 133
6.5.5 MDA-Gehalte 137

7 Verteilung der Stereoisomere des α-Tocopherols 148
7.1 Ergebnisse 148
7.2 Diskussion 150
8 Lagerungsversuch 157
8.1 Ergebnisse 157
8.2 Diskussion 159
9 Zusammenfassung - Summary 166
10 Literaturverzeichnis 172

IV Anhang

A 1 Standardsubstanzen, Chemikalien und Verbrauchsmittel 192
A 2 Arbeitsvorschriften, Messbedingungen und Geräte 200
A 2.1 Bestimmung von α-Tocopherol, β-Carotin und Retinol 200
A 2.1.1 Extraktion 200
A 2.1.1.1 Leber- und Muskelgewebe, Nierenfett 200
A 2.1.1.2 Plasma 200
A 2.1.2 Messbedingungen 201
A 2.1.2.1 Geräte 201
A 2.1.2.2 Chromatographiebedingungen 201
A 2.2 Bestimmung des Fettsäuremusters 202
A 2.2.1 Extraktion 202
A 2.2.1.1 Leber- und Muskelgewebe 202
A 2.2.1.2 Nierenfett 202
A 2.2.1.3 Plasma 202
A 2.2.2 Lipidfraktionierung mittels SPE 203
A 2.2.3 Lipidfraktionierung mittels semipräparativer HPLC 203
A 2.2.3.1 Messbedingungen 203
A 2.2.3.1.1 Geräte 203
A 2.2.3.1.2 Chromatographiebedingungen 204
A 2.2.4 Derivatisierung 204
A 2.2.4.1 Umesterung des Nierenfettes 204
A 2.2.4.2 Umesterung der CE und TG des Plasmas 205
A 2.2.4.3 Umesterung der PL 205
A 2.2.4.4 Umesterung der HPLC-Fraktionen 205
A 2.2.5 Messbedingungen 206
A 2.2.5.1 Geräte 206
A 2.2.5.2 Chromatographiebedingungen 206

A 2.3 Bestimmung von Malondialdehyd 206
A 2.3.1 Extraktion 206
A 2.3.1.1 Muskelgewebe 206
A 2.3.1.2 Plasma 207
A 2.3.2 Derivatisierung 207
A 2.3.3 Messbedingungen 208
A 2.3.3.1 Geräte 208
A 2.3.3.2 Chromatographiebedingungen 208
A 2.4 Bestimmung der antioxidativen Kapazität 208
A 2.4.1 Extraktion 208
A 2.4.1.1 Muskelgewebe 208
A 2.4.1.2 Plasma 209
A 2.4.2 Messbedingungen 209
A 2.4.2.1 Gerät 209
A 2.4.2.2 Photometriebedingungen 209
A 2.5 Bestimmung der 2*R*-Stereoisomere des α-Tocopherols 210
A 2.5.1 Isolierung des α-Tocopherols 210
A 2.5.2 Reinigung des α-Tocopherols mittels HPLC 210
A 2.5.2.1 Messbedingungen 210
A 2.5.2.1.1 Geräte 210
A 2.5.2.1.2 Chromatographiebedingungen 210
A 2.5.3 Derivatisierung 211
A 2.5.4 Reinigung des α-Tocopherylmethylethers mittels HPLC 211
A 2.5.4.1 Messbedingungen 211
A 2.5.4.1.1 Geräte 211
A 2.5.4.1.2 Chromatographiebedingungen 211
A 2.5.5 Trennung der Isomeren des α-Tocopherylmethylethers 211
A 2.5.6 Messbedingungen 212
A 2.5.6.1 Geräte 212
A 2.5.6.2 Chromatographiebedingungen 212
A 3 Weitere Geräte 212
A 4 Ergebnisse Fütterungsversuch I (Färsen) 213
A 5 Ergebnisse Fütterungsversuch II (Jungbullen) 223
A 6 Ergebnisse Lagerungsversuch 241
A 7 Ergebnisse Stereoisomerenverteilung des α-Tocopherol 242

1 Einleitung

Fleisch ist ein wesentlicher Bestandteil der menschlichen Nahrung. Neben einem qualitativ hochwertigen Protein liefert es Mineralstoffe und Spurenelemente sowie eine Reihe von Vitaminen der Gruppe B.

In der Bundesrepublik Deutschland wurden im Jahr 1999 10.3 kg Rindfleisch pro Person verzehrt. Lediglich Geflügel- und Schweinefleischprodukte übertrafen diese Menge. Der Konsum an Rind- und Schweinefleisch ist zumindest in den vergangenen beiden Jahren aufgrund der offenkundigen Fälle von Erkrankungen an BSE und Maul- und Klauenseuche zurückgegangen (DGE, 2001). Die Zahl der Rinder-Schlachtungen nahm im Dezember 2000 im Vergleich zu Dezember 1999 um 51.4 % ab. Im gleichen Beobachtungszeitraum wurden aber nur 4.6 % weniger Schweine geschlachtet (Statistisches Bundesamt, 2001). Dennoch werden im Durchschnitt ein Drittel der Energie und zwei Drittel des Proteins aus Lebensmitteln tierischer Herkunft aufgenommen (DGE, 2001).

Trotz eines zu beobachtenden Trends nach Convenience-Produkten legt der Verbraucher Wert auf gesunde und qualitativ hochwertige Lebensmittel (MORRISSEY et al., 1998). Der Verbraucher geht sehr kritisch mit Meldungen bezüglich seiner Nahrung um. Vermehrt finden dietätische Empfehlungen Beachtung, stark fetthaltige Lebensmittel zu meiden, ein ausgewogenes Protein-Fett-Verhältnis anzustreben sowie bei der Art der aufgenommenen Fette auf einen entsprechenden Anteil essentieller auf Kosten der gesättigten Fettsäuren (SFA) zu achten. Eine Vielzahl dieser Empfehlung steht in direktem Zusammenhang mit erwiesenen gesundheitlichen Aspekten in Verbindung mit dem Verzehr von antioxidativ wirksamen Substanzen und Fetten. Beispiele wären die Auswirkungen übermäßigen Verzehrs von SFA, *trans*-Fettsäuren (t-FA) und Cholesterol sowie seinen Oxidationsprodukten, die die Entstehung koronarer Herzerkrankungen fördern, wohingegen anderen Stoffen bzw. Stoffgruppen, wie z. B. den konjugierten Linolsäureisomeren (CLA) diverse positive Effekte zugeschrieben werden (RICKERT et al., 1999).

Als ernährungsphysiologisch negativ werden nicht nur hohe Anteile an SFA, sondern auch ungünstige Verhältnisse der mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA), insbesondere der n-6-PUFA zu den n-3-PUFA, angesehen. Während letzteres bei Schweine- und Geflügelfleisch nahezu den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) entspricht, produzieren nur auf der Weide gehaltene Wiederkäuer Muskelfleisch mit einem erstrebenswerten n-6-/n-3-PUFA-Verhältnis (ASHES et al., 1992).

Die Beurteilung der Fleischqualität leitet sich aus dem bereits erwähnten Ernährungsbewusstsein der Verbraucher ab. Rindfleisch gilt generell als fettarm und besitzt ein allgemein gut verdauliches Protein. Die Qualitätsansprüche seitens des Verbrauchers sind hauptsächlich Anforderungen hinsichtlich der sensorischen Eigenschaften (Zartheit, Textur, Geruch, Geschmack, Aussehen).

Die sensorischen Eigenschaften werden größtenteils vom Fettgehalt beeinflusst. Somit kommt den Fetten eine entscheidende Bedeutung im Hinblick auf die Beurteilung

der Qualität des Rindfleisches zu. Besonders die Phospholipide (PL) sind reich an PUFA. Letztere sind sehr anfällig gegenüber der Lipidoxidation, bei der im weiteren Verlauf sekundäre Fettoxidationsprodukte entstehen, die durch sich anschließende Reaktionen zu einer Qualitätsminderung wie Nährstoffverlust, Verfärbung, Bildung eines ranzigen Aromas, Zähigkeit und Bildung toxischer Substanzen führen (DECKER und MEI, 1996; FRANKEL, 1996; SAHOO und ANJANEYULU, 1997a; MORRISSEY et al., 1998).

Durch gezielte Fütterung wird versucht, die Qualität des Endproduktes zu erhöhen bzw. über einen verlängerten Lagerungszeitraum zu gewährleisten. Als Grundfutter werden ausgewogene Kraftfuttermischungen gegeben, die hauptsächlich hochwertiges Futtergetreide, ausgewählte Proteine sowie Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente enthalten (HAMPEL, 1995). Zusätzlich erhalten die Tiere in der Intensivhaltung Rauhfutter in Form von Maissilage (MS) bzw. seltener Grassilage (GS). Weidetieren bietet sich mit dem frischen Grünfutter eine ausreichende Versorgung mit Nährstoffen (NÜRNBERG et al., 2002). Immer häufiger werden den Futtermitteln über die gesamte Fütterungsperiode Antioxidationsmittel zugesetzt oder unmittelbar vor der Schlachtung den Tieren Antioxidantien zur Stabilisierung des Schlachtkörpers verabreicht (ELMADFA und WAGNER, 1997). Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Supplementierung des Futters mit Antioxidantien zu besseren organoleptischen Eigenschaften und einer geringeren Peroxidbildung führt als eine post-mortem-Zugabe (TIMM, 2000). Als Supplemente werden unterschiedliche Antioxidantien eingesetzt, von denen α-Tocopherol, β-Carotin, L-Ascorbinsäure aber auch Extrakte aus Kräutern, Gewürzen und anderen Pflanzenbestandteilen wirksam sein können (MITSUMOTO et al., 1991a, 1991b). Aus Rücksicht auf die Verbraucherinteressen ist auch hier ein Trend zu natürlichen Antioxidantien zu beobachten (BROOKMAN, 1991; BUCKLEY und MORRISSEY, 1992; ERIKSSON und NA, 1995). Auch anderweitig wird eine Beeinflussung der Schlachtkörperzusammensetzung versucht, indem durch Fütterung mit Fischölzusätzen, die reich an Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure sind, eine Anreicherung der n-3-PUFA zur Verbesserung des n-6-/n-3-PUFA-Verhältnisses erzielt werden soll (ASHES et al., 1992).

2 Grundlagen und Arbeitsplan

2.1 Fleischqualität

Bei der Mast standen ursprünglich ökonomische Faktoren und die Optimierung essentieller Futterbestandteile im Vordergrund. Dagegen wird heutzutage gezielt versucht, die Qualität von Produkten durch spezielle Futterzusätze während der Mast zu steigern („Functional Feed“). Unter Fleischqualität ist das komplexe Zusammenwirken verschiedener Eigenschaften zu verstehen. Dabei scheinen die folgenden Aspekte von besonderer Bedeutung (HOFMANN, 1987; GRAY et al., 1996):

- Sensorische Eigenschaften: Aroma (Geruch, Geschmack), Textur (Zartheit, Konsistenz, Struktur), Saftigkeit, Aussehen (Farbe und Farbstabilität, Form, Marmorierung)
- Technologische Eigenschaften: Gehalt an Fett und Protein, Bindegewebsanteil, Wasserbindungsvermögen, Tropfverlust, Konsistenz, Struktur, pH-Wert, Farbe und Farbstabilität
- Physiologische Eigenschaften: chemische Zusammensetzung (Gehalt an Eiweiß, Fett, Kohlenhydraten, Vitaminen, Mineralstoffen, Spurenelementen), Verdaulichkeit, biologische Wertigkeit
- Hygienestatus: Mikroorganismen (pathogene Bakterien, Sporen, Schimmelpilze), Haltbarkeitseinflüsse (pH-Wert, Wasseraktivität, Redoxpotential), Zusatzstoffe (Nitrit, Nitrat), Rückstände und Kontaminanten, auch im Kraft- und Rauhfutter

Für den Verbraucher erscheinen davon die Eigenschaften Aussehen, Textur, Geschmack und Geruch als wesentliche Qualitätsparameter, wobei die Kaufentscheidung vornehmlich nach dem Aussehen und der Art und Weise der Präsentation im Geschäft erfolgt. Es erscheint dabei selbstverständlich, dass die anderen Parameter, insbesondere der hygienische Status, einwandfrei sind (LIU et al., 1995; GRAY et al., 1996).

Die Fleischqualität ist in weiten Teilen vorbestimmt, zum Teil aber auch beeinflussbar. Entscheidende Einflussgrößen sind:

- Genetische Veranlagung (Geschlecht, Rasse, Tierart)
- Physiologie (Alter, Gesundheitszustand, Stoffwechsel, Futterverwertung)
- Anatomie (Alter, Gewicht, Fettverteilung, Bindegewebe)
- Fütterung und Masttechnologie (Futterzusammensetzung, Masthilfsmittel, Medikamente, Mastintensität, Haltungsbedingungen, Tierhygiene)
- Schlachtung (Transportbedingungen, Stress, Temperatur, pH-Wert, Lagerung, Reifung, Hygiene)
- Verarbeitung (Zerkleinerung, Verpackung, Zusatzstoffe, Zusätze usw.) (HOFMANN, 1987; GRAY et al., 1996; MORRISSEY et al., 1998; O’SULLIVAN et al., 2002)

Vor der Schlachtung ist die Qualität des Endproduktes somit nur wenig beeinflussbar. Neben einem guten Gesundheitszustand ist lediglich die Fütterung eine äußere Einflussgröße auf die Fleischqualität, die wiederum im Zusammenhang mit der Gesundheit des Viehs steht. Selbstverständlich sollte die Fütterung entsprechend den physiologischen Anforderungen an Rasse, Geschlecht, Alter und genetischem Potential der Tiere erfolgen (AUGUSTINI und TEMISAN, 1986).

Der Schlachtvorgang und die sich anschließenden Arbeitsgänge zeigen einen deutlichen Einfluß auf die Qualität des Fleisches. Die ersten, nach der Schlachtung eintretenden Veränderungen beruhen auf nach dem Tod der Tiere weiterhin ablaufenden Stoffwechselprozessen in den Zellen oder sind oxidativen Ursprungs. Sichtbar werden die durch Reaktion mit Sauerstoff bedingten Veränderungen durch eine Änderung der Fleischfarbe von kirschrot (Oxymyoglobin) nach braun (Metmyoglobin) (LIU et al., 1995). Die Produkte der Fettoxidation beeinflussen die Fleischqualität bedeutend mehr (AUGUSTINI et al., 1998). Sie verursachen entscheidende Veränderungen im Geschmack, im Geruch, in der Textur und im ernährungsphysiologischen Wert des Fleisches. Die Fettsäurehydroperoxide und die sekundären Fettoxidationsprodukte können aufgrund ihrerer hohen Reaktivität mit Aminosäuren und/oder Proteinen reagieren, was zu einer einschneidenden Veränderung der Textur führen kann (Quervernetzung, Polymerisation). Auch sind Proteindenaturierungen und die Hemmung von Enzymen (*in vivo* und *in vitro*) möglich. Zu beachten ist auch die Toxizität der entstehenden Oxidationsprodukte und der einhergehende Verlust des Nährwertes (KANNER, 1994). Die PL gelten als besonders reich an PUFA und stellen dadurch indirekt Aromavorstufen dar (BLUNK et al., 1992). Die Fettsäurehydroperoxide sind demnach direkte Aromavorstufen, da bei deren Zerfall eine Vielzahl an flüchtigen Substanzen entsteht, die einerseits das Aromaprofil des Fleisches bestimmen, andererseits aber auch für die Ausbildung eines Fehlaromas („off-flavour“) verantwortlich sind (GROSCH, 1989; BLUNK et al., 1992).

2.2 Lipide des Gewebes und des Blutplasma

Der Gehalt an Lipiden sowie deren Art und Verteilung innerhalb der Gewebe sind für eine Vielzahl von Variablen verantwortlich:

- Sensorische Eigenschaften: Aroma, Textur, Saftigkeit
- Technologische Eigenschaften: Stabilität, Haltbarkeit, Emulsionseigenschaften
- Physiologische Eigenschaft: Nährwert
  (ALLEN und FOEGEDING, 1981; GURR, 1997)

Im Allgemeinen unterscheidet man in Depotfett, Fettgewebe bzw. Auflagenfett, welches der Energiespeicherung dient, und in intramuskuläres Fett, das als Membranlipide, in Form von Fetttröpfchen in den Muskelzellen oder im perimysalen Bindegewebe vorkommt. Vermehrte Fetteinlagerungen im perimysalen Bindegewebe sind als Marmorierung erkennbar.

Das Auflagenfett dient nicht direkt der menschlichen Ernährung. Auch der Verzehr des intermuskulären Fettgewebes (Auflagenfett) wird weitestgehend vermieden, so

dass den Strukturlipiden eine nicht zu unterschätzende Bedeutung zukommt. Während intermuskuläres Fett und Auflagenfett als Energiespeicher und dem mechanischen Schutz dienen, sind den Strukturlipiden besondere physiologische und im Verlauf der Verarbeitung auch technologische Funktionen inne. Strukturlipide bestehen aus PL, Glykolipiden und Cholesterolestern (CE). Gemeinsam mit Sphäroproteinen, freiem Cholesterol und anderen Neutrallipiden in schwankenden Anteilen sind sie wesentliche Bausteine der tierischen Zellmembranen (siehe Abbildung 1). Diese stellen einerseits eine Barriere zur Außenwelt dar, andererseits unterteilen sie die Zelle in Kompartimente mit unterschiedlichen physiologischen Funktionen. Der Anteil der Strukturlipide ist im Verhältnis zum Gesamtfett (incl. intermuskuläres Fettgewebe und Depotfett) relativ gering. Dagegen stellen die polaren Lipide zwischen 30 und 40 % des intramuskulären Fettgewebes dar (siehe Tabelle 1).

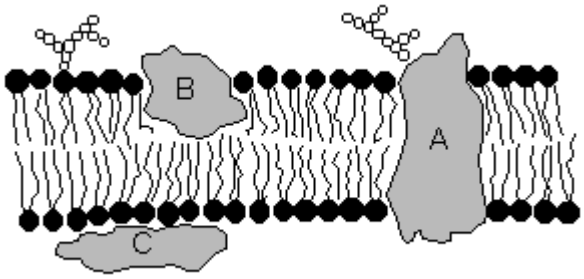


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines Membranausschnittes. Die Membranproteine (Sphäroproteine mit einem hohen α-Helix-Anteil) können die gesamte Membran durchdringen (A) oder mit ihrem hydrophoben Abschnitt nur teilweise in sie eindringen (B). Periphere Membranproteine sind mit der Membran assoziiert, ohne in sie einzudringen (C)

Entsprechend ihrer unterschiedlichen physiologischen Funktion zeigen die Fettsäurespektren der verschiedenen Fettarten deutliche Unterschiede. Während im Auflagen- und Depotfett SFA und einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA) überwiegen, sind die Gehalte an PUFA in den PL teilweise beachtlich (FLACHOWSKY et al., 1994). Folglich unterscheiden sich auch die Fettsäuremuster in den unterschiedlichen Geweben.

Tabelle 1: Lipidklassenverteilung in Humanplasma (nach LÖFFLER und PETRIDES, 1998), in Rinderleber und Rindermuskel (abgeschätzt durch eigene Versuche, siehe Kapitel 6.2.2)

Lipidklasse	***Anteil am Gesamtfett [%]***		
	Humanplasma	***Rinderleber***	***Rindermuskel***
CE *	37 - 40	1 - 3	2 - 5
Triglyceride (TG)	13 - 22	4 - 6	50 - 73
PL	37 - 43	85 - 90	27 - 48
freie FA	3 - 4	n. b.	n. b.

* im Plasma incl. freies Cholesterol

Der größte Teil der Membranlipide setzt sich aus einem Glycerinmolekül, zwei Fettsäuremolekülen und einer polaren Gruppe, meistens Phosphat, zusammen. Dieser

Phosphatrest ist weiter mit einer Hydroxybase (Cholin, Ethanolamin), einer Aminosäure (Serin) oder einer Polyhydroxyverbindung (Inosit) verestert (siehe Abbildung 2).

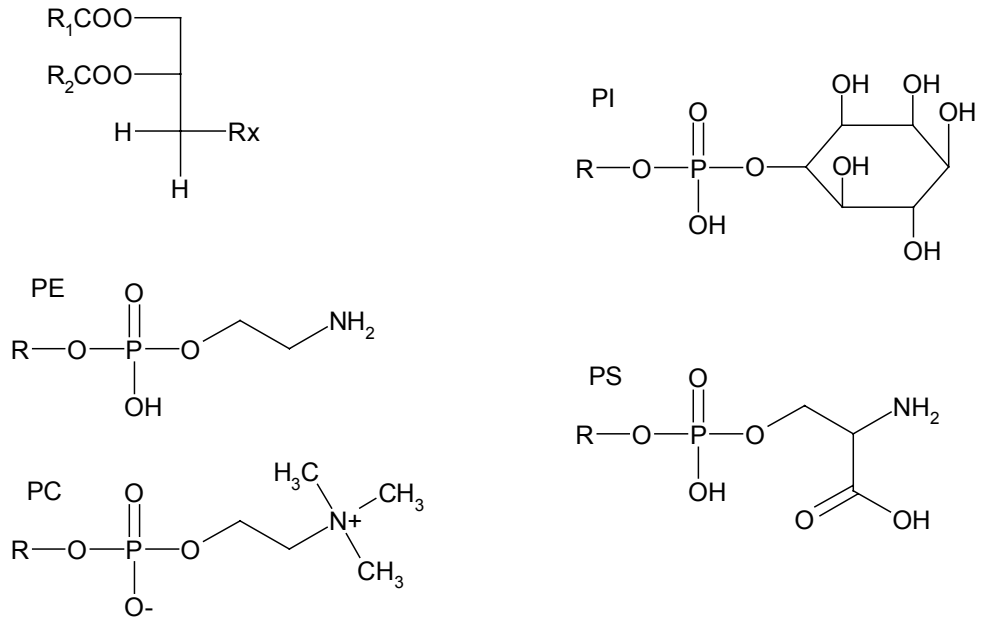


Abbildung 2: Struktur ausgewählter Phospholipide. Neben dem Grundgerüst (links oben) sind mögliche Substituenten für Rx dargestellt: Phosphatidylethanolamin (PE), Phosphatidylcholin (PC), Phosphatidylinosit (PI), Phosphatidylserin (PS)

Aufgrund des amphiphilen Charakters der Moleküle sind diese zur Bildung von Doppelschichten befähigt, indem zwei Molekülschichten so orientiert sind, dass die hydrophoben Enden aufeinander zugerichtet sind, während die hydrophilen Gruppen, von einer Hydrathülle umgeben, nach außen bzw. innen weisen (siehe Abbildung 1). Typisch für tierische Membranen ist der hohe Anteil an Cholesterol, während der Anteil an Sterolen in pflanzlichen Membranen eine untergeordnete Rolle spielt. Andere Typen von Membranlipiden stellen die Sphingolipide dar, die aus zwei an das Aminodiol Sphingosin gebundenen Fettsäuren (FA) bestehen.

Die Membranlipide weisen einen relativ hohen Anteil an MUFA und PUFA auf. Diese Tatsache erklärt die Anfälligkeit der in den PL gebundenen FA gegenüber der Fettoxidation (MONAHAN et al., 1992; NAKAGAWA et al., 1996). Diese Lipide stellen somit bedeutende Aroma-Precursoren dar (LARICK et al., 1989; LÜBBE, 1990; BLUNK et al., 1992; MONAHAN et al., 1992; NAKAGAWA et al., 1996). Die in den PL membrangebundenen PUFA (Linol-, Linolen- und Arachidonsäure) werden zudem für den Aufbau von Prostaglandinen benötigt.

Im Gegensatz zu Nicht-Wiederkäuern ist eine Beeinflussung der Fettsäurezusammensetzung durch gezielte Fütterung der gewünschten Fette bei Wiederkäuern nur begrenzt möglich, da die für die Vorverdauung im Pansen verantwortlichen Mikroorganismen nur bedingt Fett vertragen. Es ist aber möglich, auch hier die Fettsäuremuster zu beeinflussen, indem die Fette oder fetthaltigen Bestandteile verkapselt oder als Calciumsalz ihrer FA verabreicht werden (CHALUPA et al., 1986). Bedingt durch die Tätigkeit der Mikroorganismen im Pansen (Hydrierung) enthält bovines Fett

und entsprechend auch Milchfett erhöhte Anteile an CLA und t-FA (RICKERT et al., 1999).

Die Umsatzraten der verschiedenen Fettarten (Depot-, Muskel-, Leber- und Blutfett) sind unterschiedlich. Diese Tatsache ermöglicht die Untersuchung von Veränderungen über einen längeren Zeitraum. Eine langfristige Beeinflussung durch die Futterzufuhr kann ebenso erkannt werden wie der aktuelle Fütterungseinfluß. Im Gegensatz zum Depot-, Muskel- und Leberfett stellt das in Lipoproteinen enthaltene Fett keine Speicher- sondern eine Transportform dar.

2.2.1 Lipidoxidation

An der Oberfläche und nach Zerstörung der Zellintegrität durch mechanische Prozesse können oxidativ wirkende Substanzen, insbesondere reaktive Sauerstoff-Species (reactive oxygen species, ROS), auf die empfindlichen ungesättigten FA treffen. In der Folge entstehen freie Radikale, die die komplexe Reaktionskaskade der Oxidation initiieren. Die Lipidoxidation kann als eine der Hauptursachen für die Minderung der Qualität von Fleisch und Fleischerzeugnissen angesehen werden. Die Qualitätsminderung manifestiert sich in negativen Veränderungen des Geschmacks (Ranzigkeit) und des Geruches. Auch die Veränderung der Farbe und der Textur sowie die Verminderung des Nährwertes sind indirekte Folgen der Lipidoxidation. Im zellulären Maßstab sind Schäden an der Struktur und der Funktion von Membranen zu beobachten.

Die Lipidoxidation besteht aus drei wesentlichen Stadien:

1. Initiierung
2. Kettenwachstum/ -verzweigung
3. Kettenabbruch

Der Initiierungs-Schritt ist beschrieben durch die Bildung eines Alkylradikals bzw. Peroxylradikals, das aus ungesättigten FA in Anwesenheit eines Initiators nach der Reaktion mit dem Triplett-Sauerstoff ($^3O_2$) entsteht (Reaktionen 1 und 2).

$$LH + {}^3O_2 \rightarrow L^{\bullet} + HO_2{}^{\bullet} \qquad \text{Reaktion 1}$$

$$L^{\bullet} + {}^3O_2 \rightarrow LOO^{\bullet} \qquad \text{Reaktion 2}$$

Unter dem Einfluss von Licht, insbesondere energiereichem ultravioletten (UV) Licht, können durch Reaktion mit dem kurzlebigen, aber sehr reaktiven Singulett-Sauerstoff ($^1O_2$) auch aus ungesättigten FA Fettsäurehydroperoxide entstehen (Reaktion 3). Ebenfalls können andere ROS den Kettenmechanismus initiieren: Superoxid-Anionen ($O_2{}^{-\bullet}$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Perhydroxyl-Radikale ($HO_2{}^{\bullet}$) und Hydroxyl-Radikale ($HO^{\bullet}$). Ein Abbruch des Radikalkettenmechanismus ist durch Verknüpfung zweier radikalischer Ausgangsverbindungen zu einem nichtradikalischen Produkt möglich.

$$LH + {}^1O_2 \rightarrow LOOH \qquad \text{Reaktion 3}$$

Fettsäurehydroperoxide entstehen auch durch Reaktion bereits oxidierter FA (Reaktion 2) mit noch nicht geschädigten FA (Reaktion 4, Abbildung 3).

$LH + LOO^{\bullet} \rightarrow LOOH + L^{\bullet}$ Reaktion 4

Die entstehenden Fettsäurehydroperoxide sind geruchslos und können sich im Fettgewebe akkumulieren. Spuren von Übergangsmetall-Ionen lassen diese primären Oxidationsprodukte schnell in Alkoxyl- bzw. Perhydroxyl-Radikale zerfallen, die katalytisch den Radikalkettenmechanismus beschleunigen (Reaktionen 5 und 6).

$LOOH + M^{n} \rightarrow LO^{\bullet} + OH^{-} + M^{n+1}$ Reaktion 5

$LOOH + M^{n} \rightarrow LOO^{\bullet} + H^{+} + M^{n-1}$ Reaktion 6

Im Verlauf der Oxidation unterliegen die Fettsäurehydroperoxide zusätzlich einem spontanen Zerfall in Perhydroxyl- und Alkoxyl-Radikale und einer Vielzahl weiterer flüchtiger und nichtflüchtiger sekundärer Produkte.

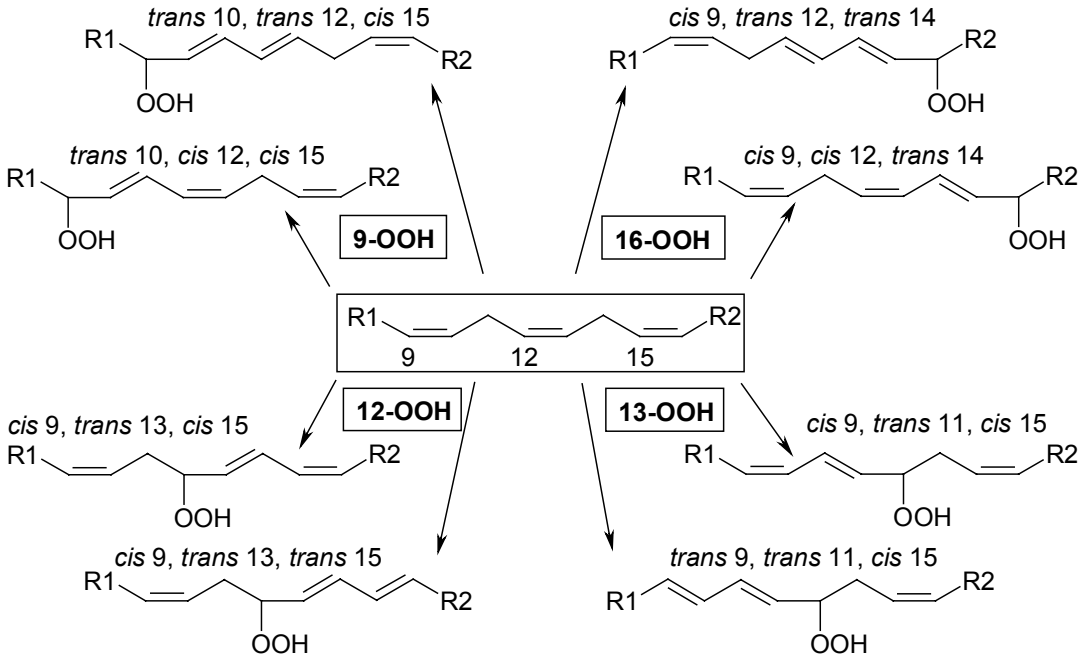


Abbildung 3: Mögliche α-Linolensäurehydroperoxide; R1 = $C_7H_{14}COOH$, R2 = C_2H_5 (nach KAMAL-ELDIN und APPELQVIST, 1996)

Die Alkoxyl-Radikale reagieren weiter zu verschiedenen Aldehyden, Ketonen, Alkoholen, Kohlenwasserstoffen und Furanen, die zu einer Veränderung des Aromas führen können.

Gleichzeitig führen die Alkoxyl-Radikale zu einem Nichtenden der Radikalkettenreaktion. Aus Alkoxyl-Radikalen entstehende Aldehyde sind charakteristische Verbindungen, die den Geruchseindruck ranzigen Fettes verursachen. Schematisch sind der homolytische und der hetereolytische Abbau (Abbildung 4) der Fettsäurehydroperoxide dargestellt (FRANKEL, 1991).

Neben Hexanal wird häufig Malondialdehyd (MDA) als Parameter der Lipidoxidation bestimmt. MDA und einige andere sekundäre Fettoxidationsprodukte sind potentiell toxisch. Ihnen werden zum Teil cancerogene und mutagene Wirkungen zugeschrie-

ben (DECKER und MEI, 1996; FRANKEL, 1996; SAHOO und ANJANEYULU, 1997b; MORRISSEY et al., 1998).

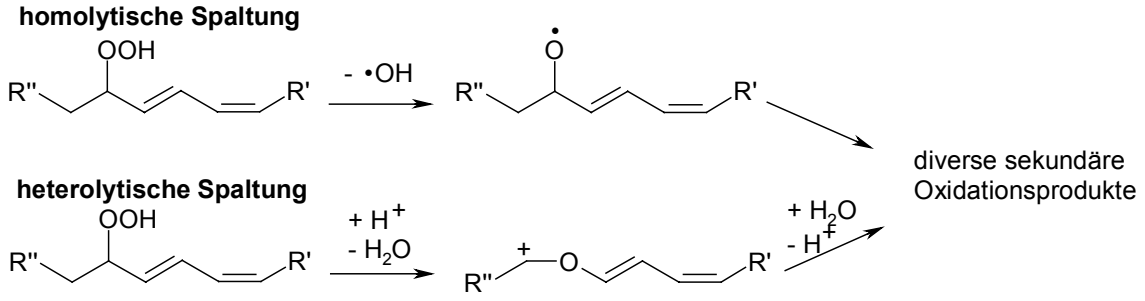


Abbildung 4: Homolytische und heterolytische Spaltung von Fettsäurehydroperoxiden

In Abbildung 5 ist ein möglicher Bildungsweg von MDA ausgehend von einem Arachidonsäure-Rest dargestellt. FA mit drei oder mehr Doppelbindungen reagieren analog. Bei Peroxyl-Radikalen mit isolierter β- und γ-Doppelbindung tritt in Konkurrenz zur Bildung von Fettsäure(mono)hydroperoxiden eine Cyclisierung ein. Nach Reaktion mit einem weiteren Sauerstoff-Molekül entsteht aus dem Fettsäureepidioxid-Rest ein bicyclisches Endoperoxid, das unter dem Einfluß von Wärme oder bei niedrigen pH-Werten leicht zu MDA fragmentiert.

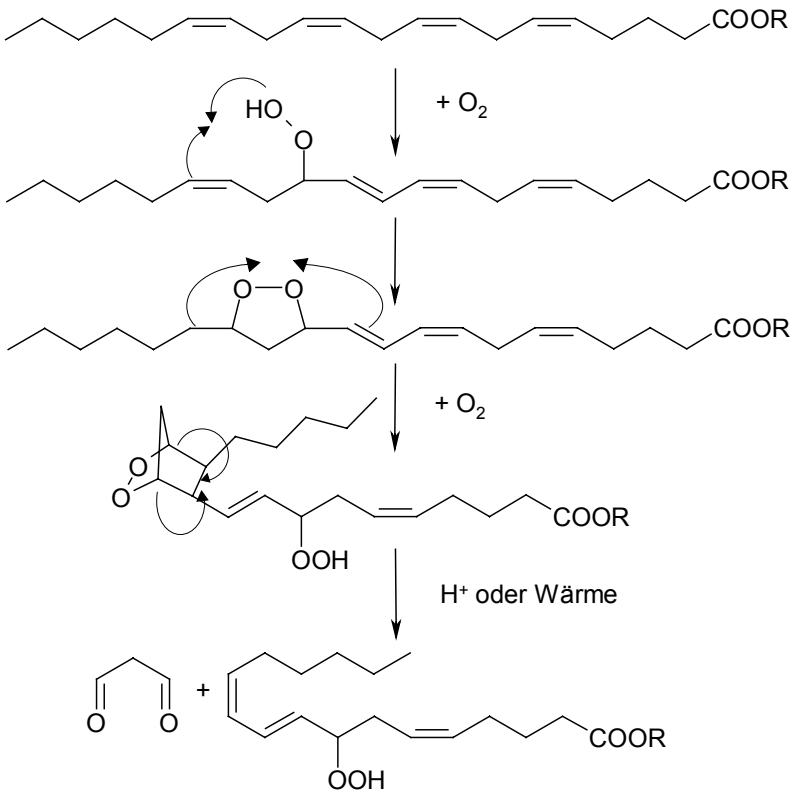


Abbildung 5: Bildung von MDA aus Arachidonsäure

In komplexen Lebensmittelmatrices hängt die Geschwindigkeit der Lipidoxidation nicht nur vom Grad der Ungesättigtheit der FA, sondern auch von der absoluten Menge ungesättigter FA, von der Umgebungstemperatur und dem pH-Wert ab.

Ebenso sind die Aktivität der Lipoxygenasen, der Sauerstoffpartialdruck im bzw. über dem Lebensmittel und die Anwesenheit von Übergangsmetallen zu berücksichtigen (KITTS, 1997).
Freie Radikale sind bedingt durch Oxidationsprozesse (siehe oben) stets in Lebensmitteln enthalten. *In vivo* findet eine Beseitigung dieser freien Radikale durch die in Kapitel 2.3.4 beschriebenen Enzymsysteme statt. In Fleisch kommen diese Systeme nach der Schlachtung durch die Fleischreifungsprozesse zum Erliegen, so dass ein Abbau der Radikale nicht mehr gewährleistet ist.

2.2.2 Gesundheitliche Aspekte

Ein übermäßiger Verzehr tierischer Fette wird im Zusammenhang mit einer Vielzahl klinischer Symptome diskutiert. Krankhafte Erscheinungen wie Fettleibigkeit, erhöhte Blutfett- und Cholesterolwerte erhöhen das Risiko, an koronaren Herzerkrankungen und Krebs zu erkranken. Auch bei einer massiven Aufnahme von Rinderfett konnten diese Folgeerscheinungen beobachtet werden (TAJIMA et al., 1995).

Die menschliche Ernährung wird immer häufiger als Ursache für das Auftreten von Krankheiten angesehen. Besonders treten die Gesamtmenge an Nährstoffen (Energie), die Zusammensetzung der in der Nahrung enthaltenen Fette und das mit diesem Fett aufgenommene Cholesterol als Einflussfaktoren hervor. Das Risiko koronarer Herzerkrankungen scheint mit einer verminderten Aufnahme an tierischen Fetten und Cholesterol zu sinken. Indirekt ist demnach eine an Ballaststoffen reiche Diät geeignet, das Risiko der Erkrankung vorzubeugen, da diesen eine cholesterolsenkende Wirkung zugesprochen wird. Cholesterol kommt in größeren Mengen nur in tierischen Geweben vor, so dass ein Verzicht bzw. eine Reduzierung der Aufnahme tierischer Fette zu Gunsten pflanzlicher Öle ebenso zu einer Senkung des Plasma-Cholesterol-Spiegels führt. Gleichzeitig würde dies zu einer wünschenswerten Erhöhung der Aufnahme von PUFA und eine Verringerung der Aufnahme von SFA führen (MORGAN et al., 1992; TAJIMA et al., 1995). Eine gesteigerte Zufuhr von PUFA (aus pflanzlichen Fetten) führt jedoch auch zu einer vergrößerten Oxidationsanfälligkeit, so dass eine Nutzen-Risiko-Abschätzung notwendig ist.

Eine verringerte Aufnahme von Fett korreliert in einigen Fallstudien mit einem verkleinerten Risiko der Erkrankung an Brust-, Darm- und Prostatakrebs. Es konnte gezeigt werden, dass bei einer Zufuhr hauptsächlich tierischer Fette die Zahl der Erkrankungen an Dickdarmkrebs stieg (WILLETT, 1998; BRUCE et al., 2000). Die Deutung vieler in der Literatur beschriebener Ergebnisse von Fall- und Interventionsstudien erfordert einen kritischen Blick auf die Versuchsplanung, da eine Vielzahl weiterer Einflussgrößen sowohl auf die Entstehung bestimmter Krebsarten als auch auf die Entwicklung einer manifestierbaren Erkrankung der Herzkranzgefäße Berücksichtigung finden muss (exogene hormonelle Veränderungen, Alkoholkonsum, Fettleibigkeit, physische Aktivität, genetische Prädisposition etc.). WILLETT (1994) zieht aus diesen teilweise widersprüchlichen Ergebnissen den Schluss, dass der Verzehr von SFA und hydrierten Speisefetten weitgehend vermieden werden sollte.

Im Zusammenhang mit dem Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen werden den PUFA positive Wirkungen zugesprochen, so dass allgemein eine vermehrte Zufuhr dieser FA empfohlen wird. Allerdings konkurrieren die n-6-PUFA bei der Aufnahme mit den n-3-PUFA, was bei einer vermehrten Zufuhr von n-6-PUFA zu einer Förderung der Entstehung von Tumoren und Thrombosen führen kann (WILLETT, 1994). Vertreter dieser FA, besonders die Linol- und die Linolensäure, sind für den menschlichen Organismus essentiell und werden für eine Vielzahl von Stoffwechselvorgängen und Funktionen benötigt (u. a. Zellmediator-Prekursoren, Zellmembranstruktur- und -fluidität) (WARNANTS et al., 1995).

Einigen Klassen von FA weisen definierte Wirkungen auf:

- n-3-PUFA reduzieren indirekt das Risiko koronarer Herzerkrankungen, indem sie bei vermehrter Zufuhr und Inkorporierung einer Verklumpung der Blutkörperchen entgegenwirken (OGATA et al., 1996).
- Den CLA werden sowohl positive als auch negative Wirkungen nachgesagt, die nicht alle wissenschaftlich belegt sind. CLA sollen anticancerogen, antidiabetogen, antithrombotisch, immunmodulierend, anabol und eventuell antiatherogen wirken (KÜHNE, 1999; RICKERT et al., 1999).
- t-FA führen im Plasma zu einer Erhöhung des Gesamtcholesterols und des Spiegels an Lipoproteinen geringer Dichte (LDL) sowie demzufolge zu erhöhten Verhältnissen von LDL zu Lipoproteinen hoher Dichte (HDL). Die atherogene Wirkung der t-FA beruht auf diesen Folgen (LICHTENSTEIN et al., 1998; DE ROOS et al., 2001).
- Als “French Paradoxon” ist bekannt, dass besonders in Mittelmeerländern die Häufigkeit koronarer Herzerkrankungen niedriger ist, obwohl in diesen Ländern viel pflanzliches Öl (Olivenöl) verzehrt wird. Als Grund wird der hohe Gehalt an MUFA (Ölsäure) vermutet. Auch andere Einflüsse werden diskutiert (Lebenswandel, Konsum von polyphenolreichen Weinen) (COVAS et al., 2001).

Als Richtwert für die Zufuhr an Fett gibt die DGE 30 bis 35 % der täglich aufgenommenen Energie an. Das Verhältnis SFA zu ungesättigten FA soll etwa 1:2 betragen. Die empfohlene Zufuhr essentieller FA der n-6-Klasse beträgt 2.5 bis 3 % der zugeführten Energie pro Tag. N-3-PUFA sollen geschätzt 0.5 % der zugeführten täglichen Energie ausmachen. Spezielle Lebensumstände erfordern eine erhöhte Nährstoffzufuhr (z. B. für Schwerarbeiter) (DACH, 2000). Im Jahr 2000 trug das Fett in der Nahrung durchschnittlich über 40 % der täglichen Energieaufnahme bei. Neben dieser überhöhten Zufuhr ist zusätzlich gesundheitlich abträglich, dass die SFA in der Kost überwiegen (DGE, 2001). WARNANTS et al. (1995) empfehlen, dass die täglich aufgenommene Fettmenge nicht mehr als 30 % der täglichen Energieaufnahme übersteigen soll, wobei sich das Fett zu gleichen Teilen aus SFA, MUFA und PUFA zusammensetzen sollte.

Wie bereits erwähnt entstehen sekundäre Oxidationsprodukte aus den geschädigten FA, denen cytotoxische, toxische, mutagene sowie cancerogene Wirkungen zugesprochen werden. Diese sekundären Fettoxidationsprodukte zeichnen sich durch

hohe Reaktivität aus (4-Hydroxynonenal, MDA). MDA ist als bifunktionales Molekül befähigt, Quervernetzungen zwischen Proteinen (z. B. ε-Aminogruppe von Lysin) oder zwischen den Basen der Desoxyribonucleinsäuren (DNA) zu bewirken. Mit diesen Quervernetzungen sind funktionale Veränderungen verbunden. Die oxidativen Veränderungen führen möglicherweise auch zum Schaden sowohl der Struktur als auch der Funktion von Zellmembranen, was zu degenerativen Erscheinungen und Krankheiten führen kann (AHMAD, 1996). Lebensmittel, die reich an leicht oxidierbaren PUFA sind, sind entsprechend kritisch bezüglich ihrer Lagerstabilität zu beurteilen (AJUYAH et al., 1993).

Bei einer kompletten gesundheitlichen Bewertung der in Lebensmitteln enthaltenen Fette ist zu beachten, dass Antioxidantien den negativen Folgen der Lipidoxidation entgegenwirken (siehe Kapitel 2.3.5).

2.3 Antioxidantien

Antioxidantien dienen vor allem dem Schutz der FA vor oxidativer Zerstörung und leisten damit einen wesentlichen Beitrag zur Erhaltung der ernährungsphysiologischen Qualität eines fettenthaltenden Lebensmittels. Eine allgemeine Definition gaben HALLIWELL et al. (1995): “A biological antioxidant has been defined as any substance that, when present at low concentrations compared to those of an oxidasible substrate, significantly delays or prevents oxidation of that substrate.” Antioxidativ wirksame Substanzen greifen in den Radikalkettenmechanismus der Lipidoxidation ein und bewirken eine Unterbrechung der Reaktionskaskade. Sie lassen sich wie folgt in Klassen einteilen (ERIKSSON und NA, 1995; AHMAD, 1996; DECKER und MEI, 1996):

- Primäre Antioxidantien besitzen zumeist phenolische Struktur und unterbrechen das Fortschreiten der Radikalkettenreaktion unter Bildung stabiler Radikale, die resonanzstabilisiert sind. Unter den typischen Vertretern dieser Gruppe sind natürliche (z. B. Tocopherole) und synthetische Antioxidantien wie z. B. Alkylgallate, Butylhydroxyanisol (BHA), Butylhydroxytoluol (BHT) zu finden.
- Sekundäre Antioxidantien verzögern die Lipidoxidation und halten sie auf. Sie können in einer Vielzahl von Mechanismen in den Prozess der Autoxidation eingreifen.
- Antioxidative Enzyme senken einerseits den Sauerstoffpartialdruck über dem Lebensmittel (z. B. Glucose-Oxidase) oder entfernen die reaktiven Sauerstoff-Spezies (z. B. Glutathion-Reduktase, Katalase, Peroxidasen, Superoxid-Dismutase).
- Sauerstoff-Quencher sind in der Lage, den diamagnetischen, sehr reaktionsfähigen Singulett-Sauerstoff ($^1O_2$) durch Energieaufnahme in den paramagnetischen Triplett-Sauerstoff ($^3O_2$) zu überführen. Ein typisches Beispiel dieser Gruppe stellt β-Carotin dar.

- Komplexbildner chelatisieren die katalytisch wirkenden Schwermetallionen. Als wirksam haben sich z. B. Citronensäure, L-Ascorbinsäure und andere organische Säuren erwiesen. Sie wirken teilweise synergistisch, können aber, abhängig von ihrer Konzentration, auch antagonistisch wirken.
- Sauerstoff-Fänger wie L-Ascorbinsäure und andere leicht oxidierbare Substanzen (z. B. Sulfit, L-Ascorbylpalmitat) regieren schnell mit Sauerstoff und entfernen diesen aus dem System.
- Thioverbindungen reagieren mit den Fettsäurehydroperoxiden zu stabilen Produkten.
- Darüber hinaus haben einige Verbindungen, die durch *in-situ*-Reaktion gebildet werden, antioxidative Wirkung, z. B. Fermentations- und/oder Maillardprodukte (z.B. Melanoidine).
- PL können aufgrund ihrer chelatisierenden Eigenschaften und aufgrund ihrer Fähigkeit zur Abgabe von Protonen antioxidativ wirken. Die Protonen bewirken einen schnellen Abbau der Lipidhydroperoxide ohne Bildung von Radikalen.

Somit gibt es eine Vielzahl chemischer Verbindungen, die in Lebensmitteln oder *in vivo* als antioxidativ wirksam beschrieben werden. Oftmals überschneiden sich auch Wirkungsspektren, so dass eine eindeutige Zuordnung in die aufgeführten Gruppen nicht möglich ist. Aus Gründen der Verbraucherakzeptanz finden vermehrt antioxidative Verbindungen Einsatz, die durch Extraktion von Kräutern und Gewürzen gewonnen werden (hauptsächlich Flavonoide und Phenole) (BROOKMAN, 1991). Neben der Möglichkeit, der oxidativen Schädigung durch antioxidativ wirksame Zusätze entgegenzuwirken, kann dies auch im Verlauf der Lagerung mit physikalischen Methoden erzielt bzw. unterstützt werden (CHU und HSU, 1999). Beispielhaft seien hier folgende Parameter aufgeführt, die auch sinnvoll kombiniert werden können:

- Kühllagerung
- UV-Lichtausschluß
- Vakuumverpackung
- Schutzgasatmosphäre
- Zusatz von Glucose-Oxidase und/oder Katalase
  (ERIKSSON und NA, 1995; GRAY et al., 1996)

Die Wirksamkeit der Antioxidantien lässt sich nicht nur auf deren Struktur zurückführen, sie ist in großem Maße abhängig von dem System, in dem sie eingesetzt werden. So können synergistische aber auch antagonistische Effekte auftreten, die sich durch erhöhte oder prooxidative Wirkungen bemerkbar machen. Synergismen treten besonders bei Mischungen phenolischer Antioxidantien und L-Ascorbinsäure auf (HALLIWELL et al., 1995).

Eine Vielzahl natürlicherweise in Lebensmitteln vorkommender Inhaltsstoffe zeigt eine antioxidative Wirksamkeit. Eine hervorzuhebende Stellung nehmen hierbei die L-Ascorbinsäure, Carotinoide, Tocopherole und andere phenolische Substanzen pflanzlichen Ursprungs (z. B. Flavonoide) ein (MITSUMOTO et al., 1991a, 1991b, 1991c). Diese reagieren in Konkurrenz zu anderen oxidierbaren Substraten (FA),

indem sie einerseits selbst stabile reaktionsträge Radikale bilden oder als Sauerstoff-„Quencher“ dienen. Primäre Antioxidantien (AH) reagieren vorwiegend mit Peroxyl-Radikalen in folgender Weise:

$$AH + LOO^{\bullet} \rightarrow LOOH + A^{\bullet} \qquad \text{Reaktion 7}$$

Bei dieser Reaktion (Reaktion 7) stellt AH das Antioxidans dar, welches ein Wasserstoff auf das Peroxyl-Radikal überträgt, wobei ein Fettsäurehydroperoxid und ein Antioxidans-Radikal entsteht. Das Antioxidans steht in Konkurrenz zum noch ungeschädigten Fettsäuremolekül (Reaktion 4). Es muss daher einerseits leichter oxidierbar als das Konkurrenz-Substrat sein, andererseits muss das Antioxidans-Radikal ($A^{\bullet}$) so reaktionsträge sein, dass es keine weitere Lipidoxidation initiiert (Reaktion 2) (AHMAD, 1996).

Das „Quenching“ kann auf zwei verschiededenen Wegen stattfinden. Beim „physikalischen Quenching“ (Reaktion 8) bleibt der „Quencher“ nahezu unverändert, während beim „chemischen Quenching“ (Reaktion 9) eine Reaktion zu einem neuen Produkt führt (YANISHLIEVA et al., 1998).

$$Q + {}^1O_2 \rightarrow Q^* + {}^3O_2 \qquad \text{Reaktion 8}$$

$$Q + {}^1O_2 \rightarrow QO_2 \qquad \text{Reaktion 9}$$

In der Lebensmittelindustrie verwendete Antioxidantien müssen folgende Bedingungen erfüllen (COPPEN, 1983): Sie

- müssen toxikologisch unbedenklich sein,
- dürfen die sensorischen Eigenschaften nicht beeinflussen,
- müssen in geringen Konzentrationen wirksam sein,
- sollten leicht zu verarbeiten und
- sollten im Endprodukt stabil sein.

2.3.1 Tocopherol

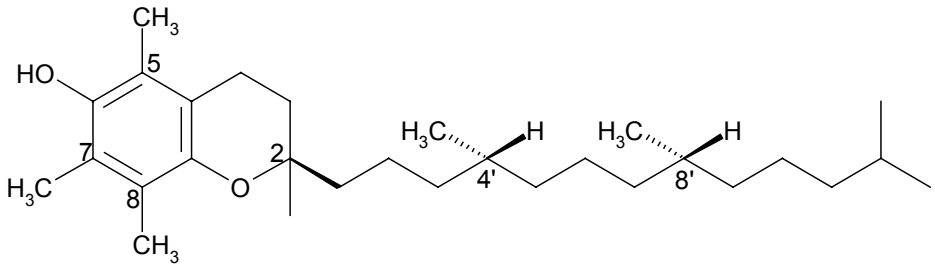


Abbildung 6: Struktur des natürlichen α-Tocopherols (2*R*,4'*R*,8'*R*)

Tocopherole sind die bedeutendsten Vertreter der Gruppe der Tocochromanole. Zu dieser gehören in Abhängigkeit von der Art und Verteilung der Substituenten am Chromanolring acht in der Natur vorkommende Verbindungen: α-, β-, γ- und δ-Tocopherol sowie α-, β-, γ- und δ-Tocotrienol (siehe Tabelle 2). An Position 2 des Chromanolringes befindet sich eine Phytyl-Seitenkette aus 16 Kohlenstoffatomen.

Das natürlich vorkommende α-Tocopherol (siehe Abbildung 6) ist an den Positionen 2, 4' und 8' jeweils *R*-konfiguriert (PONGRACZ et al., 1995). Vollsynthetisches α-Tocopherol besteht in Folge der drei Asymmetriezentren jeweils zu gleichen Anteilen aus acht Stereoisomeren (KAYDEN und TRABER, 1993). Es ergibt sich bei einer vollständigen Synthese der oben erwähnten Tocochromanole ein Gemisch aus 64 Isomeren, deren Eigenschaften bisher nicht detailliert untersucht worden sind. Gemeinsam ist ihnen eine mehr oder weniger ausgeprägte Vitamin E-Wirksamkeit (siehe Kapitel 2.3.5).

Tabelle 2: Die natürlich vorkommenden Tocopherole *

	Substituent am Chromanolring		
	C_5	***C_7***	***C_8***
α-Tocopherol	- CH_3	- CH_3	- CH_3
β-Tocopherol	- CH_3	- H	- CH_3
γ-Tocopherol	- H	- CH_3	- CH_3
δ-Tocopherol	- H	- H	- CH_3
Tocol	- H	- H	- H

* Die Verteilung der Methyl- und Wasserstoffsubstituenten am Chromanolring ist bei den Tocotrienolen identisch, jedoch sind letztere im Besitz von drei Doppelbindungen in der Phytyl-Seitenkette (3', 7' und 11').

Tocopherole und Tocotrienole sind hauptsächlich in pflanzlichen Ölen und anderen pflanzlichen Materialen enthalten. In tierischen Fetten sind die Konzentrationen deutlich geringer. Der Gehalt an Tocochromanolen in Ölen wird zudem von Raffinationsschritten und einer möglichen Hydrierung beeinflusst (PARKER, 1989). Die Tocopherole und Tocotrienole stellen gelbliche, viskose Flüssigkeiten dar, die fettlöslich und in Abwesenheit oxidierender Bedingungen thermo- und alkalibeständig sind. Weder der menschliche noch der tierische Organismus sind in der Lage, Tocochromanrole selbst zu synthetisieren, da der Shikimatweg des Stoffwechsels fehlt, über den die Bildung des aromatischen Ringsystems der Shikimisäure ausgehend vom Tyrosin verläuft. Somit sind Mensch und Tier auf die Aufnahme mit der Nahrung angewiesen (ELMADFA und WAGNER, 1997).

Die Synthese des *all-rac*-α-Tocopherols stellt in den meisten Fällen eine säurekatalysierte Kondensation von 2,3,6-Trimethylhydrochinon mit *all-rac*-Isophytol (3,7,11,15-Tetramethylhexadec-1-en-3-ol) dar (Roche-Verfahren) (VECCHI et al., 1990). Es entsteht hierbei wie oben beschrieben ein racemisches Gemisch aus acht Stereoisomeren. Wird statt des racemischen Phytols natürliches verwendet, welches an seinen beiden Asymmetriezentren *R*-konfiguriert ist, erhält man als Produkt 2-*ambo*-α-Tocopherol. In den ersten Synthesen von *RRR*-α-Tocopherol (= D-α-Tocopherol) wird eine geeignete Chromanolkomponente in ihre *R*- und *S*-Form gespalten und nach Umformung durch Wittig-Reaktion mit einem Abbauprodukt aus natürlichem Phytol kondensiert (ISLER und BRUBACHER, 1982). COHEN et al. (1981) gelang erstmals eine isomerenreine Totalsynthese aller acht Stereoisomere des α-Tocopherylacetates, die

aber finanziell und zeitlich sehr aufwändig war. Eine neue Methode zur vollständigen Synthese der acht Stereoisomere führte NETSCHER (1996) ein. Durch Hydrierung und Methylierung von Nebenprodukten der Ölgewinnung (Tocochromanolgemische) kann α-Tocopherol als teilsynthetisches Produkt erhalten werden (ISLER und BRUBACHER, 1982).

> **Anmerkung**
> In einer Vielzahl von Publikationen werden die Bezeichnungen α-Tocopherol, Vitamin E und Tocopherol in unterschiedlicher Bedeutung, unpräzise, nicht systematisch bzw. nicht konsequent ausgewählt, so dass oftmals uneindeutig ist, welche Verbindung, welches Gemisch an Verbindungen oder gar welches Stereoisomer gemeint ist. Folglich entstehen Missverständnisse oder unterschiedliche Interpretationen. Um dies zu vermeiden, beschreibt im Folgenden der Ausdruck „Vitamin E" das Gemisch aller Tocochromanole, während „α-Tocopherol" synonym für *all-rac*-α-Tocopherol bzw. DL-α-Tocopherol verwendet wird. Liegen keine genauen Angaben über die Zusammensetzung der Tocochromanole vor, wird ebenfalls der Ausdruck „Vitamin E" eingesetzt. Stereoisomere werden unter Angabe der Konfiguration aufgeführt, z. B. *RRR*-α-Tocopherol.

Als Zusatzstoff in der Lebensmittel- und Futtermittelindustrie werden vornehmlich die Acetate oder Succinate des α-Tocopherols verwendet, da diese eine höhere Stabilität als das freie α-Tocopherol aufweisen (SCHÜEP und RETTENMAIER, 1994; LIU et al., 1996a). Die Acetatform besitzt keinerlei antioxidative Wirksamkeit (LÜBBE, 1990). Die Empfehlung des US-National Research Council beträgt für Milchkühe 15 internationale Einheiten (IE)/kg aufgenommener Trockenmasse (WEISS, 1998). Mehr als zwei Drittel der Jahresproduktion von Vitamin E werden von den Futtermittelherstellern verbraucht. Die deutsche Futtermittelverordnung sieht für den Einsatz von Tocopherolen keine Höchstmengen im Gegensatz zur Verwendung synthetischer Antioxidantien vor. Dabei dient das im Futter enthaltene Tocopherol der Aufrechterhaltung der biologischen Funktionen und der Vermeidung von Mangelerscheinungen (Vitamin-Wirkung). Es kann jedoch auch vorbeugend im Sinne einer Anreicherung zur Qualitätssteigerung und Stabilisierung der Gewebe verwendet werden (ROSENBAUER et al., 1996). Nicht zu unterschätzen ist auch die Schutzwirkung zugefügter Antioxidantien auf die futtereigenen Lipide.

Die Absorption des α-Tocopherols erfolgt durch Einschluss in Micellen gemeinsam mit Cholesterol, FA und Monoglyceriden im Dünndarm (KREIMEIER und SCHMIDT, 1998). Da nur freies α-Tocopherol absorbiert wird, erfolgt zuvor eine hydrolytische Spaltung durch Gallensäuren und Pankreas-Enzyme. Das freie α-Tocopherol gelangt zu etwa 70 % in die Enterocyten und wird von dort aus mit Cholesterol, TG, PL und Apolipoproteinen in Chylomikronen eingebaut (BURTON, 1993: KAYDEN und TRABER, 1993; TRABER, 1994). Das α-Tocopherol wird ebenso wie die freien FA an die Lipoprotein-Lipase gebunden, wobei diese Bindung nicht stereoselektiv bzw. stereospezifisch diskriminierend ist. Während der Bildung der Chylomikronen-Remnant-Rezep-

toren durch die Lipoprotein-Lipase werden überschüssige Bestandteile, u. a. α-Tocopherol, auf HDL übertragen, um an den freigewordenen Plätzen an der Oberfläche Apolipoprotein E aufzunehmen, welches die Remnant-Rezeptoren zur Leber dirigiert. Das HDL kann das gerade aufgenommene α-Tocopherol durch Austauschprozesse auf alle anderen zirkulierenden Lipoproteine übertragen. Zu diesem Zeitpunkt enthalten alle Lipoprotein-Fraktionen gleiche Anteile der Stereoisomere des α-Tocopherols (TRABER et al., 1988, 1990a). In der Leber werden die Lipide an Lipoproteine sehr geringer Dichte (VLDL) gebunden. Der Einbau des α-Tocopherols in die VLDL erfolgt mit Hilfe eines tocopherolbindenden Proteins (TBP). Dieser Vorgang geschieht bei ausreichendem Angebot stereoselektiv in Abhängigkeit von der Affinität zum TBP. Die mit Abstand größte Affinität zum TBP besitzt das *RRR*-α-Tocopherol. Somit erfolgt in der Leber eine Diskriminierung der einzelnen Stereoisomere. Die VLDL werden nun in die Blutbahn abgegeben und mit Hilfe der Lipoprotein-Lipase zu LDL abgebaut. Hierbei ist erneut eine Übertragung des α-Tocopherols auf HDL möglich. Das TBP wurde sowohl in Rattenlebern (SATO, 1991) als auch im Humangewebe (ARITA, 1995) nachgewiesen. Es ist in der Lage, sowohl zwischen den verschiedenen Tocopherolen (CATIGNANI und BIERI, 1977) als auch zwischen den Stereoisomeren des *all-rac*-α-Tocopherols zu differenzieren. Die Affinität des Tocopherols hängt also nicht nur von der Anzahl und der Stellung der Methylgruppen am Chromanolring ab, welche jedoch dominierend ist, sondern auch von der Konfiguration der isoprenoiden Seitenkette. TRABER et al. (1990b) konnten durch Versuche mit Affenlebern belegen, dass bevorzugt das natürlich vorkommende *RRR*-α-Tocopherol an das TBP gebunden wird. Auf Basis deuterierter Verbindungen konnte gezeigt werden, dass unspezifisch eingebautes *SRR*-α-Tocopherol bei einem ausreichenden Angebot des *RRR*-Isomers gegen dieses ausgetauscht wird (TRABER et al., 1995; TRABER, 1997).

α-Tocopherol wird in die Phospholipiddoppelschicht der Zellmembranen eingelagert (MCDOWELL et al., 1996). Dort befinden sich in unmittelbarer Umgebung die vor Oxidation zu schützenden PUFA-reichen PL. Dabei befindet sich der polare Chromanolring in der Nähe der polaren Molekülabschnitte der PL, während die Phytylseitenkette in das Innere der Membran hineinragt und dort mit den Fettsäureresten interagiert (PARKER, 1989; PERLY et al., 1985). Durch die unmittelbare Nähe zu den Substraten der Lipidoxidation ist ein Schutz der FA gewährleistet. Zudem bewirkt α-Tocopherol einen Schutz anderer Wirkstoffe (Enzyme, Hormone, Vitamine) vor oxidativer Schädigung.

In Abbildung 7 ist die antioxidative Wirkung von α-Tocopherol dargestellt. α-Tocopherol besitzt eine relativ leicht oxidierbare chinoide Struktur. Bei der Oxidation wird der phenolische Wasserstoff abgegeben und der Chromanolring aufgespalten. Das entstehende Tocopheroxyradikal ist relativ reaktionsträge, da es resonanzstabilisiert wird. Aus dem Chromanoxylradikal entsteht ein *p*-Chinonalkylradikal, das in der Lage ist, die Lipidoxidation zu starten. Deshalb nimmt nach Durchschreiten eines Minimums die Hydroperoxidbildung mit steigender Konzentration (> 0.01 %) von α-Tocopherol wieder zu. In geringen Konzentrationen überwiegt jedoch der antioxidative

Effekt, der als Endprodukt ein Hydroxyalkylchinon entstehen lässt. Es findet ein Abbruch der Lipidoxidation statt, welcher zu einem Schutz der PUFA und zu einem Schutz vor unerwünschten sekundären Oxidationsprodukten führt (KAMAL-ELDIN und APPELQVIST, 1996; WALKE et al., 1998).

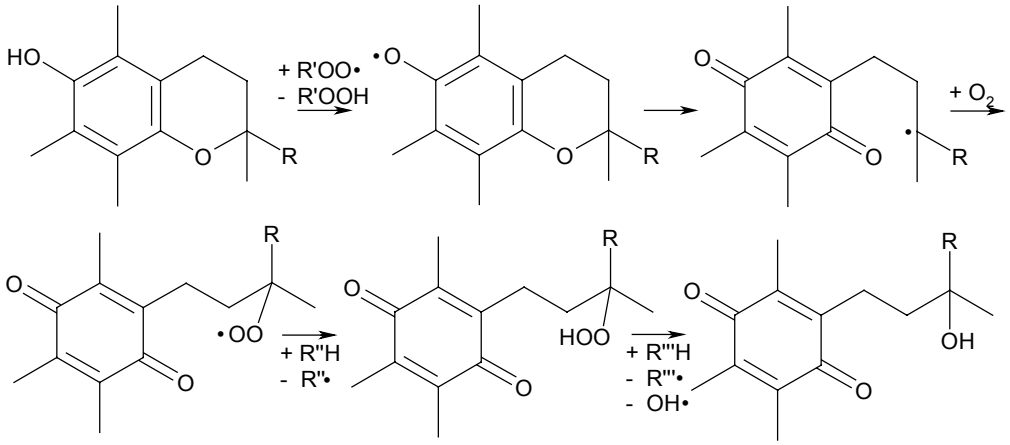


Abbildung 7: Darstellung der antioxidativen und prooxidativen Wirkungen des α-Tocopherols

Die antioxidative Wirkung ist abhängig von der Verteilung der Methylgruppen am Chromanolring und den Testbedingungen. Sie nimmt unter den von LEE und MONTAG (1992) gewählten Bedingungen (60 °C) in folgender Reihenfolge ab: δ-Tocopherol > β-Tocopherol > γ-Tocopherol > α-Tocopherol. Zwischen den einzelnen Stereoisomeren ist kein signifikanter Unterschied in der antioxidativen Wirksamkeit feststellbar (DEVARAJ et al., 1997).

Tocopherole zeigen mit einer Vielzahl an Verbindungen synergistische Effekte. Hervorzuheben ist der Synergismus mit L-Ascorbinsäure, der in Abbildung 8 dargestellt ist. Durch L-Ascorbinsäure erfolgt eine Regeneration des Tocopheroxyradikales. Der dargestellte Mechanismus ist ein wesentlicher Bestandteil des komplexen *in vivo*-Entgiftungssystems für freie Radikale aus ungesättigten FA und erklärt die effektive antioxidative Wirkung des α-Tocopherols auch bei geringen Konzentrationen (KLÄUI und PONGRACZ, 1982; MACHLIN, 1991; KAYDEN und TRABER, 1993; TRABER, 1999). Weitere Synergismen werden mit Glutathion und Ubichinon beschrieben (ELMADFA und WAGNER, 1997).

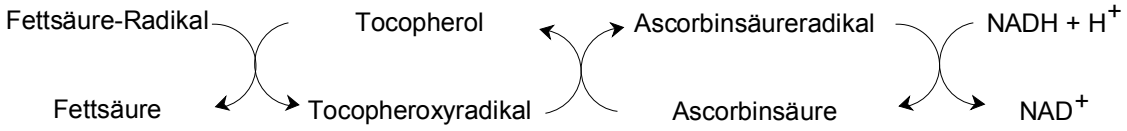


Abbildung 8: Entgiftungsmechanismus und Regeneration des Tocopherols durch den Synergisten L-Ascorbinsäure (nach MACHLIN, 1991)

2.3.2 Carotin

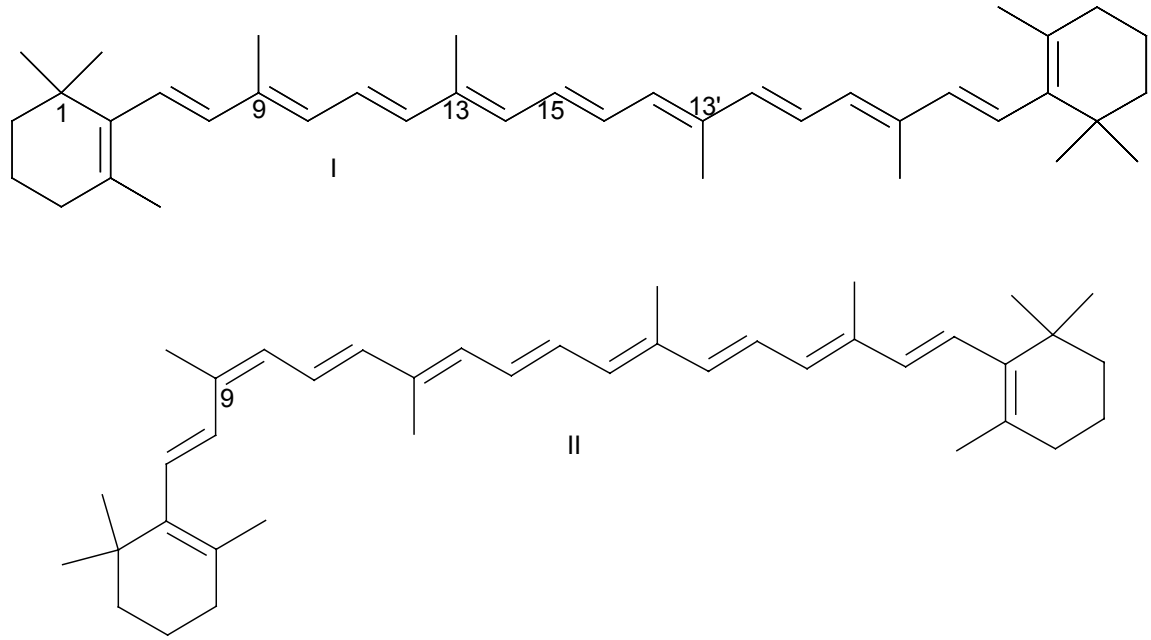


Abbildung 9: Strukturen von *all-trans*-β-Carotin (I) und 9-*cis*-β-Carotin (II)

β-Carotin gehört zu den Carotinoiden. Diese stellen Polyenverbindungen dar, die aus acht Isopreneinheiten (C_{40}-Carotinoide) aufgebaut sind. An beiden äußeren Enden der isoprenoiden Kette befinden sich Ringsysteme aus jeweils sechs Kohlenstoffatomen (DECKER und MEI, 1996). Die Carotinoide werden in zwei Untergruppen eingeteilt: Carotine und Xanthophylle. Die Carotine sind Kohlenwasserstoffe, zu deren mengenmäßig dominierenden Vertretern α- und β-Carotin sowie Lycopin gehören. Die oxidierten Formen der Carotine sind die Xanthophylle. Zu ihnen gehören unter anderem Lutein, β-Cryptoxanthin und Zeaxanthin (KURILICH und JUVIK, 1999). Carotinoide werden in der Natur ausschließlich in pflanzlichen Organismen synthetisiert und verleihen diesen eine intensive gelb-orange bis rote Farbe (KURILICH und JUVIK, 1999). Aufgrund ihrer chemischen Struktur sind die Carotinoide sehr gut fettlöslich, und sie werden deshalb als Lipochrome bezeichnet. Sie kommen in größeren Mengen in Ölen, Früchten, Gemüsen, Blüten und grünen Pflanzenteilen vor.

Vom β-Carotin gibt es vier isomere Strukturen, von denen die *all-trans*- und die 9-*cis*-Isomere in Abbildung 9 dargestellt sind. Daneben kommen auch 13-*cis*- und 15-*cis*-β-Carotin vor. Da die *all-trans*-Verbindungen die thermodynamisch stabilsten Formen darstellen, ist dieses Isomer bei der überwiegenden Mehrzahl der natürlich vorkommenden Carotinoide vorherrschend (AUBERT et al., 1991; LESELLIER et al., 1993). Die Isomere unterscheiden sich geringfügig in ihren Absorptionsmaxima und Extinktionskoeffizienten (AEBISCHER et al., 1999). In isolierter Form stellt β-Carotin ein dunkelrot gefärbtes Pulver dar. β-Carotin wird im großen Maße vollsynthetisiert. Dabei finden zwei Verfahren heute Anwendung. Das Roche-Verfahren sieht eine Grignard-Reaktion von zwei Mol β-C_{19}-Aldehyde mit einem Mol Acetylen vor, während die BASF zwei Wittig-Synthesen mit den Bauprinzipien C_{20} + C_{20} bzw. C_{15} + C_{10} + C_{15} entwikkelte (ISLER und BRUBACHER, 1982).

β-Carotin wird wie Tocopherol im menschlichen Körper mit Hilfe von Chylomikronen und VLDL transportiert (TRABER et al., 1994). Der im Vergleich zum Tocopherol unpolare Charakter des β-Carotins lässt keinen vollständigen Transport in Chylomikronen zu, so dass ein Teil in der Leber zu Retinol umgewandelt wird, das wiederum mit Palmitinsäure zum Retinylpalmitat verestert wird. In dieser Form wird es dann von VLDL weitertransportiert. Für den Einbau des β-Carotin in die nascierenden VLDL soll ein hepatisches Carotinoid-bindendes Protein verantwortlich sein (TRABER et al., 1994). In mit β-Carotin angereichertem Blutplasma ist nach einiger Zeit ein Anstieg an LDL feststellbar, der auf einen Abbau der VLDL zu LDL zurückzuführen ist. Der Inhalt der LDL wird über spezifische Rezeptormechanismen in das Zellinnere geschleust, wo er von den Lysosomen abgebaut wird. Durch den Transport in den LDL kann β-Carotin seine antioxidative Aktivität entfalten und die in den Lipoproteinen enthaltenen Fette vor oxidativer Schädigung durch freie Radikale schützen (KAYDEN und TRABER, 1993). Es kommt aber auch zur Einlagerung von β-Carotin in der Leber und im Fettgewebe. Bei Milchtieren wird das absorbierte Provitamin A auch mit der Milch sezerniert.

Aufgrund seiner Struktur mit vielen konjugierten Doppelbindungen ist β-Carotin besonders sauerstoff-, photo- und thermolabil, wodurch die Vitamin-A-Wirksamkeit gefährdet ist. Die antioxidative Wirkung des β-Carotins wird vielfach in der Literatur diskutiert (REAVEN et al., 1993; TRABER et al., 1994; KING et al., 1995). Während einige Forschergruppen β-Carotin als Prooxidans sehen (THOMPSON und STEENBOCK, 1944) ist die überwiegende Mehrzahl der Meinung, dass sowohl prooxidative als auch antioxidative Wirkungen von β-Carotin ausgehen (DECKER und MEI, 1996; YANISHLIEVA et al., 1998). *In vitro* zeigt β-Carotin in einer Konzentration von 2 µmol/l eine bessere Schutzwirkung gegenüber der Kupfer-induzierten LDL-Oxidation als 40 µmol/l α-Tocopherol (JIALAL et al., 1991). Die antioxidative Wirksamkeit des β-Carotins steht in enger Beziehung zu seiner eigenen Oxidation, die von Licht-, Temperatur- und pH-Wert-Einflüssen, sowie von der Umgebung (Lösungsmittel) und der Anwesenheit oxidierbarer Substrate abhängig ist. Die Wirkung als Antioxidans beruht auf zwei unterschiedlichen Mechanismen. Im Gegensatz zu Tocopherol besitzt β-Carotin keine phenolische Unterstruktur. Es kommt nicht zur Abstraktion eines Wasserstoffatomes, sondern zur Anlagerung des Fettsäureperoxyl-Radikales an der Kohlenwasserstoffkette des β-Carotins (Reaktion 10).

$$\beta\text{-Carotin} + LOO^{\bullet} \rightarrow \beta\text{-Carotin-}LOO^{\bullet} \qquad \text{Reaktion 10}$$

$$\beta\text{-Carotin-}LOO^{\bullet} + O_2 \rightarrow \beta\text{-Carotin-}LOO\text{-}OO^{\bullet} \qquad \text{Reaktion 11}$$

Das im ersten Schritt gebildete Carbonylradikal (β-Carotin-$LOO^{\bullet}$) reagiert bei einem hohen Sauerstoffpartialdruck schnell weiter (Reaktion 11), wobei ein Radikal entsteht, welches eine sehr große Reaktivität besitzt und in der Lage ist, weitere Radikalkettenreaktionen zu initiieren. Bei niedrigem Sauerstoffpartialdruck kann sich das Carbonylradikal (β-Carotin-$LOO^{\bullet}$) durch Delokalisierung des ungepaarten Elektrons entlang der Kohlenwasserstoffkette stabilisieren. Außerdem kann es mit einem weiteren Fettsäureperoxyl-Radikal zu einem stabilen Endprodukt reagieren (Kettenab-

bruch) (BURTON, 1989). Diese Tatsache könnte eine Erklärung für die prooxidativen und antioxidativen Wirkungen des β-Carotins sein.

Der andere bereits erwähnte Wirkmechanismus des β-Carotins beruht auf dessen Eigenschaft als Sauerstoff-„Quencher“ (FOOTE und DENNY, 1968). Der während der Photooxidation von Lipiden durch aktivierte Photosensibilisatoren (z. B. Chlorophylle) aus dem Triplett-Sauerstoff entstehende Singulett-Sauerstoff begünstigt ein Fortschreiten der Lipidoxidation. Das β-Carotin vermag mit dem Singulett-Sauerstoff zu reagieren, wobei letzterer von dem angeregten Zustand in seinen energieärmeren Grundzustand zurückkehrt (siehe Reaktion 8). Die vom β-Carotin absorbierte Energie wird an das umgebende Medium abgegeben (DECKER und MEI, 1996). Die antioxidative Wirksamkeit der β-Carotin-Einzelisomere ist bisher kaum untersucht. Das 9-*cis*-β-Carotin schützt die Linolsäuremethylester jedoch effektiver vor Oxidation als das *all-trans*-Isomer (NAKAGAWA et al., 1996).

2.3.3 L-Ascorbinsäure

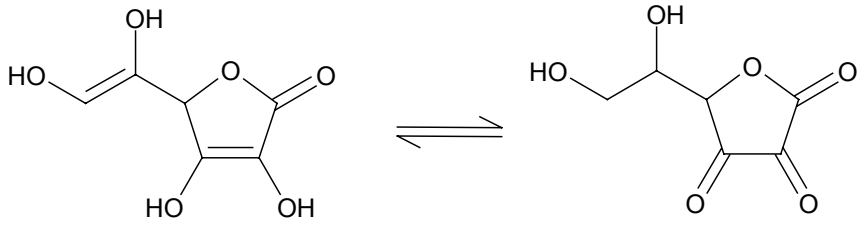


Abbildung 10: Strukturen von L-Ascorbinsäure (I) und Dehydroascorbinsäure (II)

L-Ascorbinsäure bzw. Vitamin C stellt das wichtigste Antioxidans im extrazellulären Fluid dar, da es sehr gut wasserlöslich ist. Aufgrund seiner konjugierten Endiolstruktur besitzt die L-Ascorbinsäure sowohl saure als auch reduzierende Eigenschaften. Es fängt bereits in einem frühzeitigen Stadium Wasserstoffperoxid, Superoxid-, Peroxyl- und Hydroxyl-Radikale unter Bildung der Dehydroascorbinsäure ab. Als Zwischenprodukte treten Monodehydro- bzw. Semidehydroascorbinsäure auf, die freie Radikale darstellen und die leicht mit sich selbst (Dimerisierung) oder mit anderen freien Radikalen reagieren (Scavenger-Funktion). Eine weitere Reaktion der ROS mit Lipiden wird somit im Vorfeld unterbunden und ein oxidativer Schaden vermieden. Wie bereits beschrieben (Kapitel 2.3.1) ist die L-Ascorbinsäure in der Lage, Tocopherol zu regenerieren, indem es das Tocopherol-Radikal reduziert. Ebenso vermag die L-Ascorbinsäure das Eisen(III) des Metmyoglobins zum Eisen(II) zu reduzieren, welches in Form freier Ionen prooxidativ wirken kann (FRANKEL, 1996). Mit L-Ascorbinsäure behandeltes Fleisch erscheint leuchtend rot. In Lebensmitteln vermag die L-Ascorbinsäure, auch Nitrat und oxidierte Phenole zu reduzieren (LIAO und SEIB, 1987; KITTS, 1997).

Die L-Ascorbinsäure ist ein ubiquitärer Wirkstoff, der wahrscheinlich in allen lebenden Organismen zur Aufrechterhaltung der Stoffwechselvorgänge benötigt wird (Absorption von Eisen, Hydroxylierungsvorgänge). Die L-Ascorbinsäure ist ein weißes, kris-

tallines Pulver, das in Wasser gut löslich, in wässriger Lösung aber wenig stabil ist. Besonders reich an Vitamin C sind pflanzliche Lebensmittel (Gemüse, Obst).

Die meisten Tiere und Pflanzen sind in der Lage, L-Ascorbinsäure selbst zu synthetisieren. Im Verlauf der Evolution verloren Menschen, Affen, fliegende Säugetiere, Meerschweinchen und einige Insekten die Fähigkeit zur Biosynthese aus Kohlenhydraten. Ihnen fehlt dazu aufgrund eines Gendefektes das Enzym L-Gulonolacton-Oxidase. Somit stellt die L-Ascorbinäure für Rinder keinen essentiellen Futterbestandteil dar, da sie selbst befähigt sind, diese zu synthetisieren (auch durch die Pansen-Mikroorganismen).

Die vollsynthetische Darstellung beginnt bei D-Glucose oder D-Fructose, die zunächst zu D-Sorbit reduziert werden. Hieran schließt sich eine biochemische Oxidation zur L-Sorbose an (*Acetobacter suboxydans*), die wiederum entweder direkt mit Sauerstoff/Platin oder über die Isopropylidenverbindungen mit Permanganat und anschließender Hydrolyse zur 2-Keto-L-gulonsäure weiterreagiert. Beim Erhitzen mit verdünnten Säuren tritt schließlich die γ-Lactonisierung zur L-Ascorbinsäure ein. Die Ausbeute über alle Stufen dieser Synthese beträgt 66 %.

Fettreichen Lebensmitteln wird L-Ascorbinsäure als Antioxidans aufgrund der besseren Fettlöslichkeit und Stabilität meist in Form des L-Ascorbylpalmitats zugesetzt. Im Verdauungstrakt findet dann eine hydrolytische Spaltung statt, und die L-Ascorbinsäure kann vollständig absorbiert werden (KLÄUI und PONGRACZ, 1982). Im gesamten Organismus ist die L-Ascorbinsäure anzutreffen, wobei die höchsten Konzentrationen in den Nebennieren (bis 400 mg/kg) und in der Hypophyse (bis 150 mg/kg) auftreten. Die Ausscheidung erfolgt über den Urin als L-Ascorbinsäure, Dehydroascorbinsäure, sowie in Form der Metabolite 2,3-Diketogulonsäure und Oxalsäure.

2.3.4 Enzymsysteme

Neben den oben beschriebenen niedermolekularen Antioxidantien sind im zellulären Raum des tierischen bzw. menschlichen Organismus verschiedene effektive Enzymsysteme vorhanden, die unter physiologischen Bedingungen einen wesentlichen Schutz vor oxidativer Schädigung offerieren (CHAUDIÈRE und FERRARI-ILIOU, 1999).

Katalase

Zu den Peroxidasen gehörend ist die Katalase in pflanzlichen und tierischen Geweben allgemein verbreitet und spaltet Wasserstoffperoxid in Sauerstoff und Wasser (Reaktion 12).

$$2\ H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2\ H_2O \qquad \text{Reaktion 12}$$

Bei aeroben Stoffwechselprozessen entsteht unter der Einwirkung von Oxidasen in Peroxisomen Wasserstoffperoxid, das von der gleichzeitig anwesenden Katalase sofort zersetzt wird.

Superoxid-Dismutase

Superoxid-Dismutase stellt eine Sammelbezeichnung für in allen Aerobiern vorkommende Metallproteine dar, die als Oxidoreduktasen das Radikalanion Hyperoxid („Superoxid“) in Wasserstoffperoxid und Sauerstoff umwandeln (Reaktion 13).

$$2\ O_2^- + 2\ H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2 \qquad \text{Reaktion 13}$$

Das mitochondriale Enzym enthält Mangan, die cytosolische Form je ein Kupfer- und Zink-Ion (HALLIWELL, 1999). Es ist sehr stabil gegenüber denaturierenden Agenzien. Hyperoxide werden durch Xanthin-Oxidasen bei Wiederdurchblutung an Sauerstoff verarmter Gewebe (Reperfusion) aber auch durch die NADPH-Oxidase bei Entzündungen bzw. durch ionisierende Strahlung und andere Vorgänge gebildet.

Glutathion-abhängiges System

Dieses System besteht aus dem Peptid Glutathion und zwei Enzymen: Glutathion-Peroxidase und Glutathion-Reduktase. Peroxide werden unter Katalyse der selenhaltigen Glutathion-Peroxidase reduziert (Reaktion 14). Essentielle Thiol-Gruppen von Proteinen werden durch reduziertes Glutathion (GSH) geschützt oder durch Reduktion regeneriert. Durch die NAD(P)H-abhängige, flavinhaltige Glutathion-Reduktase wird das oxidierte Glutathion (GSSG) zu GSH reduziert (Reaktion 15).

$$2\ GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2\ H_2O \qquad \text{Reaktion 14}$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2\ GSH + NADP^+ \qquad \text{Reaktion 15}$$

$$H_2O_2 + NADPH + H^+ \rightarrow 2\ H_2O + NADP^+ \qquad \text{(Gesamtreaktion)}$$

Ähnlich wie bei der Katalase ist das Hauptsubstrat Wasserstoffperoxid, es findet jedoch keine Disproportionierung des Peroxy-Sauerstoffes statt. Das beschriebene System dient in umfangreichem Maße dem Schutz des Hämoglobins im Blut bzw. des Myoglobins in den Muskelfasern, indem einer Oxidation des Eisen(II) durch Wasserstoffperoxid vorgebeugt wird (COHEN und AVISSAR, 1993; FLOHE, 1998).

Aus den FA entstandene Fettsäurehydroperoxide werden nicht durch die gewöhnliche Glutathion-Peroxidase reduziert, sondern durch ein spezielles Enzym, das geeignet ist, in PL enthaltene Fettsäurehydroperoxide umzusetzen. Dieses Enzym (Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathion-Peroxidase) ist sowohl in der Lage Wasserstoffperoxid als auch Fettsäurehydroperoxide zu Wasser bzw. Hydroxyfettsäuren zu reduzieren (DECKER und MEI, 1996).

2.3.5 Gesundheitliche Aspekte

Antioxidantien besitzen ein weites Wirkungsspektrum. Ihre Wirkung ist abhängig vom individuellen Bedarf der Menschen und von deren oxidativem Status. Die molekulare, zellbiologische, subklinische und klinische Wirkung der antioxidativ wirksamen Vitamine E, C und ß-Carotin konnte bereits in einer Vielzahl von Studien bestätigt werden (LIEBLER et al., 1986; FREI, 1989; LENGFELDER, 1998). Ebenfalls wird die Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen und die Vorbeugung von verschiedenen

Krebsformen durch Antioxidantien diskutiert (ZIEGLER, 1989; ROCCHI et al., 1991; FRANKE et al., 1994; KARDINAAL et al., 1995; PALAN et al., 1996; CHOI et al., 1999). Nach der Gabe von Vitamin E- und β-Carotin-Präparaten konnte eine Hemmung der Oxidation von LDL beobachtet werden. Somit stellen diese Antioxidantien wirksame Mittel zur Vorbeugung von Atherosklerose dar (JIALAL et al., 1991; REAVEN et al., 1993; VINSON et al., 1999). Die Häufigkeit von Herzinfarkten und Schlaganfällen kann ebenfalls durch den Vitamin E-Verzehr gesenkt werden (LENGFELDER, 1998).

Bei der gesundheitlichen Bewertung der im Rahmen dieser Untersuchungen verwendeten Antioxidantien muß zwischen der antioxidativen Wirkung und der Vitamin-Wirkung unterschieden werden, wobei eine genaue Abtrennung in den wenigsten Fällen möglich erscheint. Oxidative Schädigungen der Lipide führen zu einer Vielzahl degenerativer Erkrankungen wie Krebs, Atherosklerose und anderen koronaren Herzerkrankungen, auf die bereits in Kapitel 2.2.2 eingegangen worden ist. Umgekehrt bedeutet dies, dass jegliche Maßnahmen, die einer Schädigung der Lipide durch oxidative Prozesse entgegenwirken, einen mehr oder weniger ausgeprägten Schutz vor den erwähnten Erkrankungen darstellen.

Die Aktivität der körpereigenen enzymatischen Abwehr vor ROS ist über den Weg der Lebensmittel zwar stimulierbar aber in ihrem weiteren Ausmaße nicht beeinflussbar. Bei der Interpretation der Ergebnisse unterschiedlicher Studien ist neben einer kritischen Betrachtung des Versuchsprotokolls stets zu beachten, dass viele weitere Faktoren Einfluss auf die gesundheitliche Entwicklung von Menschen und Tieren haben (Genetische Prädisposition, gesundheitlicher Status, soziales Umfeld, Lebensstil etc.).

Im Folgenden sollen die gesundheitlichen Effekte der im Rahmen dieser Untersuchung eingesetzten Antioxidantien näher betrachtet werden.

Vitamin E

Die Wirkungen von Vitamin E sind vielfältig. Es leistet einen wesentlichen Beitrag bei der Aufrechterhaltung und Funktion des Immunsystems. Der Einfluß ist vorwiegend durch die Modulation der Synthese von Prostaglandinen aus membrangebundener Arachidonsäure begründet. Zusätzlich stellt Vitamin E ein wirksames Agens als Radikalfänger dar und verhindert die Reaktion von Nitriten zu Nitrosaminen, die teilweise in Verdacht stehen, cancerogen zu sein. Die Oxidation der LDL wird inhibiert, so dass neben der Atherosklerose-Prävention ein Schutz verschiedener Gewebe (Haut, Lunge) vor dem Einfluß von ROS gewährleistet ist (AHMAD, 1996). Die Häufigkeit von Herzinfarkten und Schlaganfällen kann ebenfalls durch einen erhöhten Vitamin E-Verzehr gesenkt werden (LENGFELDER, 1998). Hypovitaminosen äußern sich durch Beeinträchtigungen und zum Teil irreversiblen Schädigungen des Nerven-Systems. Bei einer Unterversorgung treten zudem Muskelschwäche und Fertilitätsstörungen ein.

Hypervitaminosen von Vitamin E sind weitgehend unbekannt. Untersuchungen haben gezeigt, dass bei einer erhöhten Zufuhr von Vitamin E der normale Alterungsprozess verlangsamt wird. Ebenso werden andere Vorgänge, deren Ursprung im Vorhandensein von ROS begründet sind, durch Antioxidantien unterbunden.

Während die antioxidative Wirksamkeit der acht Stereoisomere des α-Tocopherols gleich ist, da die antioxidative Aktivität lediglich von der Chromanolstruktur und der phenolischen Hydroxyl-Gruppe abhängig ist (KÖNIG, 1992), unterscheidet sich deren Vitamin E-Wirksamkeit deutlich. Letztere ist gleichzusetzen mit der biologischen Wertigkeit bzw. Bioaktivität, die die biologische Wirksamkeit einer Substanz beschreibt. Sie beinhaltet die biologische Verwertbarkeit und die (positiven) Einflüsse auf den Organismus unter Berücksichtigung der bereits oben beschriebenen Biodiskriminierung der einzelnen Stereoisomere (KAYDEN und TRABER, 1993, KREIMEIER und SCHMIDT, 1998).

Tabelle 3: Biologische Aktivität der acht Stereoisomere des α-Tocopherols

Stereoisomer	***Kurzform***	***Bioaktivität [%]***
2*R*,4'*R*,8'*R* *	*RRR*	100
2*R*,4'*R*,8'*S*	*RRS*	90
2*R*,4'*S*,8'*S*	*RSS*	73
2*S*,4'*S*,8'*S*	*SSS*	60
2*R*,4'*S*,8'*R*	*RSR*	57
2*S*,4'*R*,8'*S*	*SRS*	37
2*S*,4'*R*,8'*R*	*SRR*	31
2*S*,4'*S*,8'*R*	*SSR*	21

* Die biologische Wirksamkeit von *RRR*-α-Tocopherol beträgt definitionsgemäß 100 %.

Die acht Stereoisomere des *all-rac*-α-Tocopherols zeigen deutliche Unterschiede in ihrer biologischen Aktivität (siehe Tabelle 3). Eine Abschätzung erfolgt über verschiedene Modelle (WEISER und VECCHI, 1981, 1982; MACHLIN et al., 1982; LETH und SØNDERGAARD, 1983; WEISER et al., 1985, 1986; PONGRACZ et al., 1995).

Demzufolge besitzt synthetisches *all-rac*-α-Tocopherol nur ca. 60 % der Bioaktivität wie das natürlich vorkommende *RRR*-α-Tocopherol (mögliche synergistische Effekte zwischen den einzelnen Isomeren ausgeschlossen). Die Bioaktivität der Stereoisomere wird weitgehend durch die Konfiguration am C_2 des Chromanolringes aber auch durch die Konfiguration des $C_{4'}$ der Phytylseitenkette bestimmt. Die Konfiguration am $C_{8'}$ der Seitenkette ist weitgehend unbedeutend (WEISER und VECCHI, 1982; KREIMEIER und SCHMIDT, 1998)

Von dem über die Nahrung aufgenommenen Vitamin E werden etwa 70 % absorbiert (KAYDEN und TRABER, 1993; STAHL und SIES, 1996). Im Magen-Darm-Trakt des Menschen wird das in der Lebensmittel- und Futtermittelindustrie meist verwendete Vitamin E-Acetat zuvor hydrolysiert. Bei Rindern ist die Aufnahme von Vitamin E im Gegensatz zum Menschen abhängig von der Darreichungsform (Zusammmensetzung des Isomerengemisches, Vorliegen als freies α-Tocopherol oder α-Tocopheryl-

acetat) (BURTON et al., 1988). Es nimmt in folgender Reihenfolge ab: *RRR*-α-Tocopherol > *RRR*-α-Tocopherylacetat > *all-rac*-α-Tocopherol > *all-rac*-α-Tocopherylacetat (HIDIROGLOU et al., 1988) (siehe auch Kapitel 7).

Als Schätzwert für eine angemessene tägliche Zufuhr von Vitamin E werden 11 bis 17 mg *RRR*-α-Tocopherol-Äquivalente (16.4 bis 25.3 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat = 16.4 bis 25.3 IE) angegeben (DACH, 2000). Die Schwankungen berücksichtigen das Lebensalter und besondere Lebensumstände (z. B. Schwangerschaft). Die seitens der DGE empfohlene tägliche Zufuhr von Vitamin E berücksichtigt nicht die Aufnahme und Bildung von Radikalen durch Tabakrauch und Alkoholkonsum. Auch findet eine Ernährung mit hohen Anteilen PUFA keine Berücksichtigung (HARTFIEL, 1995). Die Toxizität von Vitamin E ist sehr gering. Eine tägliche Aufnahme bis zu 300 mg gilt für den erwachsenen Menschen als unschädlich. Als pharmakologisch wirksame Dosis geben PONGRACZ et al. (1995) einen Bereich von 200 bis 2000 mg Vitamin E pro Tag an. Bei einer täglichen Aufnahme von mehr als 100 mg Vitamin E wird von WILLETT (1994) eine Verringerung des Risikos koronarer Herzerkrankungen gesehen. Diätetische Empfehlungen sehen eine weitgehende Reduktion der Aufnahme von Fetten vor. Besonders pflanzliche Fette stellen jedoch die Hauptquelle von Vitamin E dar, so dass eine verringerte Aufnahme von Vitamin E vorauszusehen ist. Bei Einsatz von Vitamin E in der Tiermast profitiert der Verbraucher indirekt durch den Verzehr tierischer Produkte (HARTFIEL, 1995), zumal die Zufuhr von Vitamin E im Jahr 2000 unter der Empfehlung lag (DGE, 2001).

β-Carotin

Carotinoide mit einem oder zwei β-Iononringen weisen eine Vitamin A-Wirksamkeit auf. Von den über 600 Verbindungen der Carotinoide besitzen nur ca. 50 eine erwähnenswerte Wirkung von Vitamin A (DECKER und MEI, 1996; YANISHLIEVA et al., 1998). Das mit der Nahrung aufgenommene *all-trans*-β-Carotin wird bereits im Darm enzymatisch zu *all-trans*-Retinol gespalten, welches das eigentliche Vitamin A darstellt (OLSON, 1989) und mit Palmitinsäure zum weiteren Transport in den Chylomikronen verestert wird (TRABER et al., 1994).

Im menschlichen Organismus ist das β-Carotin für den Proteinstoffwechsel aller Zellen von Bedeutung. Eine positive Wirkung des β-Carotins auf das Immunsystem wird diskutiert (BENDICH, 1989). Auderdem wird dem β-Carotin sowohl eine antiatherogene (BLOCK und LANGSETH, 1994; LENGFELDER, 1998) als auch eine anticancerogene Wirkung zugesprochen (ZIEGLER, 1989; REDLICH et al., 1996). Bei Rauchern wurde ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko und eine erhöhte Sterblichkeitsrate bei der gleichzeitigen Einnahme von β-Carotin-Präparaten festgestellt (HEINONEN und ALBANES, 1994). Vermutlich ist dies auf die im Zigarettenrauch enthaltenen endogenen Peroxide und Reaktionsprodukte des Rauches mit β-Carotin zurückzuführen (BAKER et al., 1999).

Eine unzureichende Aufnahme von Vitamin A führt zur Nachtblindheit und später zur Degeneration von Epithelzellen, die sich an der epidermalen Haut, Schleimhäuten und besonders im Auge bemerkbar macht. Hypervitaminosen von Vitamin A äußern

sich bei Kleinkindern und Säuglingen in Knochendystrophie, Hauterkrankungen, Blutbildstörungen und Appetitlosigkeit. Weitere Symptome sind Kopfschmerzen, Übelkeit, Schlafstörungen und Haarausfall. Bei einer hohen Aufnahme von β-Carotin stellt sich keine Hypervitaminose ein, da in jenem Fall die Absorptionsrate und die Spaltung zu Retinol auf ein geringeres Niveau reguliert werden. Die DGE empfiehlt eine tägliche Zufuhr von 0.8 bis 1.5 mg *all-trans*-Retinol-Äquivalenten (4.8 bis 9 mg *all-trans*-β-Carotin = 2700 bis 5000 IE) (DACH, 2000), wobei die DGE (2001) festgestellt hat, dass die tägliche Zufuhr durchschnittlich geringer ist.

Vitamin C

Die biologische Aktivität der Vitamin C-Verbindungen ist maßgeblich von der Konfiguration am C_4 abhängig. Ein Mangel an Vitamin C wird durch Skorbutsymptome offenbar. Unter anderem treten eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit und Ermüdungserscheinungen, sowie eine Vielzahl unspezifischer Symptome auf. Vitamin C ist wesentlich an der Synthese von Kollagen, verschiedenen Hormonen und Neurotransmittern beteiligt. Das Immunsystem und die Fortpflanzungsfähigkeit werden ebenfalls direkt von Vitamin C beeinflusst. Ein positiver Effekt als Schutzsubstanz vor einigen Krebsformen und anderen Erkrankungen wird widersprüchlich diskutiert (PODMORE et al., 1998). Nachgewiesen sind geringere Schädigungen der DNA durch höhere Vitamin C-Gaben, was das Risiko mutationsbedingter Erkrankungen (u. a. Krebs) verringern kann. Eine Wirkung kann auch durch die chelatisierenden Eigenschaften der L-Ascorbinsäure hervorgerufen werden (LIAO und SEIB, 1987).

Die oral aufgenommene L-Ascorbinsäure passiert den Magen unverändert. Sie wird durch die Darmwand aufgenommen und im Körper durch Oxidation teilweise abgebaut. Im Verdauungstrakt bewirkt die L-Ascorbinsäure eine Reduktion des Fe(III) zu Fe(II), was zu einer verbesserten Eisenaufnahme führt. Außerdem wird die Synthese von Nitrosaminen minimiert (BORENSTEIN, 1987).

Bei Männern und Frauen, die eine sehr hohe Zufuhr von Vitamin C erhalten, sinkt die Mortalitätsrate in Folge kardiovaskulärer Erkrankungen im Vergleich zu jenen Individuen, die äußerst geringe Mengen L-Ascorbinsäure zu sich nehmen (BLOCK und LANGSETH, 1994).

Die DGE empfiehlt eine tägliche Zufuhr von 100 bis 150 mg Vitamin C (DACH, 2000), die auch mit der durchschnittlichen Ernährung erreicht wird (DGE, 2001).

2.4 Arbeitsplan

Das Hauptziel der Forschung in dem beschriebenen Kontext ist die Erhöhung der Qualität des Rindfleisches. Unter Berücksichtigung ökonomischer Gesichtspunkte sollen durch gezielte Zufütterung die Parameter Fett und Fettbegleitstoffe und deren Beeinflussbarkeit mit dem Schwerpunkt der Antioxidantien eingehender und die Möglichkeit der Produktion eines vor Lipidoxidation besser geschützten Fleisches untersucht werden.

Im Vordergrund stehen zunächst die Entwicklung und Optimierung von Methoden, die Aussagen über einen Effekt der Supplementierung ermöglichen. Eine Wirkung kann nur eintreten, wenn die Futterzusätze von den Rindern aufgenommen werden und in das Zielgewebe gelangen, so dass zunächst eine Methode zur quantitativen Bestimmung von α-Tocopherol und β-Carotin in den verschiedenen Gewebetypen entwickelt werden sollte.

Ein weiteres vorrangiges Ziel ist es außerdem, das Fettsäuremuster der einzelnen Lipidfraktionen (CE, TG, PL) zu bestimmen, um Aussagen über eine mögliche Beeinflussbarkeit mit Antioxidantien-Zusätzen und deren Beitrag zur Erhöhung der oxidativen Stabilität des Fleisches zu treffen. Hier liegt ein besonderer Schwerpunkt in Hinblick auf eine Vermeidung der Bildung von Fettsäurehydroperoxiden und damit eine Veränderung des Fettsäuremusters (besonders bei den PUFA). Die Wahrscheinlichkeit, einen Einfluss feststellen zu können, steigt mit dem prozentualen Anteil der oxidationsempfindlichen PUFA, so dass die Fettsäurespektren der PUFA-reichen Lipidfraktionen CE und PL sowie deren Unterfraktionen eingehend untersucht werden sollen. Entsprechende Methoden zur Lipidfraktionierung mittels Festphasenextraktion (SPE) und Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) müssen zuvor entwickelt werden.

Weiterhin soll neben den bereits genannten indirekten Methoden ein direkter Nachweis der antioxidativen Wirkung geführt werden. Die direkte Bestimmung der antioxidativen Kapazität des Muskelgewebes und der Plasmaproben soll dann im Kontext der Futtersupplemente diskutiert werden. Die antioxidative Wirkung soll zusätzlich indirekt beschrieben werden, indem die Konzentrationen an sekundären Fettoxidationsprodukten bestimmt werden.

In vorhergehenden Arbeiten von TIMM (2000) konnte gezeigt werden, dass hinsichtlich der Bildung sekundärer Lipidoxidationsprodukte ein wesentlicher Beitrag von α-Tocopherol ausgeht. Im Rahmen der Tiermast und auch in den unten beschriebenen Fütterungsversuchen wird meistens vollsynthetisches α-Tocopherol verwendet. Um eine Aussage über die Metabolisierung und eventuelle Biodiskriminierung der einzelnen Isomere im Organismus des Rindes und über die Bioverfügbarkeit der einzelnen Isomere treffen zu können, ist eine Trennung der Stereoisomere erforderlich. Unter Umständen ist es möglich, eine Bewertung der Effektivität der Supplementierung aufgrund der erhaltenen Ergebnisse vorzunehmen. Unter Berücksichtigung des veränderten Konsumverhaltens der Verbraucher zu mehr „Öko“-Produkten könnte die Verteilung der Stereoisomere des α-Tocopherols zudem als Nachweis

einer Ergänzung des Futters mit *all-rac*-α-Tocopherol dienen.

Die optimierten und validierten Methoden sollten abschließend für die Untersuchungen an Geweben zweier Fütterungsversuche (siehe Kapitel 6.1 und 6.3) mit verschiedenen Fütterungsstrategien angewendet werden. Vergleichende Untersuchungen hinsichtlich des Geschlechtes (Jungbullen und Färsen), der Mastintensität, Stallhaltung bzw. Weidegang, einer Abhängigkeit vom Rauhfutter, MS bzw. GS, sowie einer Veränderung in Abhängigkeit der Beigabe antioxidativ wirksamer Futtersupplemente (α-Tocopherylacetat, β-Carotin bzw. L-Ascorbinsäure) sollen durchgeführt werden.

Ein Lagerungsversuch mit kommerziell erhältlichem Muskelfleisch soll die Veränderungen der antioxidativen Kapazität und der MDA-Gehalte über einen Zeitraum von sechs Monaten dokumentieren. Dabei werden unterschiedliche Lagerungstemperaturen verglichen.

Die Ergebnisse werden statistisch mit Hilfe der Software SPSS ® (Version 10) ausgewertet. Die Mittelwerte der einzelnen Fütterungsgruppen werden bei vorliegender Normalverteilung der Einzelwerte mittels T-Test auf signifikante Unterschiede untersucht. Dabei werden folgende Grenzen festgelegt: Irrtumswahrscheinlichkeit (p) kleiner als 0.05 bedeutet einen signifikanten Unterschied. Wenn p kleiner als 0.01 ist, wird von einem hoch signifikanten Unterschied ausgegangen, während bei p kleiner als 0.001 die Signifikanz sehr hoch ist. Post-hoc-Test-Prozeduren zeigen homogene Untergruppen an. Sollten die Einzelwerte nicht normalverteilt sein, erfolgt die statistische Auswertung mit nichtparametrischen Tests (Median, Box-Plots).

3 Untersuchungsmaterial

3.1 Deutsches Fleckvieh

Die Rinderrasse „Deutsches Fleckvieh“ geht auf Tiere im Berner Oberland (Simmental) zurück, die bereits im Mittelalter als großwüchsige, gescheckte Rinder bekannt waren. Die Rinderrasse entstand durch Einkreuzung einheimischer Landschläge Anfang des 19. Jahrhunderts. Erste Zuchtgebiete lagen bei Meßkirch, Miesbach und Bayreuth.

Als Rassenkennzeichen ist nach HAMPEL (1995) der weiße dominante Kopf mit hellem unpigmentiertem Flotzmantel anzusehen. Die Farbe des Haarkleides zeigt verschiedene Farbabstufungen vom dunklen Rotbraun bis zum hellen Gelb auf weißem Grund auf. Der Bauch sowie Beine und Schwanzquaste sind überwiegend weiß. Die Bullen sind durch gelockte Haare an der Stirn, am Hals und an den Schulterpartien und einen ausgeprägten Triel an der Halsunterseite gekennzeichnet (siehe Abbildung 11 und Abbildung 12).

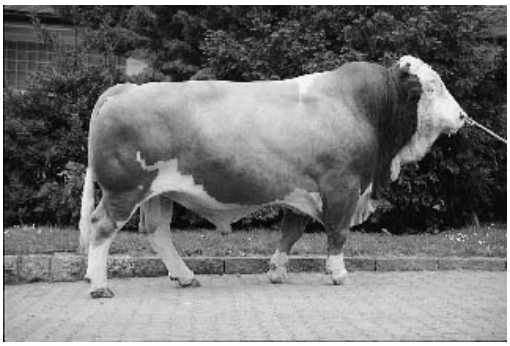


Abbildung 11: Deutscher Fleckvieh-Bulle

Abbildung 12: Deutsche Fleckvieh-Kuh

Das „Deutsche Fleckvieh“ ist ein Zweinutzungsrind mit sowohl hoher Milch- als auch Fleischleistung. Die gute wirtschaftliche Nutzbarkeit wird über ein hohes Futteraufnahmevermögen in Verbindung mit hoher Leistung, regelmäßiger Fruchtbarkeit, Frohwüchsigkeit und Anpassungsvermögen erreicht.

Die durchschnittliche Milchleistung beträgt zwischen 5000 und 6000 kg bei einem relativ hohen Fettgehalt von durchschnittlich 4.12 g/100 ml und einem Eiweißgehalt von durchschnittlich 3.48 g/100 ml. Aufgrund der sehr guten Fleischqualität hat sich die Rasse auch in der Rindermast bewährt, da die Tiere auch in der Endmast ein noch relativ hohes Fleischwachstum aufweisen, ohne zu verfetten.

3.2 Fütterungsversuche

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurden an Geweben von Tieren aus zwei Fütterungsversuchen vorgenommen. Die Fütterungsversuche wurden durch das Department für Tierwissenschaften - Bereich Tierernährung der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan durchgeführt und die Proben freundlicherweise zu Untersuchungszwecken zur Verfügung gestellt. Die Tiere wurden auf Gut Hirschau aufgezogen. Die Mast der Tiere vor und während der Fütterungsversuche erfolgte nach in Europa standardisierten Verfahren. Eine ausführliche Beschreibung der Fütterungsversuche befindet sich in den Kapiteln 6.1 und 6.3.

3.3 Schlachtung

Bei möglichst geringem Schlachtstress wurden die Tiere nach Erreichen des Schlachtgewichtes geschlachtet, nachdem sie über einen Zeitraum von 20 Stunden kein Futter erhalten hatten. Die Schlachtung erfolgte auf einem kommerziellen Schlachthof. Dabei wurde das Tiermaterial dem üblichen Schlachtprozeß unterworfen.

3.4 Proben

Direkt nach der Schlachtung wurden Proben der Leber, des Nierenfettes und des Blutes entnommen. Letzteres wurde zentrifugiert und das Plasma sowie sie anderen Proben bis zur späteren Analyse bei mindestens -21 ± 2 °C gelagert.

48 Stunden nach der Schlachtung wurde den Schlachtkörpern die Teilstücke des langen Rückenmuskels (Bereich zwischen 8. und 12. Rippe, Hochrippe, Roastbeef, *musculus longissimus dorsi*, MLD) und der Keule (*musculus semitendinosus*, MST) entnommen und zur Bundesanstalt für Fleischforschung in Kulmbach verbracht. Dort wurden Proben für die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit entnommen. Die Muskelgewebeproben wurden vakuum-verpackt und tiefgefroren gelagert. Mit einmaliger Unterbrechung der Kühlkette wurden die Proben an das Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie der Universität Hamburg versandt, wo sie bis zu den Untersuchungen im Eisschrank bei mindestens -21 ± 2 °C gelagert wurden. Einzelheiten zur Versuchsdurchführung und zur Schlachtung wurden von SCHWARZ et al. (1998) und AUGUSTINI et al. (1998) für einen früheren Fütterungsversuch beschrieben, sind aber mit Ausnahme der Rationsgestaltung identisch mit denen der Fütterungsversuche in dieser Arbeit.

4 Methoden

In diesem Abschnitt werden die verwendeten Methoden dargestellt, die sich aus den Ergebnissen der Methodenentwicklungen bzw. -optimierungen (Kapitel 5) ableiten.

4.1 Bestimmung der Antioxidantien

Extraktion des Gewebes und des Plasmas

4 g Gewebe bzw. 2 g Fett werden fein zerkleinert in 50 ml-Schraubdeckelgefäße (Braunglas) eingewogen, in die zuvor L-Ascorbinsäure als Antioxidans gegeben wurde. Nach der Zugabe von 40 %-iger wässrig-methanolischer Kaliumhydroxid-Lösung (KOH-Lsg.) wird der Gefäßinhalt mit Stickstoff begast und das Gefäß sogleich dicht verschlossen. Es schließt sich eine Hydrolyse bei 80 °C (60 min) unter gelegentlichem Umschütteln an, nach der verdünntes Ethanol (EtOH) hinzugefügt wird. Zur Extraktion werden 5 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) zugegeben und geschüttelt. Nach der Zentrifugation wird 1 ml entnommen, das Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernt und der Rückstand in Tetrahydrofuran (THF) und absolutem (abs.) EtOH aufgenommen. Aus dieser Lösung erfolgt die Quantifizierung mit Hilfe der HPLC (siehe Kapitel A 2.1.1.1).

Für die Bestimmung der Antioxidantien in Plasmaproben werden jeweils 0.1 g L-Ascorbinsäure als Antioxidans in ein Pyrexglas vorgelegt, in das anschließend 500 µl Plasma gegeben werden. Nach der Zugabe von weiteren 500 µl abs. EtOH wird mit Stickstoff begast, das Gefäß dicht verschlossen und kräftig geschüttelt. Zur Unterstützung der Denaturierung werden die Gefäße 5 min bei 80 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird 1 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) zugegeben und geschüttelt. Von dem Überstand werden 500 µl in ein Vial überführt, das Lösungsmittel wird unter dem Stickstoffstrom entfernt und der Rückstand in THF und abs. EtOH gelöst. Diese Lösung wird für die Quantifizierung mittels HPLC verwendet (siehe Kapitel A 2.1.1.2).

Quantitative Bestimmung

Die Identifizierung und Quantifizierung der Antioxidantien und des Retinols erfolgt mittels Umkehrphasen (RP)-HPLC mit isokratischer, wasserfreier Elution. Retinol und α-Tocopherol werden mit Fluoreszenzdetektion (FD), β-Carotin mit einem UV-Vis-Detektor erfasst. Die Berechnung der quantitativen Zusammensetzung erfolgt über die Peakflächen nach der externen Standard-Methode. Die Kalibrierung erfolgt durch Berechnung der Geradenfunktion mit Hilfe der linearen Regression (siehe Kapitel A 2.1.2).

Statistische Verfahrenskenndaten

Die Korrelationskoeffizienten (vier Konzentrationsstufen, drei Parallelbestimmungen) betragen 0.9983 und 0.9999. Mittels Standardadditionsverfahren wurden Wiederfindungsraten von 96 bis 103 % (α-Tocopherol), 93 bis 99 % (Retinol) und 79 bis 84 % (β-Carotin) ermittelt. Die Variationskoeffizienten lagen unter 4 %.

4.2 Bestimmung der Fettsäuremuster

Extraktion des Gewebes und des Plasmas

Jeweils 5 g von den Randschichten befreites Gewebe werden in ein Zentrifugenglas eingewogen und drei Mal mit Dichlormethan/Methanol (DCM/MeOH) (2:1; v:v) sowie einmal mit *n*-Hexan unter Verwendung eines Ultra-Turrax bzw. Ultraschallbades extrahiert. Die gesammelten Extrakte werden an einem Rotationsverdampfer eingeengt, der Rückstand in wassergesättigtem DCM und *n*-Hexan gelöst. Ein aliquoter Teil dieses Rohextraktes wird für die Lipidfraktionierung verwendet (siehe Kapitel A 2.2.1.1).

Das Nierenfett wird durch Erwärmen in der Mikrowelle ausgeschmolzen und ca. 0.2 g in 5 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) gelöst. Diese Lösung wird für die Bestimmung des Gesamtfettsäuremusters eingesetzt (siehe Kapitel A 2.2.1.2).

Die Plasmaproben werden ähnlich wie Muskel- und Lebergewebeproben durch mehrfaches Schütteln mit DCM/MeOH extrahiert. Der Extrakt wird mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und mit methanolischer BHT-Lsg. versetzt, bevor das Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernt wird. Der Rückstand wird in *n*-Hexan gelöst und zur Lipidfraktionierung eingesetzt (siehe Kapitel A 2.2.1.3).

Fraktionierung der Lipide mittels SPE

Für die Fraktionierung werden Silica-SPE-Kartuschen verwendet, die zuvor mit *n*-Hexan und wassergesättigtem DCM konditioniert wurden. Aliquote Anteile der Rohextrakte werden auf die Säule pipettiert und die einzelnen Fraktionen mit *n*-Hexan/Chloroform, *n*-Hexan/Diethylether und MeOH/Wasser nach folgendem Schema eluiert (siehe Abbildung 13):

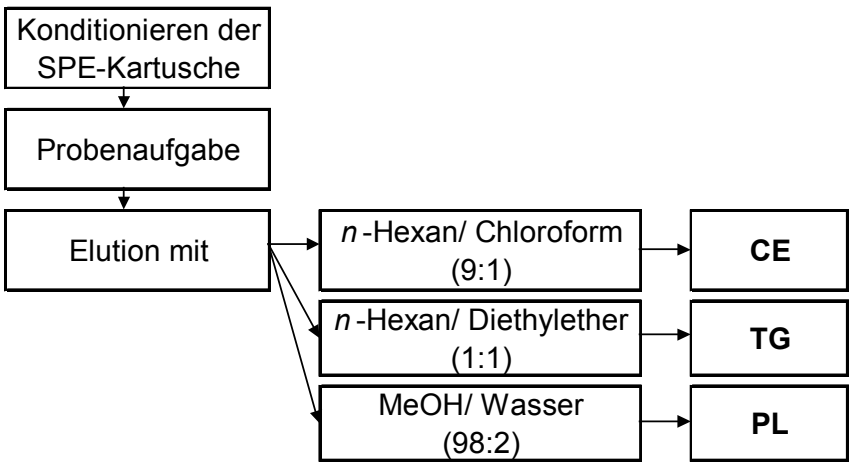


Abbildung 13: Elutionsschema zur Lipidfraktionierung mittels SPE

Die Elutionsvolumina sind abhängig von der Art des Rohextraktes (siehe Kapitel A 2.2.2).

Fraktionierung der Lipide mittels HPLC-ELSD

Vor der Injektion wird ein aliquoter Teil des Rohextraktes unter dem Stickstoffstrom zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird in *n*-Hexan/Chloroform aufgenommen und in die HPLC injiziert. Gemeinsam eluieren CE und TG, die einzelnen PL werden jeweils fraktioniert gesammelt. PI und PS koeluieren. Die CE und TG enthaltende Mischfraktion wird erneut unter dem Stickstoffstrom eingeengt und in wenig *n*-Hexan gelöst. Die Trennung erfolgt mit einem anderen (isokratischen) chromatographischen System. Bei beiden chromatographischen Systemen befindet sich vor dem verwendeten Lichtstreudetektor (ELSD) ein Split-Ventil, welches nur 10 % des Eluates in die Detektorzelle gelangen lässt, während die verbleibenden 90 % fraktioniert gesammelt werden (siehe Kapitel A 2.2.3).

Derivatisierung und Bestimmung der Fettsäuren

Zur Bestimmung des Gesamtfettsäurespektrums des Nierenfettes wird das gelöste Fett mit methanolischer KOH-Lsg. (11 %) versetzt. Die fest verschlossenen Gefäße werden geschüttelt und nach 10 min neutralisiert. Zur Verdünnung wird weiterhin *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) hinzugegeben. Die überstehende organische Phase wird für die gaschromatographische Bestimmung abgenommen (siehe Kapitel A 2.2.4.1).

Die CE- und TG-enthaltenden Eluate der Fraktionierung mittels SPE bzw. die Eluate der Fraktionierung mittels HPLC werden zunächst unter dem Stickstoffstrom bis zur Trockne eingeengt und mit *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) aufgenommen. Es werden jeweils 0.5 ml methanolische Kaliummethylat-Lsg. (5 g/100 ml) zugegeben, die Gefäße dicht verschlossen und geschüttelt. Die Derivatisierung findet bei 60 °C für 60 min im Trockenschrank statt (für CE: 90 min). Nach dem Abkühlen wird mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert und der Überstand nach Zentrifugation abgenommen. Nach weiterer Verdünnung mit *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) bzw. Konzentrierung unter dem Stickstoffstrom erfolgt die gaschromatographische Bestimmung der Fettsäuremethylester (FAME) (siehe Kapitel A 2.2.4.2 und A 2.2.4.4).

Zu den 30 ml der PL-Fraktion (SPE) werden 1.2 ml methanolische KOH-Lsg. (11 %) gegeben. Die Gefäße werden dicht verschlossen, geschüttelt und für 15 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Unter Verwendung von Universalindikatorstreifen wird mit verdünnter Salzsäure neutralisiert. Zur Extraktion der FAME wird 1 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) hinzugegeben und geschüttelt. Die Gefäße werden jeweils bis zur Halsverengung mit entmineralisiertem (entm.) Wasser aufgefüllt, zentrifugiert und die organischen Phasen in Vials (Braunglas) überführt. Nach entsprechender Verdünnung werden die Extrakte in den Gaschromatographen (GC) injiziert (siehe Kapitel A 2.2.4.3).

Die Identifizierung der einzelnen FA erfolgt gaschromatographisch über den Vergleich mit Retentionszeiten eines externen Standards. Nach der normalisierten Prozent-Methode erfolgt die Quantifizierung über die Peakflächen unter Berücksichtigung der zuvor bestimmten Response-Faktoren. Bei der Berechnung der CLA-Ge-

halte wird der Response-Faktor der nicht konjugierten Linolsäure berücksichtigt (siehe Kapitel A 2.2.5).

Statistische Verfahrenskenndaten

Der FAME-Standard und der CLA-Standard wurden mehrfach injiziert. Bei Nutzung des Autosamplers wurden nach jeweils 30 Proben die beiden Standards erneut injiziert und die Responsefaktoren aktualisiert. Die Variationskoeffizienten der einzelnen Responsefaktoren schwanken sehr wenig (weniger als < 2.8 %).

4.3 Bestimmung der antioxidativen Kapazität

Extraktion des Muskelgewebes und des Plasmas

Die noch tiefgefrorenen Fleischproben werden von den Randschichten mit einem Skalpell befreit und innerhalb einer Minute in einer Moulinette zu einem Brei zerkleinert. 5 g dieses Muskelgewebehomogenates werden in ein Schraubdeckelgefäß (Braunglas) eingewogen. Nach Zusatz des Extraktionsmittels, einem Gemisch aus Aceton, EtOH und entm. Wasser (50:40:10; v:v:v), und Trichloressigsäure-Lsg. wird der Gefäßinhalt mit Stickstoff begast, dicht verschlossen und 30 min horizontal geschüttelt. Die Extraktionsansätze werden zentrifugiert und die überstehenden Lösungen durch zwei Faltenfilter filtriert. Die Extrakte werden mit Stickstoff begast und bis zur baldigen Messung im Dunkeln bei ca. -21 ± 2 °C gelagert.

Das Plasma kann nach dem Auftauen und Mischen direkt zur Bestimmung eingesetzt werden (siehe Kapitel A 2.4.1).

Messung der antioxidativen Kapazität

1960 µl der auf 37 °C temperierten grünblau gefärbten 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure) (ABTS)-Arbeitslösung werden jeweils in eine Einmal-Küvette gegeben und die Extinktion bei 734 nm abgelesen. 6 min nach der Zugabe von 40 µl des Muskelextraktes bzw. Plasmas wird erneut die Extinktion abgelesen. Die Extinktionsdifferenz ist proportional zur antioxidativen Kapazität. Die Auswertung erfolgt über eine Kalibriergerade, die durch Messung verschiedener Konzentrationen von Trolox erhalten wird (siehe Kapitel A 2.4.2).

Statistische Verfahrenskenndaten

Die Methodenvalidierung ergab einen Korrelationskoeffizienten bei Verwendung von Trolox in fünf Konzentrationsstufen (jeweils drei Parallelbestimmungen) in drei unterschiedlichen Lösungsmitteln von r = 0.998. Die Variationskoeffizienten sind auf jeder Konzentrationsstufe kleiner als 5.7 %.

4.4 Bestimmung von MDA

Extraktion des Muskelgewebes und des Plasmas

Mit einem Skalpell werden die Randschichten der noch tiefgefrorenen Fleischproben entfernt. Diese werden grob zerkleinert in eine Moulinette gegeben und innerhalb einer Minute zu einem Brei zerkleinert. 5 g dieses Muskelgewebehomogenates werden in ein Schraubdeckelgefäß (Braunglas) eingewogen. Nacheinander werden Trichloressigsäure-Lsg. (10 g/100 ml), ethanolische BHT-Lsg. (0.3 g/100 ml) und entm. Wasser hinzugegeben. Der Gefäßinhalt wird mit Stickstoff begast, die Gefäße sodann dicht verschlossen und 30 min horizontal geschüttelt. Die Extraktionsansätze werden zentrifugiert und die überstehenden Lösungen durch einen Faltenfilter filtriert. Die Extrakte werden mit Stickstoff begast und bis zur Messung bei ca. -21 ± 2 °C gelagert (siehe Kapitel A 2.3.1.1).

Von dem Plasma wird nach dem Auftauen und sorgfältigen Durchmischen 1 ml in ein Pyrexglas überführt und mit Trichloressigsäure-Lsg. sowie ethanolischer BHT-Lsg. versetzt. Die weitere Aufarbeitung ist analog zu den Muskelproben. Eine Filtration ist in den meisten Fällen nicht notwendig, da der nach der Zentrifugation verbleibende Überstand ungetrübt ist (siehe Kapitel A 2.3.1.2).

Derivatisierung des MDA

Zur Derivatisierung wird jeweils 1 ml der Extrakte eingesetzt. Zu diesen werden jeweils in einem Pyrexglas Lösungen mit Antioxidantien (reduziertes Glutathion und BHT), 1,3-Diethyl-2-thiobarbitursäure (DETBA)-Lsg. und Eisen(III)-chlorid-Lsg. gegeben. Der Reaktionsansatz wird auf dem Vortex-Mixer durchmischt und 30 min bei 95 °C im Wasserbad unter gelegentlichem Schütteln inkubiert. Zur Kühlung werden die Reaktionsgefäße 10 min in ein Eisbad gestellt, bevor jeweils 2 ml Ethylacetat und 0.2 ml KOH-Lsg (60 %) hinzugegeben werden. Vor der Zentrifugation erfolgt eine sorgfältige Durchmischung mit dem Vortex-Mixer. Der violett-gefärbte Überstand wird in ein Probenvial überführt und für die Bestimmung mittels HPLC eingesetzt (siehe Kapitel A 2.3.2).

Quantitative Bestimmung des DETBA-MDA-Adduktes

Die quantitative Bestimmung des MDA als DETBA-MDA-Addukt erfolgt mittels RP-HPLC-FD. Die Berechnung erfolgt über die Peakflächen einer Kalibriergerade externer Standards. Letztere wurden durch Umsetzen definierter Mengen MDA analog zur oben beschriebenen Methode hergestellt (siehe Kapitel A 2.3.3).

Statistische Verfahrenskenndaten

Jeweils dreimal in fünf unterschiedlichen Konzentrationen wurden Standardadditionen zur Validierung der Methode vorgenommen. Der Korrelationskoeffizient beträgt für die Matrixkalibrierung r = 0.991. Unter Berücksichtigung der geringen Konzentrationen ist ein Verfahrensvariationskoeffizient von 6.0 % als zufriedenstellend anzusehen. Die Wiederfindungsraten betragen 66 % (Muskelgewebe) bzw. 87 % (Plasma).

4.5 Bestimmung der Stereoisomere des α-Tocopherols

Extraktion der Gewebeproben und Reinigung der Rohextrakte

Die Extraktion der Muskelgewebeproben erfolgt wie bereits bei der Extraktion der Antioxidantien beschrieben. Der komplette Hydrolyseansatz wird in einen Scheidetrichter überführt und zwei Mal mit *n*-Hexan ausgeschüttelt. Das Lösungsmittel der kombinierten Extrakte wird unter dem Stickstoffstrom entfernt und der Rückstand in ca. 50 µl n-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) aufgenommen. Diese Lösung wird mittels Normalphasen (NP)-HPLC analysiert und die α-Tocopherol-enthaltende Fraktion gesammelt. Das Eluat wird erneut unter dem Stickstoffstrom zur Trockne eingeengt und der Rückstand in *n*-Hexan aufgenommen. Bis zur Derivatisierung wird diese Lösung bei -80 °C gelagert (siehe Kapitel A 2.5.1 und A 2.5.2).

Derivatisierung zum α-Tocopherylmethylether

Der gereinigte Extrakt wird in ein Reaktions-Gefäß überführt und das Lösungsmittel durch Begasen mit Stickstoff entfernt. Der Rückstand wird in 50 µl Ethylenglycoldimethylether gelöst. Im stark alkalischen Milieu wird die Veretherung bei Raumtemperatur mit Dimethylsulfat vollzogen. Nach Ablauf der Reaktionszeit wird das Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernt und Wasser hinzugesetzt. Der α-Tocopherylmethylether wird mit *n*-Hexan aus dem Reaktionsansatz extrahiert. Zur Reinigung des Extraktes wird dieser zunächst wieder eingeengt und mittels NP-HPLC unter den o. g. chromatographischen Bedingungen entwickelt. Die den Methylether des α-Tocopherols enthaltende Fraktion wird gesammelt und bis zur weiteren Durchführung bei ca. -80°C gelagert (siehe Kapitel A 2.5.3 und A 2.5.4).

Quantitative Bestimmung des α-Tocopherylmethylethers

Die quantitative Bestimmung des α-Tocopherylmethylethers erfolgt mittels HPLC auf einer speziellen Trennsäule (Chiralcel OD-H). Als Detektor dienen ein Photodiodenarray-Detektor und ein FD. Aufgrund fehlender Referenzstandards wird über die relativen Peakflächen der einzelnen Stereoisomere (2*R*-Isomere) bzw. die Summe der 2*S*-Isomere ausgewertet. Die Retentionszeiten werden zuvor mit den α-Tocopherylmethylethern des racemischen α-Tocopherols bestimmt (siehe Kapitel A 2.5.5).

Statistische Verfahrenskenndaten

Im Rahmen der Validierung wurden durch Dreifachbestimmung auf vier Konzentrationsstufen Variationskoeffizienten für die Summe der 2*S*-Isomere, für das *RRS*-, für das *RSS*-, für das *RRR*- und für das *RSR*-Isomer von kleiner als 3.7 % ermittelt. Als Standards dienten *all-rac*-α-Tocopherol und *RRR*-α-Tocopherol.

5 Ergebnisse und Diskussion der Methodenentwicklungen

5.1 Bestimmung der Antioxidantien

In der Literatur wird eine Vielzahl an Bestimmungsmethoden für Antioxidantien beschrieben. Bewährte Bestimmungsmethoden für β-Carotin sind die Säulenchromatographie, aber auch dünnschichtchromatographische und HPLC-Methoden werden oft eingesetzt. Recht empfindlich und spezifisch für Retinol sind neben der GC die HPLC, die Fluoreszenzmessung und die Photometrie nach spezifischen Reaktionen (z. B. Carr-Price-Reaktion) (TEE und LIM, 1991). Vitamin E kann ebenfalls mittels HPLC oder GC bestimmt werden. Weiterhin sind empfindliche Bestimmungsmethoden die Photometrie, die Fluoreszenz, die Polarographie und die Emmerie-Engel-Methode, die vielfach modifiziert wurde (BOURGEOIS, 1992). Aus zeitlichen und finanziellen Gründen bietet es sich an, die Quantifizierung der Antioxidantien und des Retinols simultan durchzuführen.

5.1.1 Auswahl der Bestimmungsmethode

Während α-Tocopherol und Retinol nach Derivatisierung mit Trimethylchlorsilan in Bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamid (BSTFA) parallel mittels GC bestimmt werden können (SLOVER et al., 1983; MARASCHIELLO und GARCIA REGUEIRO, 1998), ist β-Carotin auch durch Derivatisierung nicht in für die GC erforderliche flüchtige Verbindungen überführbar. Neben einem großen zeitlichen Aufwand bei der Herstellung der Derivate ist auch eine verlängerte Analysenzeit einzukalkulieren. Die HPLC ist also die Methode der Wahl. Sie lässt eine gleichzeitige Analyse aller drei Analyte bei relativ geringer thermischer Belastung in einem Durchgang zu. Dabei ist der apparative, analytische und zeitliche Aufwand relativ gering.

Als stationäre Phasen gelangen sowohl NP als auch RP zur Anwendung (HOLLMAN et al., 1993). Bei der Trennung von Carotinoiden ist die schwach saure Oberfläche von Kieselgel als stationäre Phase zu bedenken, die zu einer teilweisen Zerstörung der Analyte führen kann (RIZZOLO und POLESELLO, 1992). Die bisher etablierte Methode zur Bestimmung des α-Tocopherols (NP-HPLC-FD) lässt sich nicht auf die genannte Problematik adaptieren, da mit β-Carotin und Retinol zwei zusätzliche, in ihrer Polarität und anderen physikalischen Eigenschaften unterschiedliche Analyte eine quantitative Bestimmung deutlich erschweren. Aufgrund der Polaritätsunterschiede der Analyte bietet sich eine Bestimmung mit RP-HPLC an. Die Vorteile der Verwendung von RP im Vergleich zu NP sind neben der bereits erwähnten Möglichkeit zur Trennung in ihrer Polarität sehr unterschiedlicher Analyte, die schnellere Äquilibrierung und geringe Anfälligkeit gegen Wasser im Elutionsmittel, welches schon in Spuren zu nicht reproduzierbaren Verschiebungen der Retentionszeiten bei der NP-HPLC führen kann.

In der Literatur findet sich eine Vielzahl an Lösungsmittelgemischen, die bei der Bestimmung von Carotinoiden, Tocopherolen und Retinol verwendet werden. Die mei-

sten Eluenten waren wasserfrei und bestanden aus zwei oder drei organischen Lösungsmitteln, denen teilweise Puffersalze oder andere ionische Modifier zugesetzt wurden. HESS et al. (1991) und BUI (1994) trennten α-Tocopherol, β-Carotin und Retinol mit einem Gemisch aus Acetonitril (ACN)/THF/MeOH mit einem Zusatz von 1 g/100 ml Ammoniumacetat. Eine gute Trennung unterschiedlicher Carotinoide gelang NELIS und DE LEENHEER (1983) durch Kombination von ACN und DCM mit Diisopropylether, THF, Chloroform und Ethylacetat. Mit EtOH/ACN mit 0.1 ml/l Dimethylamin wurden ebenfalls sehr gute Trennungen der Tocopherole, der Carotinoide und des Retinols vollzogen (SOWELL et al., 1994). ITO et al. (1990) und ARNAUD et al. (1991) verwendeten als mobile Phase ein Gemisch aus ACN/DCM/MeOH (70:20:10; v:v:v), welches für die eigenen Untersuchungen übernommen wurde.

In vielen Methoden wird die Verwendung eines oder mehrerer interner Standards (IS) beschrieben (UEDA und IGARASHI, 1987, 1990; OLMEDILLA et al., 1992; RUPÉREZ et al., 1998). Als IS dienen für die Bestimmung der Tocochromanole Tocol, α-Tocopherylacetat, Vitamin K_1 oder 2,3,5,7,8-Pentamethyl-6-chromanol. bzw. Ester des Retinols für die Bestimmung des freien Retinols. Für die Quantifizierung des β-Carotins werden als IS verschiedene Carotinoide vorgeschlagen. Der Einsatz der veresterten Analyte als IS ist, bedingt durch die alkalische Hydrolyse im Verlauf der Extraktion, nicht möglich. Durch Standardadditions-Versuche konnten zudem gute bis sehr gute Wiederfindungsraten bei zufriedenstellender Reproduzierbarkeit ermittelt werden, so dass auf die Verwendung eines IS verzichtet werden kann.

Durch Wahl geeigneter Chromatographiebedingungen (stationäre Phase, mobile Phase, Fließgeschwindigkeit und Säulendimensionen) konnte eine gute Trennung der drei Analyte innerhalb einer kurzen Analysendauer (15 Minuten) erreicht werden. Die Elution wurde isokratisch im Recyclingmodus durchgeführt. Hierdurch konnten große Lösungsmittelvolumina eingespart werden, was trotz der Toxizität des verwendeten DCM dessen Verwendung rechtfertigte. Der Eluent wurde bei zu unruhiger Grundlinie und/oder stark erhöhter Basislinie ausgewechselt. Um deutliche Temperaturunterschiede im Verlauf einer Messreihe zu vermeiden, wurde ein Säulenofen installiert, der konstante Retentionszeiten gewährleistete.

Zur Detektion können neben den elektrochemischen Eigenschaften der Antioxidantien (LANG et al., 1986: MACCREHAN und SCHÖNBERGER, 1987) neben der universellen massenselektiven Detektion (MSD) auch die fluoreszierenden bzw. absorbierenden Eigenschaften der Analyte ausgenutzt werden. Die Detektion erfolgte im Rahmen der Untersuchungen durch mehrere hintereinander geschaltete Detektoren. Allen Analyten gemein ist eine Absorption im UV-Bereich. Retinol, α-Tocopherol und β-Carotin absorbieren jedoch in unterschiedlichen UV-Bereichen, so dass zur Detektion entweder ein Diodenarray-Detektor (DAD) oder ein zeitlich programmierbarere UV-Detektor verwendet werden müsste (MILLER und YANG, 1985; BARUA et al., 1993). Beide Detektorarten standen zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Untersuchungen nicht zur Verfügung. Durch Ausnutzung der Fluoreszenzeigenschaften sowohl des Retinols als auch des α-Tocopherols kann weitaus empfindlicher und selektiver detektiert werden. Schließlich erfolgte die Detektion durch einen UV-Vis- und zwei in

Reihe geschaltete FD. Eine nennenswerte, durch Longitudinaldiffusion bedingte Peakverbreiterung konnte nicht beobachtet werden.

5.1.2 Extraktion der Antioxidantien

Die Extraktion von α-Tocopherol, β-Carotin und Retinol aus den teilweise komplexen Matrices (Leber- und Muskelgewebe) soll mit einer schnellen, einfachen und eine Zerstörung der Analyte vermeidenden Aufarbeitung möglichst vollständig erfolgen. Durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Analyte bedingt würde sich eine einfache Isolierung gemeinsam mit anderen lipophilen Substanzen durch Extraktion mit einem lipophilen Lösungsmittel anbieten. Jedoch enthalten die derart hergestellten Extrakte nicht zu vernachlässigende Mengen freier FA und TG, deren Anwesenheit bei Einsatz der NP-HPLC zwar wenig stört aber bei Verwendung der RP-HPLC zu Störungen führen kann. Eine Abtrennung der Analyte aus diesem Rohextrakt lässt sich durch wiederholte Flüssig/Flüssig-Extraktion mit wenig polareren Extraktionsmitteln (z.B. EtOH, ACN) erreichen, wobei dieses Verfahren zwar kaum zu thermischer Belastung, jedoch zu einem großen Verbrauch organischer Lösungsmittel führt (GERTZ und HERMANN, 1983). Weiterhin ist diese Methode zeitaufwändig und führt im Falle des β-Carotins zu unbefriedigenden Extraktionsleistungen. Die Dünnschichtchromatographie (TLC) und säulenchromatographische Trenntechniken (Gelpermeation, HPLC, überkritische Flüssigkeitschromatographie) sind ebenfalls mit enormen Zeit- und/oder Geräteaufwand verbunden (GERTZ, 1983; LESELLIER et al., 1993). BOURGEOIS und CIBA (1988) verwendeten zur Extraktion von Retinol und α-Tocopherol aus fettreichen Proben SPE-Säulen. Auch hier ergeben sich Analytverluste durch oxidative Veränderungen infolge des Kontaktes mit Luftsauerstoff (KORMANN, 1980).

Eine Methode zur spezifischen Bestimmung des membrangebundenen α-Tocopherols stellen KAGAN et al. (1990) vor. Die quantitative Erfassung der Analyte aus den komplexen Gewebematrices ist nur nach vorhergehender Zerstörung derselben möglich. Ein Gewebeaufschluß zur Freisetzung der Analyte ist durch enzymatische oder alkalische Hydrolyse möglich (CANNON et al., 1996). Neben den TG und PL können auch die Proteine und andere Inhaltsstoffe hydrolysiert werden. Die freien FA liegen im alkalischen Milieu als Seifen vor und lassen sich durch einfache Extraktion mit einem unpolaren Lösungsmittel ebenso abtrennen wie die Aminosäuren und andere verseifbare Inhaltsstoffe. Im Extrakt sind sämtliche unverseifbaren Bestandteile enthalten, die bei Anwendung der alkalischen Hydrolyse nicht deprotoniert sind. Eine entsprechende Reaktionsgeschwindigkeit stellt sich sowohl bei der enzymatischen als auch besonders bei der alkalischen Hydrolyse erst bei erhöhten Temperaturen ein, die allerdings zu unerwünschten Veränderungen (Isomerisierung und/oder Oxidation) führen kann (AUBERT et al., 1991; LESELLIER et al., 1993; PANFILI et al., 1994). RIZZOLO und POLESELLO (1992) haben die beiden Hydrolysemethoden bei der Analytik der fettlöslichen Vitamine (E, D, K und A) miteinander verglichen und keine signifikanten Unterschiede feststellen können. Aufgrund der Randbedingungen kann die enzymatische Hydrolyse als schonender angesehen werden, jedoch sprechen

der hohe Kostenaufwand und die große Anzahl der beabsichtigten Analysen gegen ihren Einsatz.

Im Rahmen dieser Arbeit wird die von PFALZGRAF et al. (1995) optimierte Methode verwendet, die eine alkalische Hydrolyse bei 80 °C und eine anschließende einmalige Flüssig/Flüssig-Extraktion mit *n*-Hexan vorsieht. Aus dem Inneren der noch tiefgefrorenen Gewebeproben werden an unterschiedlichen Stellen Stücke mit dem Hohlbohrer entnommen. Hierdurch gelingt es, die durch die naturgemäß unterschiedliche Fetteinlagerung und Verteilung der Antioxidantien entstehenden Fehler zu minimieren. Zusätzlich werden die zum Teil durch die Bildung von Metmyoglobin bräunlich verfärbten Randschichten entfernt, da bei diesen offensichtlich bereits eine oxidative Schädigung eingetreten ist. Neben dieser deutlich sichtbaren oxidativen Veränderung werden unter Licht- und Sauerstoffeinwirkung auch die in den Randschichten lokalisierten Antioxidantien zerstört, der Schutz der Lipide bricht zusammen (SIMKOVSKY und ECKER, 1998). Beim Wiederauftauen der Proben ist zu beachten, dass durch das Tiefgefrieren eine Zerstörung der Gewebestruktur einhergeht. Eisen(II)-Ionen können als wirksame Katalysatoren die Lipidoxidation in den geschädigten Membranabschnitten beschleunigen. Bei der Aufarbeitung wird ein Schutz der Lipide durch Verwendung lichtgeschützter Apparaturen (Braunglasflaschen oder mit Aluminiumfolie umwickelte Flaschen), Begasung des Flascheninhaltes mit Stickstoff und einen Zusatz von L-Ascorbinsäure erzielt (LANG et al., 1986; PFALZGRAF et al., 1995; CANNON et al., 1996). Die in der Methode von PFALZGRAF et al. (1995) angegebenen Probeneinwaagen und Volumina (Hydrolysierungs- und Extraktionsmittel) mussten dem aktuellen Problem angepasst werden (ARNOLD et al., 1993b). Vor der Extraktion mit *n*-Hexan werden den Hydrolyseansätzen verdünnte EtOH-Lsg. zugesetzt, die ein sofortiges Gelieren der Seifen beim Abkühlen verhindern soll. Zum Schutz vor weiterer Oxidation enthält das Extraktionsmittel 0.01 g/100 ml BHT (GUILLOU et al., 1993; LANG et al., 1986; TALWAR et al., 1998). *n*-Hexan hat sich als geeignetes Extraktionsmittel erwiesen, da es aufgrund seines unpolaren Charakters eine gleichzeitige Extraktion der drei Analyte ermöglicht. Eine einmalige Extraktion erweist sich als ausreichend (LANG et al., 1986).

Serum bzw. Plasma-Proben besitzen eine vollständig andere Zusammensetzung und ein anderes Gefüge als Leber- oder Muskelgewebe. Zur Freisetzung der Antioxidantien ist keine Hydrolyse des umgebenden Gewebes erforderlich. Lediglich die Denaturierung der Lipoproteine ist notwendig. Um eine fortschreitende Zerstörung der Antioxidantien und des Retinols während der Extraktion zu verhindern wird dem Plasma zuvor L-Ascorbinsäure zugesetzt (TEE und LIM, 1991). Die Denaturierung und Extraktion erfolgen in abgedunkelten Räumen und in mit Aluminiumfolie umwickelten Gefäßen. Die Eigenschaften des Denaturierungsmittels sowie dessen zugesetztes Volumen sind entscheidende Einflussfaktoren für eine vollständige Extraktion der Analyte (UEDA und IGARASHI, 1987). Als Denaturierungsmittel werden abs. EtOH (NILSSON et al., 1978) und 2-Propanol (STAHL et al., 1993) zum Teil unterstützt durch Wärmeeinwirkung verwendet. TALWAR et al. (1998) fügten vor der Zugabe des Denaturierungsmittels (EtOH) Wasser hinzu, was in Vorversuchen zu

geringeren Antioxidantienausbeuten führte. Im weiteren Verlauf ist das Extraktionsverfahren vergleichbar mit dem für die Gewebe beschriebenen. Die Extraktion erfolgt mit *n*-Hexan, das 0.01 g/100 ml BHT enthält (GUILLOU et al., 1993; TALWAR et al., 1998). Auch hier erweist sich eine einmalige Extraktion als ausreichend (LANG et al., 1986).

all-trans-β-Carotin isomerisiert in seine verschiedenen *trans-cis*-Isomere, wenn es über einen längeren Zeitraum in unpolaren Lösungsmitteln (z. B. *n*-Heptan oder *n*-Hexan) gelöst vorliegt (LESELLIER et al., 1993). Dieser Effekt konnte bei den untersuchten Proben ebenfalls beobachtet werden. Im HPLC-Chromatogramm wird dies als mehr oder weniger stark ausgeprägte Schulterbildung am *all-trans*-β-Carotin-Peak bzw. Bildung von Doppelpeaks sichtbar. In diesen Fällen werden für die Quantifizierung die Flächen beider Peaks addiert und der Gehalt als *all-trans*-β-Carotin berechnet. Besonders bei den Proben des Muskel- und Lebergewebes ließ sich eine längere Lagerung der *n*-Hexan-Extrakte nicht vermeiden, da diese erst nach Zentrifugation und Lagerung des Extraktionsgefäßes für mehrere Stunden bei -21 ± 2 °C eine ausreichende Phasentrennung aufwiesen, die eine Entnahme des Überstandes ermöglichten. Auch GERTZ und HERMANN (1983) verwendeten das Tiefgefrieren zur Unterstützung der Phasentrennung. Dieses Problem trat bei den Plasma-Proben aufgrund des fehlenden Verseifungsschrittes nicht auf. In Modellversuchen mit vergleichbaren Verseifungsbedingungen stellten KIMURA et al. (1989) Verluste von 16 bis 25 % des β-Carotins fest, was die Wiederfindungsrate von 80 % bei den eigenen Versuchen bestätigt.

Da die Quantifizierung mittels HPLC auf RP-Phasen stattfinden soll, ist ein Lösungsmittelwechsel erforderlich. Hierfür wird ein aliquoter Anteil der überstehenden Extraktionslösung entnommen und in ein Probenvial (Braunglas) überführt. Das *n*-Hexan wird im sanften Stickstoffstrom abgeblasen, wobei das verbleibende BHT als Antioxidans und der Stickstoff als Schutzgas dienen. Eine weitestgehender Schutz des Retinols, des α-Tocopherols und des β-Carotins vor oxidativer Schädigung ist somit sichergestellt. Der Rückstand wird zur Lösung des β-Carotins mit 100 µl THF versetzt und anschließend mit 900 µl abs. EtOH verdünnt. Die Probenvials werden sofort verschlossen und bis zur baldigen Messung (innerhalb einer Woche) bei mindestens -21 ± 2 °C gelagert.

Zur Lösung des β-Carotins wurde von TALWAR et al. (1998) ebenfalls THF verwendet. Statt des abs. EtOH verdünnten sie jedoch mit einem aliquoten Teil der mobilen Phase, die aus MeOH, ACN und THF bestand. Die Verwendung des von HESS et al. (1991) vorgeschlagenen Lösungsmittelgemisches aus gleichen Teilen EtOH und Dioxan hatte eine unvollständige Lösung des β-Carotins zur Folge. Im Gegensatz zur Extraktion von α-Tocopherol und β-Carotin erwies sich eine einmalige Extraktion mit *n*-Hexan zur vollständigen Extraktion des Retinols im Lebergewebe als nicht ausreichend. Aus diesem Grund erfolgte eine quantitative Betimmung des Retinols nur in den Plasmaproben.

5.2 Bestimmung der Fettsäuremuster

Ein Einfluss der mit dem Futter aufgenommenen antioxidativ wirkenden Substanzen sollte auch in der Zusammensetzung des Fettsäurespektrums erkennbar sein. Aufgrund der Oxidationsempfindlichkeit der PUFA scheint besonders in PUFA-reichen Fetten ein Effekt wahrscheinlich. Vor der Bestimmung der Fettsäuremuster im Gesamtfett bzw. in den einzelnen Lipidfraktionen müssen die Lipide aus der Matrix mit einem geeigneten Extraktionsverfahren isoliert werden. Entscheidend für die Auswahl der Methode sind ein möglichst geringer Zeitaufwand, um den Kontakt mit Luftsauerstoff zu minimieren, ein relativ breites Polaritätsspektrum des Extraktionsmittels, um die sehr unpolaren CE und TG sowie die polaren PL vollständig zu extrahieren.

5.2.1 Extraktion der Lipide

Aufgrund des zeitlichen Aufwandes scheidet die Extraktionsmethode nach vorherigem Säureaufschluss (nach Weibull-Stoldt) und anschließender Soxhlet-Extraktion mit *n*-Hexan oder Petrolether aus. Jedoch ist eine Zerstörung der Zellstruktur von entscheidender Wichtigkeit, um die in den Membranen lokalisierten PL mitzuerfassen. Viele in der Literatur beschriebene Methoden haben zusätzlich den Nachteil einer hohen thermischen Belastung. Die Soxhlet-Extraktion verwendeten CANNON et al. (1996). Ihnen gelang die Extraktion mit Petrolether aus vorher im Vakuum-Trokkenschrank bei 70 °C über 12 Stunden getrocknetem Muskelgewebe. MITSUMOTO et al. (1998) extrahierten die Fette aus Muskelfleisch ebenfalls durch Soxhlet-Extraktion mit Diethylether innerhalb von 16 Stunden. Der Einsatz von Diethylether als Extraktionsmittel wird aufgrund seiner Neigung zur Bildung hochexplosiver Peroxide abgelehnt. Ausserdem würden die Etherperoxide die Autoxidation der Lipide begünstigen.

Die meisten in der Literatur erwähnten Extraktionsmethoden basieren auf der bewährten Methode von FOLCH et al. (1957), die oftmals unverändert übernommen oder leicht modifiziert worden ist (REAVEN et al., 1993; FÜLLNER und WIRTH, 1996; STOLL, 1996; LESKANICH et al., 1997; NÜRNBERG et al., 1997). Diese Methode sieht eine Extraktion mit einem Gemisch aus Chloroform und MeOH (2:1, v:v) bei gleichzeitiger Zerkleinerung des Gewebes im Potter-Elvehjem-Homogenisator vor. Feste Materialien sollen zunächst mit Mörser und Pistill unter Trockeneiskühlung zerkleinert werden. Für größere Extraktionsansätze wird die Verwendung eines Blendors zur Homogenisation unter Zusatz des zu extrahierenden Gewebes empfohlen. PIISPA et al. (1996) schlugen zur Extraktion zwei Lösungsmittelgemische aus *n*-Hexan und 2-Propanol (1:1; v:v) und Chloroform und MeOH (1:1; v:v) vor. Auch im Rahmen dieser Untersuchungen werden zwei unterschiedliche Extraktionsmittel verwendet. Die Lipide werden nach der schonenden Methode von BLUNK und STEINHART (1990) mit DCM/MeOH (2:1; v:v) und *n*-Hexan unter Verwendung eines Ultra-Turrax extrahiert. Hierfür werden aus dem Inneren der noch tiefgefrorenen Gewebeproben an unterschiedlichen Stellen Stücke mit dem Hohlbohrer entnommen. Wie bei der Extraktion zur Bestimmung der Antioxidantien gelingt es hierdurch, die unterschiedliche Fettein-

lagerung zu berücksichtigen. Durch die Verwendung des polaren Lösungsmittelgemisches können die polaren und ein Teil der unpolaren Lipide extrahiert werden. Bei der abschließenden Behandlung mit *n*-Hexan gehen auch die übrigen unpolaren Bestandteile (TG und CE) in das Lösungsmittel über. MeOH unterstützt durch Denaturierung ein Ablösen der polaren Lipide von den Proteinen, welches in Zusammenwirken mit der durch die Homogenisiergeräte (Ultra-Turrax und Ultraschallbad) bedingten Gewebezerstörung eine vollständige Extraktion der Lipide ermöglichen soll (BLUNK und STEINHART, 1990). Durch die mechanische Zerstörung der Gewebsstrukturen und durch das Einwirken von Ultraschallwellen kommt es zu einer Freisetzung thermischer Energie, die nach SIMKOVSKY und ECKER (1998) in Gegenwart von Luftsauerstoff zu einer Schädigung der MUFA und PUFA führen kann. Dieser Temperaturerhöhung wird durch Eiskühlung während der Homogenisation und der Extraktion im Ultraschallbad entgegengewirkt.

Eine vollständige Extraktion konnte durch mehrfache Extraktion mit dem Gemisch DCM/MeOH (2:1; v:v) und einmalige Extraktion mit *n*-Hexan erzielt werden. Dabei wurde lediglich bei der ersten Extraktion der Ultra-Turrax verwendet. Zwei weitere Extraktionen mit dem Lösungsmittelgemisch und eine abschließende mit *n*-Hexan wurden im Ultraschallbad nach sorgfältiger Durchmischung durchgeführt. Vor jeder neuen Extraktion wurden die unlöslichen Bestandteile durch Zentrifugation abgetrennt und die Extrakte gesammelt. Durch den hohen Wasseranteil des im Vakuum eingeengten Extraktes und der Oberflächenaktivität der PL tritt eine emulsionsbedingte Trübung der Rohextrakte auf. Da unterschiedliche Wassergehalte in den Rohextrakten zu nicht reproduzierbaren Trennungen bei der sich anschließenden Fraktionierung führen würden, wurde nach Zusatz von DCM mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Dabei ist zu beachten, dass genau so viel Natriumsulfat zugegeben wird, dass die Trübung gerade verschwindet. Anschließend wird filtriert, der Natriumsulfat-Rückstand mehrfach mit *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) gewaschen und der Rohextrakt damit auf ein definiertes Volumen (10 ml) aufgefüllt. Somit kann auch von einer nahezu einheitlichen Konzentration an Lipiden vor der Fraktionierung ausgegangen werden.

Die Isolierung der Lipide aus dem Nierenfett ist weitaus weniger aufwändig wie die Extraktion des Leber- und Muskelgewebes, da es nahezu reines Fettgewebe darstellt. Dieses Fett besteht fast ausschließlich aus TG und kann in der Mikrowelle ausgeschmolzen werden. Im Gegensatz zu TIMM (2000), die das Nierenfett durch Ausschmelzen im temperierten Trockenschrank vornahm, konnte hierdurch eine lange andauernde thermische Belastung vermieden werden. Das Nierenfett besteht zum größten Teil aus glyceridisch gebundenen SFA und erhärtet umgehend beim Abkühlen. Eine Fraktionierung in die einzelnen Fettklassen ist für das Nierenfett nicht vorgesehen, da es hauptsächlich der Bereitstellung von Energiereserven und als mechanischer Schutz der Nieren dient. Nierenfett enthält fast keine PL.

Die Plasma-Lipide werden wie bei TIMM (2000) durch mehrfaches Ausschütteln mit DCM/MeOH (2:1; v:v) extrahiert. Da kein komplexer Zellverband wie im festen Gewebe vorliegt, ist eine Behandlung mit dem Ultra-Turrax nicht notwendig. Durch

dreimalige Extraktion konnten die Plasma-Lipide vollständig erfasst werden. Wie bei den bereits beschriebenen Geweben unterstützt MeOH durch Denaturierung der Lipoproteine die Extraktion. Da das Plasma im Wesentlichen aus Wasser besteht, enthält auch der Extrakt nicht unerhebliche Mengen davon, die vor der Lipidfraktionierung abgetrennt werden müssen, um eine reproduzierbare Fraktionierung auf den Kieselgel-Kartuschen zu erreichen. Zu diesem Zweck werden die Extrakte durch Natriumsulfat filtriert. Zum Schutz vor weiterer oxidativer Schädigung wird BHT in Form einer methanolischen Lösung hinzugegeben. Da der hohe DCM-Anteil im Rohextrakt einer fraktionierten Trennung mittels SPE entgegensteht, wird der Rohextrakt unter dem Stickstoffstrom zur Trockne eingeengt und mit wenig *n*-Hexan wieder aufgenommen. Dieser Extrakt kann dann für die Fraktionierung verwendet werden.

5.2.2 Fraktionierung der Lipide mittels SPE

TIMM (2000) konnte bei der Untersuchung der Fettsäure-Spektren des Gesamtfettes keine auf Futtersupplemente zurückzuführenden Unterschiede in den Geweben feststellen. Die Schwankungen der Einzelwerte innerhalb der Fütterungsgruppen waren zu groß, um signifikante Differenzen ausmachen zu können. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass auch Veränderungen innerhalb der Fettsäurezusammensetzung in Abhängigkeit vom Grundfutter und eventuellen Supplementen eintreten. Um diese fütterungsbedingten Einflüsse zu erkennen, ist neben der Analyse des Gesamtfettes (nur Nierenfett) die quantitative Zusammensetzung der Fettsäurespektren der einzelnen Lipidhauptklassen (CE, TG und PL) zu untersuchen. Besonders in den PUFA-reichen Fraktionen CE und PL werden aufgrund ihrer Empfindlichkeit gegenüber Oxidation bzw. ihres Schutzes vor Oxidation durch Antioxidantien Unterschiede erwartet. Zur präparativen Fraktionierung in die Lipidhauptklassen war zunächst eine geeignete Methode zu etablieren.

Um ausreichende Ausbeuten der einzelnen Lipidfraktionen zu erhalten bieten sich verschiedene Trennverfahren an. Eine Trennung in TG, freie FA, CE und PL erzielten MCEVOY et al. (2000) mit Hilfe der TLC. Ebenfalls mit einer eindimensionalen Entwicklung bei der TLC konnten auch SUZUKI et al. (1993) und MCDONALD et al. (1996) eine Trennung in die Lipidhauptklassen erzielen. Weiterhin sind TLC-Methoden beschrieben, die eine Trennung der PL in die einzelnen PL-Unterklassen leisten. Es handelt sich hierbei meist um zweidimensionale Entwicklungen der TLC-Platte (GIBSON et al., 1992; FOURNIER et al., 1995; MIWA et al., 1996). Allen Methoden ist gemeinsam, dass nach erfolgter Entwicklung der TLC-Platte der Spot der gewünschten Fraktion ausgekratzt und die Lipidfraktion mit einem geeigneten Lösungsmittel vom Sorbens gelöst werden muss. Für die TLC wird als stationäre Phase meistens Kieselgel verwendet. Für die saubere und schnelle Trennung kleinerer Substanzmengen auch Hochleistungsdünnschichtchromatographie (HPTLC)-Platten. Die Visualisierung der Lipidfraktionen nach der Entwicklung der TLC-Platte kann mit verschiedenen nicht destruktiven Reagenzien erfolgen (z. B. Iod, Rhodamin B oder 2',7'-Dichlorfluorescein). Da die dünnschichtchromatographische Trennung sehr zeitaufwändig ist und durch das Auskratzen der stationäre Phase Analytverluste auf-

treten, wurde ein Einsatz der TLC zur Fraktionierung der Lipide ausgeschlossen.

Vielfach finden auch säulenchromatographische Trennmethoden Anwendung in der Lipidfraktionierung. Mittels HPLC ist eine Trennung in die Neutrallipide (CE und TG) und polaren Lipide (PE, PS, PI und PC) in einem chromatographischen Lauf möglich (VAN DER MEEREN et al., 1988; PATTON et al., 1990; DE MEULENAER et al., 1995; MOREAU et al., 1995; SUREL et al., 1995; OLSSON et al., 1996). Als Trennsäulen werden Kieselgel- oder Diolphasen verwendet. Detektiert wird entweder mittels UV-Detektor (205 bzw. 206 nm) oder mit einem Lichtstreudetektor. Die HPLC stellt eine geeignete Methode zur Lipidfraktionierung dar. Allerdings sind die Anforderungen an die Reinheit der Elutionsmittel und damit der finanzielle Aufwand sehr hoch. Die Trennleistung der HPLC ist überragend und für das vorliegende Trennproblem bereits zu gut.

Im Rahmen dieser Arbeit bietet sich die SPE als Trenntechnik besonders an. Die Vorzüge dieser Technik sind die schnelle Durchführbarkeit, die leichte Handhabung, der Verbrauch minimaler Lösungsmittelvolumina und die Reproduzierbarkeit der Trennung bei Einhaltung der Randbedingungen (KALUZNY et al., 1985). Durch Kombination von zehn Aminopropyl-SPE Kartuschen erzielten sie eine Trennung in CE, TG, PL, freie FA, Mono- und Diglyceride, Glycero-PL und freies Cholesterol. FRITSCHE (1998) modifizierte diese Methode und reduzierte den Materialaufwand auf eine einzige Aminopropyl-SPE-Kartusche, auf der die Lipide humanen Plasmas fraktioniert wurden. Diese Methode wurde auch von TIMM (2000) zur Fraktionierung der Rinder-Seren erfolgreich eingesetzt. Ausgehend von dieser Methode wurde deren Anwendbarkeit auch auf die Fraktionierung der Plasma-Proben der aktuellen Fütterungsversuche und auf einen Plasma-Modellstandard angewendet. Die Reinheit der Fraktionen wurde mittels HPTLC überprüft. Hierbei wurde festgestellt, dass eine Trennung besonders der CE und TG aufgrund veränderter Trenneigenschaften der Aminopropyl-SPE-Säulen nicht gegeben ist. Weder die Modifikation der Elutionsmittel noch die Verwendung einer stationären Phase anderer Hersteller vermochten eine Trennung dieser beiden Fraktionen zu ermöglichen. Lediglich eine saubere Abtrennung der PL von den TG wurde erzielt. Die SPE auf Aminopropyl-Säulen konnte nicht hinreichend adaptiert werden. BLUNK und STEINHART (1990) entwickelten ein geeignetes SPE-Verfahren auf Kieselgel-Kartuschen, mit dem sie PL aus Rindfleisch von anderen Lipiden abtrennten. Kieselgel ist aufgrund seiner Fähigkeit zur Ausbildung polarer Wechselwirkungen für die Trennung polarer Bestandteile aus unpolaren Matrices besonders geeignet (VAN HORNE, 1993). Durch Modifikation der Elutionsmittel gelang auf diesen Säulen sowohl eine Trennung der Gewebe- als auch der Plasmaextrakte, wobei freies Cholesterol zusammen mit den TG eluierte (Freies Cholesterol stört die weitergehende Analytik nicht.). Zuvor wurde die Robustheit und Reproduzierbarkeit der Trennung anhand von Modellstandards, die sich aus definierten Mengen CE, TG, PL und freiem Cholesterol zusammensetzten, überprüft. Entscheidend für eine reproduzierbare Fraktionierung ist eine ausreichende Konditionierung des Sorbens. Diese erfolgte mit *n*-Hexan und wassergesättigtem DCM. Das Wasser führt zu einer teilweisen Deaktivierung der freien Silanolgruppen des Kieselgels und

vermindert eine zu starke Retardierung der polaren PL. Weiterhin wurde beobachtet, dass bei DCM-Anteilen über 50 % im aufgegebenen Rohextrakt eine Retardierung der enthaltenen CE und TG nicht gegeben ist. Die Elution erfolgt mit *n*-Hexan/Chloroform (9:1; v:v), *n*-Hexan/Diethylether (1:1; v:v) und MeOH/Wasser (98:2; v:v) nach dem in Abbildung 13 dargestellten Elutionsschema. In regelmäßigen Zeitintervallen und Wechsel der Kartuschen-Charge wurde die Reinheit der Fraktionen erneut mittels HPTLC überprüft. Im Vergleich zu dem bisher genutzten Verfahren mit Aminopropyl-SPE-Säulen stellt bei den Kieselgel-SPE-Kartuschen das Volumen des für die Elution der PL benötigten wässrigen MeOHs einen entscheidenden Nachteil dar. Eine Verringerung dieses Elutionsvolumens wäre nur bei einer weitergehenden Deaktivierung der freien Silanolgruppen möglich, was die Trennung der CE und TG unmöglich machen würde. Auf verschiedene Weise wurde versucht, die SPE-Kartuschen zu regenerieren und erneut zu verwenden. Trotz Konditionierung war jedoch eine reproduzierbare Trennung bei erneuter Verwendung nicht gegeben, so dass die SPE-Säulen wie vom Hersteller vorgesehen nach einmaligem Gebrauch verworfen wurden.

5.2.3 Fraktionierung der Lipide mittels HPLC-ELSD

Im weiteren Verlauf der Untersuchung ergaben sich bei TIMM (2000) in der PL-Fraktion die auffälligsten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen. Um zu überprüfen, ob ein direkter Zusammenhang mit der Futtersupplementierung besteht, erscheint es sinnvoll, die PL weiter in ihre einzelnen Unterklassen zu fraktionieren. In dem heterogenen Gemisch der PL sind direkte Einflüsse kaum zu erkennen, so dass eventuell in den Fettsäurespektren der PE, PI, PS oder PC auf Futtersupplemente zurückzuführende Unterschiede nachgewiesen werden können. Eine präparative Fraktionierung der PL-Unterklassen kann vorzugsweise mit der TLC oder der HPLC erreicht werden. Die Vor- und Nachteile der TLC-Methoden von GIBSON et al. (1992), FOURNIER et al. (1995) und MIWA et al. (1996) wurden bereits im vorigen Kapitel diskutiert.

Für die Fraktionierung bietet sich die HPLC an. Wie bereits beschrieben, erzielen die meisten Methoden eine Trennung der Neutrallipide (CE und TG, koeluierend), PE, PI, PS und PC in einem chromatographischen Lauf (VAN DER MEEREN et al., 1988; MOREAU et al., 1995; SUREL et al., 1995; OLSSON et al., 1996; STITH et al., 2000). Für diese Arbeit stand jedoch nicht nur eine Trennung der Neutrallipide von den PL-Unterklassen, sondern auch die gleichzeitige Trennung von CE und TG im Vordergrund. CHRISTIE (1985) und darauf aufbauend HOMAN und ANDERSON (1998) stellten Methoden vor, mit der die gewünschte Trennung erreicht werden soll. Aufgrund der starken Polaritätsunterschiede ist der Einsatz eines ternären Gradienten erforderlich. CHRISTIE (1985) verwendete einen ternären Gradienten aus Iso-Octan/THF, Isopropanol/Chloroform und Isopropanol/Wasser. Im Rahmen der Methodenentwicklung stand als Detektor zunächst nur ein DAD zur Verfügung. Um die Lipide empfindlich zu erfassen, sollte bei einer Wellenlänge von 205 bzw. 206 nm (MCNABB et al., 1999) detektiert werden. DE MEULENAER et al. (1995) trennten die PL von Sojalecithin prä-

parativ unter UV-Detektion bei 214 nm. Dies erforderte wiederum den Einsatz von Elutionsmitteln, die in diesem UV-Bereich noch durchlässig sind. Da die HPLC lediglich der Fraktionierung und nicht der Quantifizierung dienen soll, ist die Möglichkeit der Derivatisierung zur besseren Detektion nicht gegeben. Ausgehend von dem von CHRISTIE (1985) entwickelten Gradienten wurde zunächst versucht, das stark eigenabsorbierende Chloroform zu ersetzen. Eine Detektion der einzelnen Lipidklassen gelang durch diese und weitere Modifikationen (Veränderung der stationären Phase und des Gradienten) nicht, so dass die Detektion mittels DAD für das vorliegende Trennproblem ausgeschlossen werden musste.

Schließlich wurde statt des DAD in Anlehnung an die Originalvorschrift von CHRISTIE (1985) ein Lichtstreudetektor verwendet. Dieser universelle Detektor ist auf der einen Seite zwar nicht sehr empfindlich, besitzt auf der anderen Seite jedoch den Vorteil, dass die einzige Bedingung für die Detektion ist, dass der Analyt schwerflüchtiger ist als der Eluent. Der Eluent fließt im Detektor zunächst zusammen mit dem Analyten in eine Nebelkammer, in der er durch Versprühen mit Druckluft ein Aerosol bildet. Der Eluent wird in der beheizten Zone verdampft, so dass der Analyt in die eigentliche Detektorzelle gelangt. Dort passiert er einen Lichtstrahl (Wolfram-Lampe, Laser-Dioden oder Halogen-Lampe) und verursacht dessen Streuung, deren Intensität gemessen wird. Die Verwendung eines Gradienten zur Elution verursacht bei entsprechender Flüchtigkeit der Lösungsmittel keine Grundlinienverschiebung im Chromatogramm. Als stationäre Phase während der Methodenentwicklung und der späteren Messungen diente eine NP-Säule mit spherischen Partikeln.

Die Detektorparameter Temperatur und Druck des Nebulizers sind abhängig von der Art und Bauweise des Detektors. OLSSON et al. (1996) erwärmten die Nebulizerkammer auf 65 °C, während sich in eigenen Versuchen eine Temperatur von 40 ° C als ausreichend erwies. Die Veränderung des Pressluftdruckes führte zu keinen bemerkenswerten Verbesserungen der Chromatogramm-Qualität. Die verwendete (analytische) Säule besaß eine ausreichende Kapazität, um den Rohextrakt semipräparativ zu trennen. Da der Lichtstreudetektor destruktiv ist, wurde zwischen der Trennsäule und dem Detektor ein Lösungsmittel-Splitventil eingebaut. Somit war es möglich, den Hauptteil der fraktionierten Lipide aufzufangen (90 %), während der geringere Teil (10 %) für die Detektion benötigt wurde. Die Retentionszeiten wurden regelmäßig mit Standardsubstanzen überprüft und waren aufgrund der konstanten Umgebungstemperatur (klimatisierter Raum) konstant.

Trotz Veränderungen der Polarität innerhalb der mobilen Phase konnte keine Grundlinientrennung von PI und PS erzielt werden, so dass bei höheren Konzentrationen PI und PS koeluierten. Als Ursache hierfür wird eine Überladung der stationären Phase angesehen. BRETON et al. (1989) vermochten mit einem binären Gradienten ebenfalls keine ausreichende Trennung von PI und PS sowie der Neutrallipide zu erzielen. PI und PS tragen nicht nennenswert zum Gesamtlipid-Gehalt bei (maximal 4 % im Muskel- bzw. 15 % im Lebergewebe), so dass die nicht vorhandene Trennung unberücksichtigt bleibt und die Mischfraktion untersucht wird.

Auch die Trennung von CE und TG erwies sich als schwierig. CHRISTIE (1985) erkannte diese Problematik und riet zur Abhilfe, die Reäquilibrierungszeit exakt einzuhalten. Ursache für das unterschiedliche Trennverhalten ist die noch im Säulenmaterial verbliebene kleine Menge an Wasser, das im Gradienten enthalten ist. LUTZKE und BRAUGHLER (1990) versuchten, eine Trennung zwischen TG und CE durch einen Flussgradienten zu erreichen. Auch ihnen gelang damit keine Grundlinientrennung dieser beiden Fraktionen. Das Problem der unvollständigen Trennung konnte auch mit anderen Mitteln (Reduzierung der Fließgeschwindigkeit, Anhalten der Pumpe) nicht gelöst werden, so dass CE und TG zunächst in einer gemeinsamen Fraktion gesammelt wurden. Als Eluent wurde schließlich der von CHRISTIE (1985) empfohlene Gradient verwendet, wobei das Gradienten-Programm leicht modifiziert wurde. Als nachteilig im Vergleich zur Fraktionierung mittels SPE erwiesen sich die beachtlichen Lösungsmittelmengen, die für die Trennung benötigt wurden. Der Gradienten-Modus lässt ein Recycling des Eluenten nicht zu.

CE und TG wurden im Anschluss mit einer modifizierten Methode von PATTON et al. (1990) getrennt. Ihnen gelang die Trennung von CE und TG im isokratischen Modus mit einem Eluenten aus *n*-Hexan, THF und Eisessig. Die Modifikation bestand darin, dass die Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase verringert (0.5 ml/min) und ein anderes Säulenmaterial als in der Originalvorschrift verwendet wurde. Die Reinheit der einzelnen Fraktionen (CE, TG, PE, PI+PS, PC) wurde mittels HPTLC überprüft. Bei der späteren Umsetzung der so entwickelten Methode stellte sich heraus, dass CE und TG zwar sehr wohl bei den Leber- nicht jedoch bei den Muskelproben getrennt werden konnten. Im Muskelgewebe ist der TG-Anteil so hoch, dass eine Abtrennung von den CE wie bei der SPE nicht möglich war. Die Trennung sowohl der Neutrallipide als auch von PI und PS gelang RODDEN und HUANG (1991), die mit einem quaternären Gradienten arbeiteten, der sich nicht auf die zur Verfügung stehenden Geräte adaptieren ließ.

5.2.4 Derivatisierung und Bestimmung der Fettsäuren

Zur gaschromatographischen Trennung müssen die glyceridisch gebundenen FA in ihre leichter flüchtigen FAME überführt werden. Für diese Derivatisierung kommen unterschiedliche Methoden zum Einsatz. PIISPA et al. (1996) sowie NÜRNBERG et al. (1997) setzen die zuvor hydrolysierten FA mit methanolischer Bortrifluorid-Lsg. bei 60 °C um. Weitere saure Umesterungsmethoden sind die Derivatisierung mit MeOH/ Salzsäure (GIBSON et al., 1992; STOLL, 1996), MeOH/Schwefelsäure und die Umsetzung mit Methanol und Acetylchlorid (LEPAGE und ROY, 1986). Als nachteilig erweisen sich bei den aufgeführten Methoden die Toxizität (Bortrifluorid), die Bildung von bei der GC störenden Dimethylacetalen und die schwierige Handhabung des Acetylchlorids, welches stark exotherm reagiert. KRAMER et al. (1997) berichten zudem über verstärkte Isomerisierungseffekte bei Verwendung der letztgenannten sauren Umesterungsmethode. Mit den alkalischen Umesterungsmethoden werden nur glyceridisch gebundene FA zu FAME umgesetzt. Die Umesterung erfolgt mit methanolischer Kali- oder Natronlauge oder methanolischer Kalium- oder Natriummethylat-

Lsg. (BLUNK et al., 1992; PFALZGRAF et al., 1993; FÜLLNER und WIRTH, 1996, FLACHOWSKY et al., 1997b). Diese Methoden unterscheiden sich hauptsächlich in der Reaktionszeit und der Umgebungstemperatur während der Umesterung.

Gesamtfett, CE, TG und PL sowie deren Unterfraktionen besitzen unterschiedliche Reaktivitäten bezüglich einer Umsetzung mit Methylierungsreagenzien, die einerseits sterisch bedingt sind, andererseits auch mit dem Löslichkeitsverhalten in den verwendeten Lösungsmitteln zusammenhängen. Es ist demzufolge naheliegend, dass eine einheitliche Umesterungsmethode für die unterschiedlichen Lipidfraktionen nicht durchführbar ist.

In Vorversuchen wurden Umesterungsversuche an Lipiden mit bereits bewährten Methoden vorgenommen und deren Reaktionsverlauf dünnschichtchromatographisch verfolgt. Dafür wurden verschiedenene Methoden, Temperaturen und Reaktionszeiten gewählt. Innerhalb von 15 min bei Raumtemperatur wurden die in den PL gebundenen FA nach Zusatz von methanolischer KOH-Lsg. vollständig in ihre FAME überführt. Bei einer Temperatur von 60 °C wurden die TG quantitativ mit methanolischer Kaliummethylat-Lsg. umgeestert. Eine Reaktionsdauer von 30 min erwies sich als ausreichend. Die glyceridisch gebundenen FA in den PL-Unterfraktionen wurden einheitlich durch Zusatz von methanolischer Kaliummethylat-Lsg. für 60 min bei 60 °C im Trockenschrank in ihre FAME überführt. Besondere Schwierigkeiten bei der Umesterung bereiteten die CE aufgrund ihrer sterisch bedingten Reaktionsträgheit (CHRISTIE, 1982). LEPAGE und ROY (1986) bedienten sich deshalb einer säurekatalysierten Methode und nahmen die damit verbundenen, oben dargestellten Unzulänglichkeiten in Kauf. Im Verlauf der eigenen Methodenoptimierungen wurde erneut auf die alkalische Umesterungsmethode mit methanolischer Kaliummethylat-Lsg. zurückgegriffen. Für die Derivatisierung der CE wurde die Reaktionszeit auf 90 min verlängert, da eine Erhöhung der Reaktionstemperatur zu keiner beachtenswerten Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit führte.

Die FAME-Aufarbeitungen wurden gegebenenfalls verdünnt, in GC-Vials überführt und bis zur eigentlichen Messung bei mindestens -21 ± 2 °C gelagert. Das in den Vials enthaltene BHT dient dem Schutz der FAME im Verlauf der Lagerung. Zur gaschromatographischen Trennung der FAME werden hauptsächlich verschieden polare Kapillarsäulen eingesetzt. Als Detektor dient meistens der universelle Flammenionisationsdetektor (FID) seltener der MSD (FÜLLNER und WIRTH, 1996). Blunk et al. (1992) verwendeten eine 60 m lange DB-WAX-Säule; STOLL (1996) trennte auf einer gepackten Säule (15 % Diethylenglycol auf Chromosorb W, 1.8 m Länge), während auch andere Kapillarsäulen für die Trennung verwendet werden: SGE BPX 70 (70 % Cyanopropylpolyphenylensiloxan, 50 m Länge) (TIMM, 2000), CP-SIL 88 (100 % Cyanopropylsiloxan, 50 und 100 m Länge) (FRITSCHE et al., 1997; TIMM, 2000; RICKERT, 2002) oder DB 23 (NÜRNBERG et al., 1997). Für die quantitative Bestimmung der FAME wurde aufgrund der hohen Auflösung die CP-SIL 88 (Länge 100 m) verwendet. Die Identifizierung der einzelnen FAME erfolgte über den Vergleich der Retentionszeiten mit denen eines externen Standards. Unter Einbeziehung der sich aus der quantitativen Zusammensetzung des externen Standards ergebenden Korrek-

turfaktoren können nach der normalisierten Prozentmethode die prozentualen Anteile der FA errechnet werden. Ein interner Standard wird nicht verwendet, da bei der Bestimmung des Fettsäuremusters nur das Verhältnis der einzelnen FA zueinander und nicht deren absolute Konzentrationen von Interesse waren.

5.3 Bestimmung der antioxidativen Kapazität

Die Wirksamkeit der Antioxidantien im zum Verzehr gedachten Muskelgewebe und im Butplasma lässt sich direkt erfassen, indem die Radikal-Scavenger-Eigenschaften ausgenutzt werden. In der Literatur wird eine Vielzahl von *in vitro*-Methoden zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität beschrieben. Den meisten Methoden ist gemein, dass vor oder während der Messung Radikale gebildet werden, deren Menge durch Fluoreszenz, Absorption, Chemilumineszenz oder mittels Elektronenspinresonanz (ESR) bestimmt werden kann.

5.3.1 Auswahl des geeigneten Testsystems

Eine vielfach angewendete Methode ist der TEAC-Test (Trolox equivalent antioxidant capacity) von MILLER et al. (1993), bei dem durch Reaktion zwischen ABTS, Wasserstoffperoxid und Metmyoglobin das Radikalanion $ABTS^{\bullet -}$ erzeugt wird. Dessen Absorption bei 734 nm wird in Abhängigkeit von der Zeit registriert. Als Referenzsubstanz dient (+/-)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure (Trolox), welches ein wasserlösliches Vitamin E-Analoges darstellt.
Aus dem thermolabilen 2,2'-Azo-bis-(2-amidinopropan) (ABAP) werden im TRAP-Test (Total peroxyl radical-trapping capacity) Peroxyl-Radikale gebildet (WAYNER et al., 1985). Nach Zugabe der zu untersuchenden Probe in eine ABAP-Lsg. wird in das Testgemisch eine sauerstoffsensitive Elektrode gegeben und der Reaktionsansatz erwärmt. Die Zeitspanne, in der die Peroxyl-Radikale von den Antioxidantien in der Testlösung abgefangen werden, dient als Messgröße. Nach BENZIE und STRAIN (1999) entsteht bei niedrigen pH-Werten durch Reduktion von Eisen(III)tripyridyltriazin ein farbiger Komplex, der photometrisch bestimmt werden kann. Die Extinktionsdifferenz ist bei diesem FRAP-Assay (Ferric reducing antioxidant power) proportional zur antioxidativen Kapazität.
Fette und fette Öle werden mit dem von FRANKEL (1993) beschriebenen Rancimat-Test untersucht. Bei erhöhten Temperaturen (100 - 140 °C) wird Sauerstoff durch das Fett geleitet. Die bei der Oxidation entstehenden Produkte werden in eine Messzelle überführt, in der die Leitfähigkeit bestimmt wird. Antioxidantien bewirken eine Verlängerung der Induktionsperiode, in der noch kein Anstieg der Leitfähigkeit festgestellt werden kann. FLACHOWSKY et al. (1997b) bestimmten mit dem Rancimat-Test die Stabilität von Ether-Extrakten aus Schweinegeweben.
MARCO (1968) beschreibt ein Testsystem, welches auf der Oxidation von β-Carotin durch Peroxyl-Radikale beruht. Die Radikale werden durch ABAP aus α-Linolensäure gebildet. Als Messgröße wird die Absorption bei 450 nm (Absorptionsmaximum des β-Carotins) aufgenommen. Eine ähnliche Funktionsweise besitzt der β-Carotin-Linolsäure-Bleichungstest von BEN-AZIZ et al. (1971). Eine Unterscheidung der

antioxidativen Kapazität in Hydroxyl- und Superoxidanion-Scavenger Eigenschaften ist mittels ESR möglich (NODA et al., 1999).

Als weiterer Indikator für den Antioxidationszustand gilt die selen-abhängige Glutathion-Peroxidase (KOVÁČIKOVÁ et al., 1998). Weitere Methoden werden von LIANG (1999), PRIETO et al. (1999), REGOLI und WINSTON (1999) sowie LIÉGOIS et al. (2000) vorgeschlagen. Die antioxidative Wirkung wird in einer Vielzahl von Untersuchungen durch Messung von Markersubstanzen, die durch die Lipidoxidation entstehen, ermittelt. Hierfür werden flüchtige Verbindungen (z. B. Hexanal, Ethylen) oder andere Oxidationsprodukte (z. B. Thiobarbitursäure reaktive Substanzen (TBARS), 4-Hydroxynonenal, Hydroperoxide, konjugierte Diene) über einen längeren Zeitraum (Stunden oder Tage) in regelmäßgen Abständen quantifiziert, wobei gelegentlich erhöhte Temperaturen und Schwermetallionen zugegeben werden (TAMURA und SHIBAMOTO, 1991; HUANG et al., 1994; KANSCI et al., 1997; WINSTON et al., 1997; MANACH et al., 1998; FRANKEL, 1999; KONTUSH und BEISIEGEL, 1999). Je länger die lag-Phase, also der Zeitraum, in der keine beachtenswerten Anstiege feststellbar sind, ist, desto größer ist die antioxidative Wirksamkeit. Da dieser Test voraussetzt, dass der MDA-Gehalt zu Beginn der Untersuchungen bekannt ist, kann dieser Test für die Quantifizierung der antioxidativen Kapazität der Proben aus den Fütterungsversuchen nicht verwendet werden. Diese Bestimmungen werden aber im Rahmen eines Lagerungsversuches durchgeführt (siehe Kapitel 8).

In dieser Arbeit soll für die Bestimmung der antioxidativen Kapazität ein von VAN DEN BERG et al. (1999) optimierter Test eingesetzt werden, der auf dem TEAC-Test von MILLER et al. (1993) basiert. Durch Reaktion von ABAP mit ABTS bei 60 °C wird zunächst das Radikalanion $ABTS^{\bullet -}$ erzeugt. Durch Zugabe von Antioxidantien-haltigen Lösungen nimmt die Absorption ab. Die Absorptionsdifferenz innerhalb von sechs Minuten dient als Messgröße in diesem Testsystem. Die Kalibrierung erfolgt wie bei dem „normalen“ TEAC-Test von MILLER et al. (1993) mit Trolox. Die gewählte Methode ist besonders in der Vorbereitung deutlich schneller, mit weniger Materialaufwand durchführbar und, bedingt durch das vor der eigentlichen Messung hergestellte Radikalanion, weniger störanfällig gegenüber Artefakten. Zudem ist die Ablesung einer Extinktionsdifferenz weniger fehlerbehaftet als die graphische Ermittlung der lag-Phase des ursprünglichen TEAC-Tests von MILLER et al. (1993).

Unter standardisierten Bedingungen kann der TEAC-Wert einer Mischung aus wasser- und fettlöslichen Antioxidantien der Summe der einzelnen TEAC-Werte entsprechen. Die Verwendung unterschiedlicher Lösungsmittel zur Lösung der fettlöslichen Verbindungen beeinflusst die antioxidative Kapazität der wasserlöslichen Antioxidantien nicht (MILLER und RICE-EVANS, 1997; VAN DEN BERG et al., 1999). Bei einigen Flavonoiden stellten VAN DEN BERG et al. (1999) jedoch ein abnormes Verhalten fest, das sich in sinkenden TEAC-Werten bei steigenden Flavonoidkonzentrationen äußerte. Unter Verwendung eines minimal modifizierten TEAC-Assays von MILLER et al. (1993) stellten YU und ONG (1999) keinerlei antioxidative Kapazität für die zwei Flavonoide Apigenin und Genistein fest, wobei nach sechs Minuten trotzdem eine Extinktionsdifferenz eintrat. Die Flavonoide können ein Grund für die nicht gegebene

Additivität der einzelnen TEAC-Werte in Mischung zum gesamten TEAC-Wert sein.

β-Carotin kann aufgrund seiner geringen Löslichkeit bis maximal 1 µmol/l (Endkonzentration) gemessen werden. Da sich zusätzlich eine Lösungsmittelabhängigkeit des TEAC-Wertes ergab (VAN DEN BERG et al., 1999) ist eine Bestimmung der gesamten antioxidativen Kapazität mit dem gewählten Test schwierig. Ein niedriger TEAC-Wert kann entweder durch geringe Scavenger-Eigenschaften oder durch eine beschränkte Löslichkeit im wässrigen TEAC-Test begründet sein. Mit dem modifizierten TEAC-Test lässt sich also allenfalls eine Rangfolge bestimmen.

Ein Nachteil der gewählten aber auch der meisten oben aufgeführten Messmethoden besteht darin, dass nur die durch Radikale bedingte antioxidative Kapazität bestimmt werden kann.

5.3.2 Herstellung der Muskelextrakte

Während Plasma- und Serumproben einfach zu handhaben sind, da sie direkt in dem beschriebenen Testsystem eingesetzt werden können, muß für Gewebeproben eine geeignete Methode entwickelt werden, einen repräsentativen Extrakt für den Test herzustellen. Viele Autoren beschreiben die Herstellung von Pflanzenextrakten zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität. Zur Herstellung von Extrakten von Tomaten werden diese gefriergetrocknet und zunächst mit DCM und dann mit Wasser extrahiert (PELLEGRINI et al., 1999). Der DCM-Extrakt enthält die lipophilen Antioxidantien (z. B. Carotinoide). Sowohl mit dem DCM- als auch mit dem wässrigen Extrakt wird dann der TEAC-Test durchgeführt. BENZIE und STRAIN (1999) verwenden einen wässrig-ethanolischen Extrakt zu Bestimmung der antioxidativen Kapazität mit dem FRAP-Assay. In Anlehnung an diese Extraktionsmethode erscheint bei dem zu erwartenden Arbeitsaufwand ein von dieser Methode abgewandeltes Extraktionsverfahren optimal. In Anbetracht der Oxidationsempfindlichkeit der extrahierten Antioxidantien erweist sich die von PELLEGRINI et al. (1999) beschriebene Methode mit ihrer großen Anzahl an Arbeitsschritten als nicht geeignet. Besonders wichtig erscheint also eine schnelle und dadurch schonende Aufarbeitung, die Oxidationsvorgängen und damit der teilweise Zerstörung der Antioxidantien entgegenwirkt. Da die zu untersuchenden Fleischproben sowohl wasser- als auch fettlösliche Antioxidantien enthalten, muß das Extraktionsmittel ein weites Polaritätsspektrum umfassen, das alle Antioxidantien quantitativ erfasst. Folglich müssen alle Aufarbeitungsschritte in möglichst kühler Umgebung, unter Ausschluß von UV-Licht und möglichst unter Schutzgasatmosphäre durchgeführt werden.

Die Bestimmung der antioxidativen Kapazität in flüssigen Proben (Blutserum oder -plasma) wird häufig beschrieben (MILLER et al., 1993; RICE-EVANS und MILLER, 1994). Für die Extraktion der fettlöslichen Antioxidantien aus komplexen Matrices (Muskelgewebe) sind keine Methoden erwähnt. So wurden Lösungsversuche unter Zusatz von Nonidet P-40, das sich durch keine Peroxidbildung auszeichnet, durchgeführt. Dieser Zusatz führte zu einer Bildung stabiler Emulsionen, die auch im eigentlichen Reaktionsansatz eine Trübung hervorriefen, so dass dieser Ansatz nicht weiter

verfolgt wurde. Ein Gemisch aus Aceton, Ethanol und entm. Wasser (50:40:10; v:v:v) erwies sich als geeignet, sowohl wasser- als auch fettlösliche Antioxidantien (L-Ascorbinsäure, α-Tocopherol, Naringin und Octylgallat) in Konzentrationen bis ca. 50 g pro Liter zu lösen. Lediglich die Löslichkeit von β-Carotin (ca. 30 mg/l) war deutlich geringer, übertraf aber dennoch die in den Fleisch- und Plasmaproben zu erwartenden Konzentrationen. Das Extraktionsmittel stellt einen Kompromiß aus Hydrophilität und Lipophilität dar.

Für die Zerkleinerung der Gewebeproben standen ein Ultra-Turrax und eine handelsübliche Mühle (Moulinette) zur Verfügung. Zusätzlich wurden für die Extraktion die Einwaagen und die Extraktionsdauer variiert. Reproduzierbare Ergebnisse bei einer äußerst geringen Wahrscheinlichkeit der oxidativen Schädigung wurden durch Zerkleinerung der noch gefrorenen Muskelproben in der Moulinette (höchste Leistungsstufe, eine Minute) erzielt. Hieran schloß sich eine Extraktion in Braunglasgefäßen mit dem bereits beschriebenen Extraktionsmittel unter Schutzgasatmosphäre an. Durch Zusatz von Trichloressigsäure wurden noch nicht denaturierte Proteine gefällt. Die verschlossenen Gefäße wurden kurz zentrifugiert und der Überstand durch zwei Faltenfilter filtriert. Diese Lösung wurde erneut mit Stickstoff begast und bis zur Messung bei -21 ± 2 °C gelagert.

Die photometrische Bestimmung erfolgt entsprechend der Methode von VAN DEN BERG et al. (1999) in einer zuvor aus ABAP und ABTS in Phosphatpuffer durch Erwärmen auf 60 °C erhaltenen Lösung, die $ABTS^{\bullet -}$ enthält. Zur Gewährleistung vergleichbarer Ergebnisse werden diese Arbeitslösung und der Küvettenhalter auf 37 °C temperiert.

In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass der TEAC-Wert von Trolox unabhängig vom verwendetet Lösungsmittel (Phosphatpuffer, Ethanol, Extraktionsmittel) ist. Im Rahmen der Untersuchungen wurden ebenfalls Mischungen aus α-Tocopherol, β-Carotin, L-Ascorbinsäure, verschiedenen synthetischen Antioxidantien und einigen Flavonoiden hergestellt. Hierbei konnte festgestellt werden, dass besonders bei Mischungen, die Flavonoide enthielten, die von VAN DEN BERG et al. (1999) beschriebene Additivität der einzelnen TEAC-Werte nicht zutraf.

5.4 Bestimmung von MDA

Neben den nicht selektiven Konventionsmethoden (u. a. Peroxidzahl, TBARS, Anisidinzahl und konjugierte Diene) gibt es eine große Vielfalt sehr spezifischer Methoden zur Bestimmung primärer oder sekundärer Lipidoxidationsprodukte (Fettsäurehydroperoxide, MDA, 4-Hydroxynonenal, Isoprostane, flüchtige Verbindungen wie Hexanal) (MOORE und ROBERTS, 1998, GOPAUL et al., 2000). Einige dieser Verbindungen können auch während der Aufarbeitung entstehen und scheiden folglich als Marker aus. Mit einem Anteil von 42 % der durch die Lipidoxidation entstehenden Aldehyde ist der MDA-Gehalt ein wichtiger Parameter für die Beurteilung des oxidativen Fettverderbs (PARDUN, 1976). Die Bestimmung der Gehalte an MDA in den Rindfleisch- und Plasmaproben stellt eine indirekte Methode zur Bestimmung der Wirksamkeit

enthaltener Antioxidantien dar, indem geringere Gehalte an MDA bei größerer Wirksamkeit der Antioxidantien bestimmt werden können. Gleichzeitig gibt der Gehalt an MDA eine Aussage über den derzeitigen Oxidationsstatus der Lipidphase und stellt den bereits eingetretenen oxidativen Schaden dar. Bei der Beurteilung der antioxidativen Kapazität sind diese Schädigungen zu berücksichtigen. Von dieser Tatsache abgesehen sollten bei hohen TEAC-Werten entsprechend niedrigere MDA-Konzentrationen bestimmt werden. Die meisten in der Literatur beschriebenen Methoden beschreiben die photometrische, fluorimetrische, gas- oder hochleistungsflüssigkeitschromatographische Bestimmung von MDA nach entsprechender Derivatisierung.

5.4.1 Auswahl der Bestimmungsmethode

Eine Bestimmung der TBARS als Gesamtheit scheidet wegen der mangelnden Spezifität als Methode aus. Da die Reaktion von 2-Thiobarbitursäure (TBA) auch andere Substanzen erfasst, deren Ursprung nicht die Lipidoxidation ist, ist eine selektive Bestimmung eines Markers notwendig, der eindeutig ein Produkt der Lipidoxidation ist aber andererseits nicht so flüchtig ist, dass er dem Reaktionsmedium spontan entströmt. Aufgrund der vielfach bewährten Untersuchung des Gehaltes an MDA, wird diese Substanz als Marker in den folgenden Untersuchungen ausgewählt. Obwohl MDA selbst im UV-Bereich absorbiert, erfolgt zur Steigerung der Selektivität und Sensitivität meist eine Derivatisierung. Eine der häufigsten Derivatisierungsmethoden von MDA ist die Umsetzung mit TBA zum MDA-TBA-Addukt (KOHN und LIVERSEDGE, 1944). Letzteres wird photometrisch (SINNHUBER und YU, 1958) oder fluorimetrisch (YAGI, 1976; GUZMAN-CHOZAS et al., 1998) bestimmt. Diese Methoden werden vielfach kritisiert, da bei der Derivatisierung nicht nur MDA, sondern auch andere Aldehyde, Ketone und Lebensmittelinhaltsstoffe erfasst werden, die nicht der Lipidoxidation entspringen. Die Interaktionen von Alkenalen, Wasser, Proteinen, organischen Säuren, Aminosäuren, Glykogen und anderen Kohlenhydraten bei der Reaktion zwischen MDA und TBA untersuchten FERNANDEZ et al. (1997) sowie GUILLÉN-SANS und GUZMÁN-CHOZAS (1998). Die Grenzen der herkömmlichen TBA-Assays sind vorrangig die Stabilität der TBA-MDA-Addukte und unspezifische Nebenreaktionen, die zu rot bis orange gefärbten Pigmenten führen. Trotz der fehlenden Selektivität wird diese Derivatisierungsmethode sehr häufig zur Beurteilung der Ranzidität von Fetten (PARDUN, 1976) und der Fettoxidation in Fleisch (TURNER et al., 1954) verwendet. Neuere Bestimmungsmethoden für das MDA-TBA-Addukt sind die HPLC an RP mit UV-Detektion oder FD. Zur spezifischen Bestimmung führten SUTTNAR et al. (1997) einen Reinigungsschritt mittels Festphasenextraktion vorweg. Neben der Abtrennung störender Begleitstoffe erreicht man eine Konzentrierung des Extraktes. Nach TATUM et al. (1990) kann die Bestimmung auch nach Zusatz von Tetrabutylammoniumdihydrogenphosphat als Ionenpaarchromatographie durchgeführt werden. Andere Derivatisierungen vor der HPLC-Bestimmung sehen eine Umsetzung mit Harnstoff zum 2-Hydroxypyrimidin (OSAWA und SHIBAMOTO, 1992) oder mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (TOMITA et al., 1990) vor. Die Reaktion von MDA mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin findet auch bei Raumtemperatur in relativ kurzer Zeit (1 Stunde) statt, so dass auf

eine Hitzeeinwirkung verzichtet werden kann. Die Reaktion findet bereits in einem wässrig-sauren Extrakt statt, in dem aufgrund fehlender Substrate keine weitere Lipidoxidation stattfinden kann. Die Hitzeeinwirkung auch bei den anderen Methoden ist im Extrakt unschädlich.

Gaschromatographische Methoden sind die Bestimmung nach Umsetzung mit N-Methylpyrazin (NISHIYAMA et al., 1993), mit O-(2,3,4,5,6-Pentafluorbenzyl)-hydroxylamin und BSTFA/Trimethylchlorsilan (99:1; v:v) (RAULI et al., 1998) oder mit Pentafluorphenylhydrazin (YEO et al., 1994). Diese Methoden sind allesamt sehr spezifisch, erfordern aber eine enorm umfangreiche Probenvorbereitung. HOVING et al. (1992) zeigten, dass das Derivat von MDA mit DETBA im Vergleich zum MDA-TBA-Addukt deutlich empfindlichere Fluoreszenzeigenschaften besitzt und eine größere Stabilität aufweist. Hieran schließt sich die photometrische, fluorimetrische und hochleistungsflüssigkeitschromatographische Bestimmung des MDA-DETBA-Adduktes an, die HOVING et al. (1992) auf NP durchführten. FUKUNAGA et al. (1995) verwendeten für ihre HPLC-Bestimmung des MDA-TBA-Adduktes eine RP18-Säule und ACN/bidestilliertes Wasser als mobile Phase. Ohne vorhergehende Derivatisierung bestimmten BEHRENS und MADÈRE (1991a) das freie MDA mittel RP-HPLC und UV-Detektion.

Eine Kombination der empfindlichen Derivatisierungsmethode von HOVING et al. (1992) mit der selektiven Bestimmungsmethode von FUKUNAGA et al. (1995) erscheint als vielversprechender Ansatzpunkt für eine Methode im Rahmen der durchzuführenden Untersuchungen. Es gilt, die chromatographischen Bedingungen durch die Wahl geeigneter stationärer und mobiler Phasen zu optimieren. Vorversuche zur Bestimmung des MDA als 2-Hydroxypyrimidin nach Derivatisierung mit Harnstoff (OSAWA und SHIBAMOTO, 1992) erwiesen sich entweder als zu unempfindlich oder als zu aufwändig für die Vielzahl der vorgesehenen Untersuchungen (YEO et al., 1994, 1999; RAULI et al., 1998).

Für die Methodenentwicklung wurden sowohl MDA-TBA- und MDA-DETBA-Addukte mittels HPLC bestimmt. Zur Detektion wurden sowohl ein UV-Detektor als auch ein FD verwendet, der sich als empfindlicher und selektiver herausstellte. Bei der Umsetzung von MDA mit TBA bzw. DETBA entstehen jeweils zwei tautomere Addukte, die sich in ihren chromatographischen Eigenschaften jedoch nicht in ihren Fluoreszenzeigenschaften unterscheiden (NAIR und TURNER, 1984). Die hierdurch bedingten Doppelpeaks können durch geeignete Wahl der Fließgeschwindigkeit des Eluenten bei der HPLC zusammengedrängt werden, was die quantitative Auswertung erleichtert. Im Gegensatz zum MDA-TBA-Addukt, welches noch am selben Tag gemessen werden muss (WONG et al., 1987), ist das MDA-DETBA-Addukt unter Lichtausschluß bei 4 °C mehrere Wochen unverändert haltbar (HOVING et al., 1992). Die Stabilität des MDA-DETBA-Adduktes auf der einen und die selektive und empfindliche Bestimmung über die Fluoreszenz auf der anderen Seite führten schließlich dazu, die Umsetzung mit DETBA durchzuführen. Als geeigneter Eluent stellte sich in Anlehnung an FUKUNAGA et al. (1995) ein Gemisch aus ACN/bidestilliertes Wasser (85:15; v:v) mit einer Fießgeschwindigkeit von 1.6 ml/min heraus.

Während der Aufarbeitung schützen BHT und reduziertes Glutathion vor weiterer Oxidation, wobei gleichzeitig bereits gebildete Fettsäurehydroperoxide durch Eisen-(III)-Ionen katalysiert zu ihren sekundären Fettoxidationsprodukten reagieren, zu denen auch MDA gehört.

Zur Erzielung reproduzierbarerer Ergebnisse ist die Einhaltung der Reaktionszeiten während der Derivatisierung und die Dauer der Extraktion einzuhalten. Für die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Umsetzung ist die Konzentration der DETBA entscheidend. REHARJO et al. (1992) zeigten bei der Umsetzung von MDA mit TBA, dass bei einem Konzentrationsüberschuß von 80 mmol/l eine Reaktionszeit von 5 Minuten (95 °C) ausreicht, während bei einem geringeren Überschuß (20 mmol/l) 30 Minuten notwendig waren. Bei hohen Konzentrationen an TBA (und DETBA) besteht die Gefahr, dass dieses während des Erhitzens auskristallisiert.

Die optimierte Methode führt zu Wiederfindungsraten von 66 % (Muskelgewebe) bzw. 87 % beim Plasma. Damit ist die Methode vergleichbar mit der von REHARJO et al. (1992), die Wiederfindungsraten von 76 bis 80 % bestimmten.

5.4.2 Herstellung der Extrakte

Bei den meisten in der Literatur beschriebenen Extraktionsmethoden wird zur Extraktion Trichloressigsäure in unterschiedlichen Konzentrationen (5-10 g/100 ml) verwendet. MDA selbst ist wasserlöslich, da es jedoch recht polar und reaktiv ist, ist der Einsatz von Säure zur Lösung eventueller acetalischer Bindungen erforderlich. Mit Schwefelsäure und Wolframat-Lösung erzielten LEPAGE et al. (1991) die besten Wiederfindungsraten bei der Bestimmung der TBARS in Humanplasma. Erfolgt die Präzipitation der Lipoproteine dagegen mit Trichloressigsäure-Lsg. (5 g/100 ml) beträgt die Wiederfindungsrate ca. 60 %. In wäßriger Lösung liegt MDA in enolischer Struktur vor, während bei einem pH-Wert von unter 2.8 MDA flüchtig ist. Es kann an Proteine gebunden sein, so dass das Einwirken von Hitze und Säure zur Ablösung notwendig ist (FERNÁNDEZ et al., 1997). REHARJO et al. (1992) verwendeten für die Extraktion von Rinderhackfleischproben zur MDA-Bestimmung eine Trichloressigsäure-Lsg. (5 g/100 ml). Im neutralen Bereich extrahierten LEE und CSALLANY (1987) Leberhomogenate mit kaltem Phosphatpuffer. Die Denaturierung der Proteine und gleichzeitige Extraktion erzielten BEHRENS und MADÈRE (1991a) durch Verwendung von wässrigem EtOH (50:50; v:v).

Um eine weitere oxidative Schädigung zu vermeiden und eine Bildung von MDA während der Aufarbeitung zu unterbinden, wird eine schnelle Zerkleinerung bevorzugt. Die strukturellen Eigenschaften lassen auch hier die Verwendung des Ultra-Turrax oder einer Moulinette zu. Da sich die Zerkleinerung in der Moulinette bereits bei der Bestimmung der antioxidativen Kapazität bewährt hat, stellt sie auch hier die Methode der Wahl dar. Auch LEE und CSALLANY (1987) sowie BEHRENS und MADÈRE (1991a) verwendeten ebenfalls diese sehr schnelle Zerkleinerungsmethode für die Herstellung ihrer Leberhomogenate. Während der eigentlichen Extraktion ist die Verwendung von Antioxidantien zum Schutz vor weiterer Oxidation üblich (TATUM et

al., 1990; HOVING et al., 1992). REHARJO et al. (1992) gebrauchten während der Aufarbeitung eine methanolische BHT-Lsg., dessen Anteil 0.15 g/100 g des durchschnittlich im Fleisch enthaltenen Fettes entsprach. Die Extraktion mit Trichloressigsäure-Lsg. (10 g/100 ml) findet zudem in Braunglasgefäßen und unter Schutzgasatmosphäre (Stickstoff) statt. Vor der Filtration werden die verschlossenen Gefäße kurz zentrifugiert. Das Filtrat wird mit Stickstoff begast und bis zur Umsetzung mit DETBA und der anschließenden Messung bei mindestens -21 ± 2 °C gelagert.

Im Gegensatz zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität wird für die Bestimmung von MDA auch das Plasma aufgearbeitet, um eine weitere Oxidation während der Umsetzung mit DETBA und der damit verbundenen Hitzeeinwirkung zu vermeiden. Eine Filtration ist nach Zentrifugation meist nicht notwendig, da der verbleibende Überstand meistens nicht getrübt ist.

5.5 Bestimmung der Stereoisomere des α-Tocopherols

Die einzelnen Stereoisomere des α-Tocopherols weisen unterschiedliche Bioaktivitäten und Bioverfügbarkeiten auf. Dieser Sachverhalt konnte bisher bei Affen und Ratten nachgewiesen werden (TRABER et al., 1990a, 1990b; RISS et al. 1994). In dieser Arbeit sollen Parallelen bei den Rindern aufgezeigt werden, die einerseits die genetisch bedingte Affinität zu einigen Stereoisomeren des α-Tocopherols belegen sollen, andererseits dient der Nachweis anderer als des natürlich vorkommenden *RRR*-α-Tocopherols dazu, dass eine Zufuhr von *all-rac*-α-Tocopherol über das Futter stattgefunden hat. Bei den bisher durchgeführten Untersuchungen wurde gezeigt, dass das TBP eine besonders stark ausgeprägte Affinität zu denjenigen Stereoisomeren hat, die am Chromanol-Kohlenstoffatom Nr. 2 die *R*-Konfiguration aufwiesen.

Für die Bestimmung der einzelnen Stereoisomere sollte eine geeignete Methode entwickelt und optimiert werden, die zu einer aussagekräftigen Lösung des Trennproblems und zu reproduzierbaren Ergebnissen führt. Erste Versuche zur Trennung der acht Stereoisomere des α-Tocopherols wurden bereits 1981 von SLOVER und THOMPSON beschrieben. Sie detektierten mit einem FID nach gaschromatographischer Trennung der Trimethylsilylether von *all-rac*-α-Tocopherol an einer 115 Meter langen polaren Kapillarsäule vier Peaks, die aus den *RRS*- und *SSR*-, *RSR*- und *SRS*-, *RSS*- und *SRR*- sowie *RRR*- und *SSS*-Isomeren bestanden. Die Anteile der jeweiligen Peakflächen betrugen zwischen 22.7 und 27.6 %. Eine vollständige Trennung aller acht Isomere gelang SLOVER und THOMPSON (1981) noch nicht. Durch Kombination von HPLC und GC erreichten VECCHI et al. (1990) erstmals eine Trennung der acht in synthetischem α-Tocopherol vorkommenden Stereoisomere. Zunächst erfolgte mittels HPLC eine Trennung in 2*S*- und 2*R*-Isomere an einer selbst hergestellten stationären Phase aus (+)-Poly(triphenylmethylmethacrylat). Nach Umderivatisierung der als α-Tocopherylacetat getrennten Isomere in die α-Tocopherylmethylether erfolgte die gaschromatographische Trennung an einer achiralen, 100 m langen GC-Kapillarsäule (Silar 10C). Eine kommerziell erhältliche mit einem chiralen Material gefüllte HPLC-Säule (Chiralpak OP(+)) trennte die α-Tocopherylactetate in

die 2*R*-Isomere (koeluierend), *SSS*- und *SSR*-Isomere (koeluierend), *SRR*- und *SRS*-Isomere (UEDA et al., 1993). Die beschriebene Methode ist schnell durchführbar, führt aber zu keiner Trennung der hauptsächlich interessierenden 2*R*-Isomere. Bei gleichzeitiger Anwesenheit anderere Tocopherole (β-, γ-, δ-) stören diese und machen einen weiteren Reinigungsschritt erforderlich. Die erwähnte HPLC-Säule wurde mit leicht veränderter mobiler Phase zur Analytik der Stereoisomere des α-Tocopherols in Lymphe und anderem zellulären Gewebe verwendet (KIYOSE et al., 1995b). Als Methoxymethylether konnte NETSCHER (1996) eine Trennung in sieben, nicht grundliniengetrennte Peaks an der chiralen HPLC-Säule erreichen. RISS et al. (1994) reinigten ihren durch Extraktion mit Natriumdodecylsulfat und *n*-Heptan erhaltenen Rohextrakt zunächst semipräparativ mittels RP-HPLC, bevor sie das α-Tocopherol zum α-Tocopherylmethylether derivatisierten. Vor der eigentlichen Trennung an einer kommerziell erhältlichen chiralen HPLC-Säule (Chiralcel OD-H) erfolgte ein weiterer Reinigungsschritt mittels NP-HPLC. Das Ergebnis war eine Trennung in fünf Peaks, wobei die vier 2*S*-Isomere koeluierten und die vier 2*R*-Isomere grundliniengetrennt wurden. Die 2*S*-Isomere wurden in einem weiteren Analysengang gaschromatographisch an einer Kapillarsäule getrennt (Silar 10C). Später gelang an der chiralen Säule mit einem veränderten Elutionsgemisch die Trennung von *SRR*- und *RRR*-α-Tocopherol inclusive der jeweiligen Chinone (KIYOSE et al., 1999).

In Hinblick auf die analytische Fragestellung erscheint der erste Teil der Methode von RISS et al. (1994) besonders geeignet zu sein. Die quantitative Verteilung der 2*S*-Isomere scheint im Hinblick auf die zu belegende Hypothese als weniger aussagekräftig und wird deshalb aus methodischen und zeitlichen Gründen verworfen. Die 2*S*-Isomere werden im Folgenden in Summe dargestellt. Es galt, diese Methode an die bestehenden Möglichkeiten im Labor anzupassen und zu optimieren sowie die optimierte Methode schließlich auf die Gewebe verschiedener Fütterungsgruppen anzuwenden. Die Aufarbeitung und Reinigung der Rohextrakte sowie des α-Tocopherylmethylethers erscheinen zunächst sehr aufwändig, sind aber angesichts der Kosten für die chirale HPLC-Trennsäule (ca. € 1500) gerechtfertigt. Statt der von RISS et al. (1994) durchgeführten Extraktion mit Natriumdodecylsulfat und *n*-Heptan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) wurde trotz der geringeren Toxizität des *n*-Heptans schließlich die bewährte Extraktion mit *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) nach alkalischer Hydrolyse (mit methanolischer KOH-Lsg.) durchgeführt. Im Gegensatz zur quantitativen Bestimmung des α-Tocopherols ist eine vollständige Extraktion nicht unbedingt notwendig, da später lediglich die Verhältnisse der Stereoisomere zueinander bewertet werden sollen. Im Rahmen der Methodenoptimierung wurde zunächst die Reinigung des α-Tocopherols im Rohextrakt mittels präparativer HPLC ausprobiert. Als Eluent diente MeOH/bidestilliertes Wasser (95:5; v:v). Zur Verringerung des Lösungsmittelverbrauches wurde die HPLC im Recyclingmodus betrieben. Die Methode erwies sich als nicht geeignet, da die Konzentrationen in den Extrakten so gering waren, dass sie mit dem UV-Detektor nicht erfasst wurden. Zusätzlich wurden neben einer immer unruhiger werdenden Grundlinie, Verschiebungen der Retentionszeiten und Peakverbreiterung beobachtet, die durch die

Anreicherung von störenden Substanzen im Eluenten verursacht wurden. Vor der Derivatisierung war zusätzlich eine Extraktion des α-Tocopherols aus dem Eluenten notwendig, die durch Ausschütteln mit *n*-Hexan erfolgte. Der gesammelte organische Extrakt wurde anschließend getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Diese mit hohem Arbeitsaufwand verbundene Methode wurde schließlich verworfen. Die Alternativen (TLC und SPE) führen zu keiner wesentlichen Kosten- und Zeitersparnis und wurden deshalb nicht weiter verfolgt.

Im Gegensatz zur Originalmethode wurde zur Isolierung des α-Tocopherols die aus der quantitativen Bestimmung bewährte NP-HPLC-Methode eingesetzt. Diese hatte den Vorteil, dass der zeitaufwändige Lösungsmittelwechsel entfiel. Die bei der NP-HPLC verwendete mobile Phase (*n*-Hexan/Ethylacetat (95:5; v:v)) ließ sich im Gegensatz zu dem laut RISS et al. (1994) zu verwendenden MeOH sehr schnell und schonend entfernen. Die anschließende Veretherung mit Dimethylsulfat wurde entsprechend der Originalmethode vorgenommen mit dem Unterschied, dass auf den Zusatz des Schutzgases Argon verzichtet wurde. Versuche mit Stickstoff als Schutzgas führten zu keinen signifikanten Unterschieden in den Gehalten an α-Tocopherylmethylether, dessen Ausbeute 50 bis 60 % der Theorie betrug. Zur Schonung der chiralen HPLC-Säule wurde von RISS et al. (1994) eine weitere Reinigung des Reaktionsansatzes vorgeschlagen. Auch hier erweist sich die bestehende HPLC-Methode zur quantitativen Bestimmung des α-Tocopherols als geeignet, den α-Tocopherylmethylether von den anderen Substanzen abzutrennen und semipräparativ anzureichern. Statt des vorgesehenen Gemisches aus *n*-Hexan und *tert*.-Butylmethylether (99.5:0.5; v:v) wurde der bewährte Eluent aus *n*-Hexan und Ethylacetat (95:5; v:v) verwendet. Unter den gewählten chromatographischen Bedingungen eluierte der α-Tocopherylmethylether nach 3.8 min und das eventuell nicht vollständig umgesetzte α-Tocopherol nach 7.5 min. Die Trennung der α-Tocopherylmethylether auf der chiralen Säule erfolgte unter den gleichen chromatographischen Bedingungen wie in der Originalvorschrift. Zur empfindlicheren und selektiveren Detektion wurde zusätzlich ein FD verwendet. Schematisch ist die Aufarbeitung und Bestimmung der α-Tocopherol-Stereoisomeren in Abbildung 14 dargestellt.

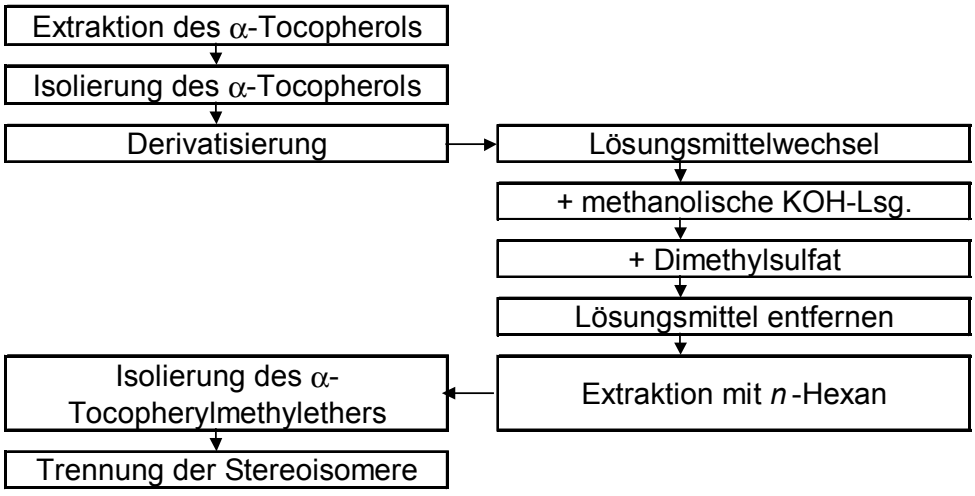


Abbildung 14: Aufarbeitungsschema zur Analytik der 2*R*-Stereoisomere des α-Tocopherols

Die optimierte Methode wurde zunächst zur statistischen Charakterisierung auf *all-rac*-α-Tocopherol- und *RRR*-α-Tocopherol-Standards angewendet. Im Gegensatz zu RISS et al. (1994) wurden auch Mengen über 10 µg pro Reaktionsansatz (unter Anpassung der Menge an Dimethylsulfat) der Aufarbeitung und quantitativen Bestimmung unterzogen (jeweils im fünffachen Ansatz: 2, 5, 10, 25, 50 und 100 µg). Die prozentuale Zusammensetzung der Standards ist in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Prozentuale Zusammensetzung der Stereoisomere von *all-rac*-α-Tocopherol (Mittelwerte [%] ± Vertrauensbereich (95 %; n = 5)) und *RRR*-α-Tocopherol [%]

Menge des Standards	∑ 2*S*	*RSS*	*RRS*	*RRR*	*RSR*
2 µg *all-rac*-α-Tocopherol	51.1 ± 2.2	12.8 ± 1.2	13.1 ± 1.0	12.2 ± 1.2	11.9 ± 1.4
5 µg *all-rac*-α-Tocopherol	50.4 ± 0.9	12.7 ± 0.8	12.7 ± 0.8	12.4 ± 0.7	12.5 ± 0.9
10 µg *all-rac*-α-Tocopherol	50.1 ± 0.4	12.7 ± 0.5	12.5 ± 0.5	12.3 ± 0.6	12.3 ± 0.7
25 µg *all-rac*-α-Tocopherol	50.3 ± 0.6	12.6 ± 0.5	12.6 ± 0.4	12.7 ± 0.7	12.4 ± 0.6
50 µg *all-rac*-α-Tocopherol	49.8 ± 0.3	12.4 ± 0.4	12.5 ± 0.3	12.6 ± 0.4	12.3 ± 0.5
100 µg *all-rac*-α-Tocopherol	50.1 ± 0.2	12.3 ± 0.3	12.6 ± 0.2	12.5 ± 0.4	12.6 ± 0.3
2 µg *RRR*-α-Tocopherol	n. n.	n. n.	n. n.	100.0	n. n.
5 µg *RRR*-α-Tocopherol	n. n.	n. n.	n. n.	100.0	n. n.
10 µg *RRR*-α-Tocopherol	n. n.	n. n.	n. n.	100.0	n. n.
25 µg *RRR*-α-Tocopherol	n. n.	n. n.	n. n.	100.0	n. n.
50 µg *RRR*-α-Tocopherol	n. n.	n. n.	n. n.	100.0	n. n.
100 µg *RRR*-α-Tocopherol	n. n.	n. n.	n. n.	100.0	n. n.

n. n. nicht nachweisbar

Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass eine vollständige Erfassung der α-Tocopherylmethylether mit dieser Methode erreichbar ist. Unabhängig von der Konzentration setzt sich der *all-rac*-α-Tocopherol-Standard zu 50 % aus den 2*S*-Isomeren und jeweils 12.5 % aus den einzelnen 2*R*-Isomeren zusammen (siehe Abbildung 15), während im *RRR*-α-Tocopherol nur dieses Isomer nachweisbar war. Sämtliche α-Tocopherylmethylether weisen gleiche Fluoreszenz- und Absorptionseigenschaften auf. Eine Unterscheidung synthetischen α-Tocopherols von natürlichem α-Tocopherol ist eindeutig möglich. Die Ergebnisse sind sehr gut reproduzierbar, so dass im Rahmen der weiteren Untersuchungen eine einmalige Bestimmung im Muskelgewebe bzw. Blutplasma der Rinder ausreichend ist.

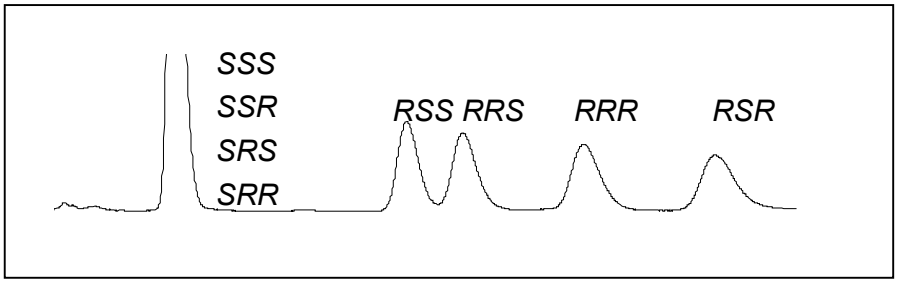


Abbildung 15: Ausschnitte eines Chromatogrammes von *all-rac*-α-Tocopherylmethylether

Die Identifizierung der einzelnen Stereoisomere erfolgte nach der von RISS et al.

(1994) angegebenen Elutionsreihenfolge. Die Retentionszeiten wurden mit *all-rac*-α-Tocopherol bzw. mit natürlichem *RRR*-α-Tocopherol bestimmt. Andere Stereoisomere als Standardsubstanzen standen nicht zur Verfügung.

Die Anwendung von Trennsäulen im analytischen Maßstab führen im Vergleich zu (semi-)präparativen Trennsäulen zu einem deutlich verringerten Verbrauch organischer Lösungsmittel. Gerätetechnisch war ein direktes Recyling des Eluenten nicht möglich, was allerdings den Vorteil hatte, dass eine Anreicherung von Störsubstanzen in der mobilen Phase vermieden wurde. Das Volumen der gesammelten Fraktionen betrug ca. 1 bis 2 ml, wobei eine Verringerung dieser Volumina durch Begasen mit Stickstoff aufgrund der hohen Flüchtigkeit der verwendeten Lösungsmittel (*n*-Hexan und Ethylacetat) sehr schnell erreicht werden konnte. Eine Anreicherung des α-Tocopherols im präparativen Maßstab (BRUNS, 1991) war nicht notwendig, da die semipräparative Anreicherung ausreichende Mengen an α-Tocopherol zur Derivatisierung zur Verfügung stellte.

Der Umgang mit Dimethylsulfat bedarf wegen seiner Toxizität gewisser Sicherheitsvorkehrungen, die in einem analytischen Labor nicht ungewöhnlich sind. Dimethylsulfat gilt als sehr giftig, cancerogen (Kategorie 2) und mutagen (Kategorie 3). Die möglichen Alternativen zur Veretherung des freien α-Tocopherols sind Methyliodid (Williamson-Ethersynthese) und Diazomethan, die sich hinsichtlich der Toxizität nur unwesentlich von Dimethylsulfat unterscheiden.

RISS et al. (1994) führen nicht aus, wie sie den α-Tocopherylmethylether nach der Derivatisierung aus dem wässrigen Milieu extrahieren. Nachdem der Ethylenglycoldimethylether im Stickstoffstrom entfernt worden war, wurde der verbleibende Rückstand im Reaktionsgefäß mit Wasser versetzt. Zur Extraktion wurde *n*-Hexan verwendet. Nach Zugabe des Lösungsmittels wurde das Reaktionsgefäß verschlossen, ca. eine Minute auf dem Vortex-Mixer vermischt und zur Phasentrennung kurz zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt und der Extraktionsvorgang wiederholt. Eine weitere Extraktion führte nicht zu signifikant größeren Ausbeuten. Der gesammelte Extrakt wurde im Folgenden unter dem Stickstoffstrom zur Trockne eingeengt und in einem definierten Volumen *n*-Hexan (100 µl) aufgenommen.

Die Verwendung des bewährten Elutionsgemisches aus *n*-Hexan und Ethylacetat bedingte aufgrund der Eigenabsorption des letzteren eine Veränderung der Detektionswellenlänge im Verlauf der Reinigung des Rohextraktes (290 statt 220 nm). Diese Änderung des chromatographischen Systems zur Reinigung der α-Tocopherylmethylether blieb jedoch für das Ergebnis der Fraktionierung sowie eventuelle Analytverluste bedeutungslos. Die Quantifizierung der Stereoisomere auf der chiralen HPLC-Säule erfolgte unter den von RISS et al. (1994) beschriebenen Bedingungen mit *n*-Hexan. Die α-Tocopherylmethylether wurden sowohl mittels UV-Detektor als auch mit Hilfe eines FD erfasst. Die Absorption wurde erneut bei der selektiveren Wellenlänge von 290 nm anstelle der laut Originalvorschrift vorgesehenen Wellenlänge von 220 nm gemessen, während die Fluoreszenzeigenschaften denen des

freien α-Tocopherols entsprachen.

Auch unter Stickstoffatmosphäre erwies sich die Stabilität der α-Tocopherylmethylether bei Lagerung unter Kühlschrankbedingungen als begrenzt. Bereits nach zwei Tagen wurde ein signifikanter Verlust festgestellt. Bei Tiefkühllagerung (-80 °C) konnte über einen Zeitraum von knapp sechs Wochen keine signifikante Abnahme der Gehalte an α-Tocopherylmethylethern festgestellt werden. Ob die Lagerfähigkeit durch die Begasung mit einem Inertgas (Stickstoff) beeinflusst wird, wurde nicht weitergehend untersucht.

Wie aus Tabelle 4 ersichtlich wird, werden neben den einzelnen 2*R*-Isomeren (*RSS*, *RRS*, *RRR*, *RSR*) die 2*S*-Isomere in Summe angegeben. Ein für die Untersuchung der 2*S*-Isomere notwendiges GC-System stand im Rahmen dieser Arbeit nicht zur Verfügung. Entsprechend der Angabe von RISS et al. (1994) ist eine mit Silar 10 C belegte Kapillarsäule in der Lage, die 2*S*-Isomere, wie in Abbildung 16 dargestellt, zu trennen. Die stationäre Phase besteht aus 3-Cyanopropylsiloxan, welches nicht an die Kapillare chemisch gebunden ist. Die Polarität dieses Trennmaterials sollte vergleichbar sein mit der, welche zur Trennung der FAME eingesetzt wird. Diese Säule (CP-Sil 88, 100 % Cyanopropylsilica) vermochte jedoch nicht, die 2*S*-Isomere in einer akzeptablen Zeit zu trennen, so dass auf eine weitere Trennung der 2*S*-Isomere verzichtet wurde.

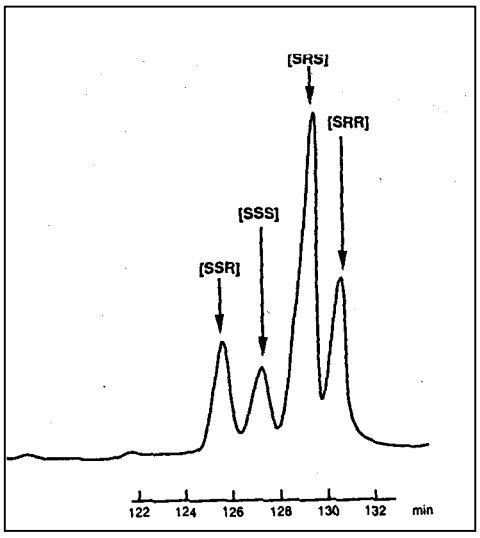


Abbildung 16: Gaschromatogramm der 2*S*-Isomere von α-Tocopherol als α-Tocopherylmethylether (von RISS et al., 1994)

In den Chromatogrammen der Rindfleischproben ist trotz der aufwändigen Reinigung der Extrakte und Derivate ein Störpeak zu erkennen, der mit den 2*S*-Isomeren koeluiert (siehe Abbildung 45). Diese Störsubstanz(en) weisen zu den α-Tocopherylmethylethern unterschiedliche UV-Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften auf. Auch eine wiederholte Reinigung der α-Tocopherylmethylether mittels NP-HPLC vermochte nicht, den Störpeak zu eleminieren, dessen chromatographisches Verhalten folglich dem der α-Tocopherylmethylether gleicht. Da die 2*S*-Isomere in ihrem Beitrag nur einen unwesentlichen Anteil zu den gesamten α-Tocopherylmethylethern stellen, wird auf deren quantitative Bestimmung in den Gewebeproben verzichtet.

6 Fütterungsversuche

Bei verschiedenen Fütterungsstrategien sollten der Einfluß antioxidativ wirkender Futtersupplemente (α-Tocopherylacetat, β-Carotin, L-Ascorbinsäure), der Einfluß unterschiedlicher Rauhfutterarten (MS, GS), der Einfluß einer Weidefütterung bzw. die Dauer der Supplementierung (150 Tage, 180 Tage) auf die verschiedenen Gewebe bzw. das Plasma (Konzentrationen von α-Tocopherol und β-Carotin, Fettsäurespektren, oxidative Stabilität und Gehalte an MDA) aufgezeigt werden. Von Interesse waren hierbei insbesondere Korrelationen zwischen den verschiedenen Parametern, die die Wirkung einer bestimmten Fütterungsform bzw. eines Supplementes bestätigen.

6.1 Fütterungsversuch I (Färsen)

Für diesen Fütterungsversuch wurden 36 „Deutsche Fleckvieh"-Färsen zufällig in drei Fütterungsgruppen eingeteilt, die entweder MS und Kraftfutter oder MS, Kraftfutter und α-Tocopherylacetat erhielten. Eine weitere Fütterungsgruppe aus zwölf Tieren wurde auf der Weide gehalten (siehe Tabelle 5). Über einen Zeitraum von 180 Tagen (Mai 1998 bis Oktober 1998) wurde die kontrollierte Fütterung vorgenommen. Zuzüglich zu MS (ad libitum) und Kraftfutter (2.3 kg/Tag) erhielt die Fütterungsgruppe MS T pro Tag 1000 mg α-Tocopherylacetat (Rovimix E-50 Adsorbat, F. Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz). Die Kraftfuttermischung enthielt Nährstoffe sowie Mineralstoffe, Spurenelemente und Vitamine, die einer Standardmast entsprachen (SCHWARZ et al., 1998). Zum Zeitpunkt der Schlachtung betrug das Gewicht der Tiere 412 bis 591 kg (Mittelwert: 487 kg).

Die Tiere wurden auf Gut Hirschau der Technischen Universität München, Department für Tierwissenschaften - Bereich Tierernährung (Freising-Weihenstephan) gemästet und die Gewebe- sowie Plasmaproben freundlicherweise zu Untersuchungszwecken zur Verfügung gestellt.

Tabelle 5: Einteilung der Fütterungsgruppen für den Fütterungsversuch I (Fleckvieh-Färsen)

Bezeichnung der Mastgruppe	***Maissilage-Kontrolle (MS K)***	***Maissilage-α-Tocopherol (MS T)***	***Weide***
Rauhfutter [1]	Maissilage	Maissilage	Weidegras
Kraftfutter [2]	2.3 kg	2.3 kg	-
Art der Zulage	-	*all-rac*-α-Tocopherylacetat	-
Menge der Zulage [2]	-	1000 mg	-
Anzahl der Tiere (n)	12	12	12

[1] ad libitum [2] pro Tier und Tag

Die Gehalte an Antioxidantien bzw. Retinol in den Muskel-, Leber- und Plasmaproben sämtlicher Tiere wurden jeweils doppelt bestimmt. Die Quantifizierungen der antioxidativen Kapazität und des Gehaltes an MDA im MLD und im Plasma erfolgten

ebenfalls für alle Tiere in Doppelbestimmung, während die Fettsäuremuster (Plasma, MLD und Leber) von jeweils sechs zufällig ausgewählten Tieren jeweils einfach bestimmt wurden.

6.2 Ergebnisse

6.2.1 Gehalte an Antioxidantien und Retinol

α-Tocopherol

In den untersuchten Geweben bzw. dem Plasma können in Abhängigkeit von der Menge des angebotenen α-Tocopherols große Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen aufgezeigt werden (siehe Abbildung 17). Die höchste Anreicherung kann im Lebergewebe festgestellt werden. Im Muskelgewebe wird in der Kontrollgruppe ein Gehalt von 0.7 mg/kg bestimmt, bei einer Anreicherung des Futters mit 1000 mg α-Tocopherylacetat pro Tag steigt dieser Wert sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) auf 2.2 mg/kg. Diese Konzentration wird von den Weidetieren mit 3.5 mg/kg ebenfalls sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) übertroffen. In gleicher Weise kann ein Anstieg im Plasma-α-Tocopherol-Gehalt (MS K: 0.5, MS T: 1.8 bzw. Weide: 3.6 mg/l) und im Gehalt an α-Tocopherol in der Leber (MS K: 0.6, MS T: 5.7 bzw. Weide: 9.5 mg/kg) festgestellt werden. Die Unterschiede sind mit Ausnahme der Differenz zwischen den α-Tocopherol-Konzentrationen im Plasma der MS T- und Weidetiere jeweils sehr hoch signifikant ($p < 0.001$). Der Unterschied zwischen den Gehalten an Plasma-α-Tocopherol ist zwischen den Weidetieren und den Färsen, die mit α-Tocopherol supplementiertes Futter erhielten, nur hoch signifikant ($p < 0.01$) (Einzelwerte siehe Tab. A- 11).

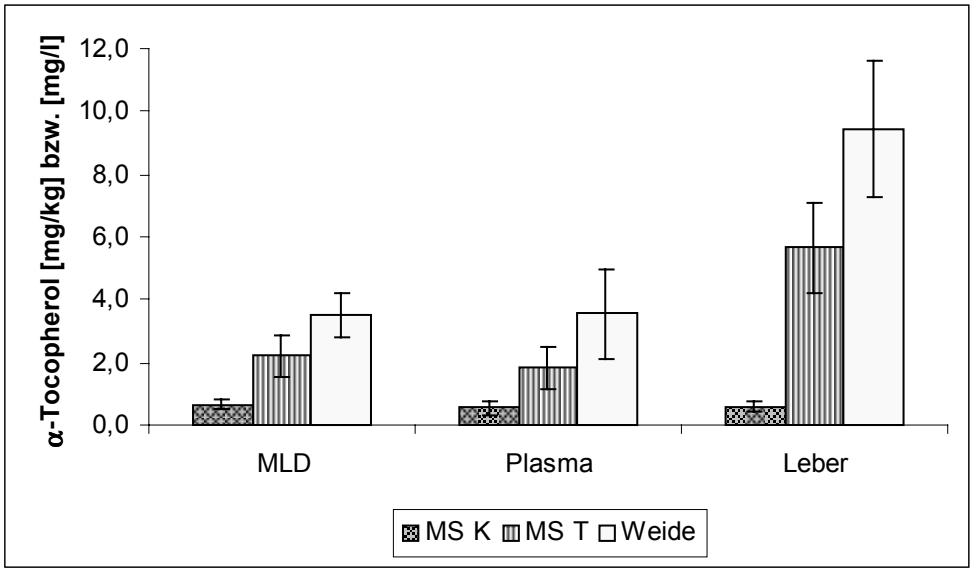


Abbildung 17: Mittelwerte und Standardabweichungen der α-Tocopherol-Konzentrationen in verschiedenen Geweben und im Plasma der Färsen (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 12)

β-Carotin

Ein vollständig anderes Bild zeigen die Gehalte an β-Carotin im Muskel, in der Leber und im Plasma (siehe Abbildung 18). Während im Muskelgewebe bei den Fütterungsgruppen MS K und MS T die β-Carotin-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze liegen, kann bei den Weidetieren ein Gehalt von 0.3 mg/kg nachgewiesen werden. Im Plasma der MS K-Tiere werden 0.3 mg/l, in dem der MS T-Tiere 0.2 mg/l und im Blutplasma der Weidetiere 4.1 mg/l β-Carotin bestimmt. Bei den Lebergeweben betragen die Konzentrationen jeweils 0.9 mg/kg (MS-Tiere) bzw. 14.5 mg/kg (Weidetiere). Der Gehalt an β-Carotin ist folglich unabhängig von einer eventuellen Supplementierung des Futters mit α-Tocopherol. Sowohl die Unterschiede der β-Carotin-Konzentrationen der Fütterungsgruppe MS K als auch die der MS T-Tiere sind im Vergleich zu den Weidetieren sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) (Einzelwerte siehe Tab. A- 12).

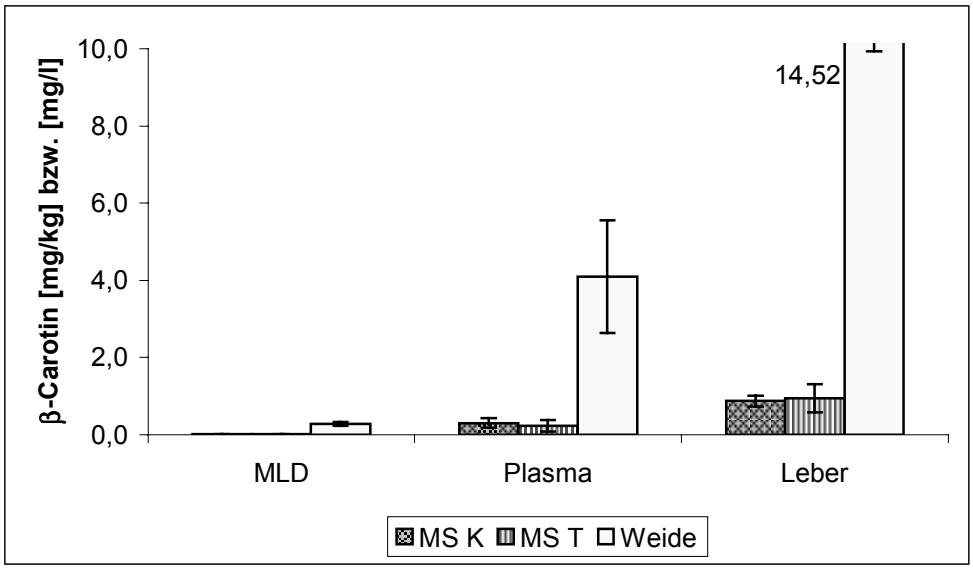


Abbildung 18: Mittelwerte und Standardabweichungen der β-Carotin-Konzentrationen in verschiedenen Geweben und im Plasma der Färsen (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 12)

Retinol

Die Gehalte an Retinol im Plasma schwanken zwischen 0.53 mg/l in den Weidetieren und 0.70 bis 0.92 mg/l in den MS-Tieren. Dabei ist der Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen MS T und Weide hoch signifikant ($p < 0.01$), der zwischen MS K und Weide signifikant ($p < 0.05$). Zwischen den MS-Tieren kann kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden. Somit weisen die Weidetiere im Blutplasma trotz des vielfach höheren Gehaltes an Provitamin A (β-Carotin) niedrigere Gehalte als die MS-Tiere auf (Einzelwerte siehe Tab. A- 13).

6.2.2 Fettsäurespektren

Die Ergebnisse der Fettsäurespektren unterscheiden sich unabhängig von den verschiedenen Futtersupplementen bei gleichen Rauhfuttergrundlagen nur unwesentlich. Auffallend sind dagegen die Unterschiede der Gehalte einzelner FA bzw. Fettsäureklassen in den einzelnen Fettfraktionen bei verschiedenem Rauhfutterangebot. Da TIMM (2000) keine signifikanten Unterschiede in den Fettsäurespektren der Gesamtfette feststellen konnte, wurde (außer beim Nierenfett) auf diese Untersuchung verzichtet.

MLD-Fraktion der CE + TG

Die gemischte Fettfraktion der Neutrallipide (CE und TG) im MLD besteht hauptsächlich (> 96 %) aus MUFA und SFA. Die MUFA tragen zwischen 50.2 % und 55.3 % zu den gesammten Fettsäuren bei, wobei die Ölsäure mit 45.5 % bis 50.8 % den größten Anteil besitzt. Der Anteil an Palmitin- und Stearinsäure beträgt zwischen 22.0 % und 27.8 % bzw. 14.3 % und 18.4 %. Neben geringen Mengen von Myristinsäure sind die beiden erstgenannten Fettsäuren die Hauptvertreter der MUFA, die in Summe zwischen 41.6 % und 46.5 % der gesamten Fettsäuren dieser Mischfraktion ausmachen. Die Fettsäurespektren der verschiedenen Fütterungsgruppen weisen deutliche Unterschiede auf, die sich hauptsächlich zwischen den Arten des Grundfutters (MS $\leftrightarrow$ Weidegang) verdeutlichen.
Auffallend sind die tendenziellen Unterschiede in den Gehalten an SFA und MUFA zwischen MS K und MS T, die hauptsächlich auf unterschiedliche Anteile an Palmitin- und Ölsäure zurückzuführen sind. Die zugrundeliegenden Einzelwerte unterliegen starken Schwankungen, so dass sich beispielhaft für den Gehalt an Palmitinsäure ein Variationskoeffizient von 23 % ergibt. Statistisch signifikante Ausreißerwerte konnten jedoch innerhalb der einzelnen Werte nicht identifiziert werden. Die weitaus weniger im Vergleich zum arithmetischen Mittel gegen Extremwerte empfindlichen Medianwerte betragen für die Palmitinsäure 24.5 % (MS K) und 25.1 % (MS T) bzw. für die Ölsäure 50.4 % (MS K) und 47.5 % (MS T). Deutliche Unterschiede zwischen den Medianwerten sind nicht zu erkennen. Dennoch ist der prozentuale Anteil der Ölsäure an den gesamten Fettsäuren der untersuchten Fraktion in der Fütterungsgruppe MS K tendenziell gegenüber dem der Weidetiere erhöht. Sehr auffällig sind die Anteile der gesättigten Fettsäuren (Palmitin- und Stearinsäure). Es sind zwar keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren der Gruppen MS K und MS T feststellbar, jedoch sind die Gehalte an Palmitinsäure bei den MS-Tieren mit 24.6 % (MS K) und 27.8 % (MS T) tendenziell höher als die der Weidetiere (22.0 %). Ein umgekehrtes Bild ergibt sich bei der Stearinsäure. Dort ist der Anteil bei den Weide-Tieren (18.4 %) verglichen mit denen der MS-Tiere erhöht (MS K: 14.3 %, MS T: 15.2 %). Der Unterschied der prozentualen Stearinsäuregehalte zwischen den Tieren der Gruppe MS K zu den Weide-Tieren ist signifikant ($p < 0.05$). Die Medianwerte verhalten sich analog. Sehr hoch signifikante Unterschiede ($p < 0.001$) ergeben sich zwischen den Weide-Tieren und den Tieren der jeweiligen anderen Fütterungsgruppen (MS K und MS T) in den Gehalten der

n-3-PUFA (hauptsächlich α-Linolensäure), die bei den MS-Tieren 0.5 % (MS K) bzw. 0.4 % (MS T) im Vergleich zu 1.2 % (Weide) betragen. Derart deutlich sind die Unterschiede zwischen den PUFA insgesamt nicht. Zwischen den Gruppen MS K und Weide (nicht zwischen Weide und MS T) ist der Unterschied signifikant ($p < 0.05$) (Einzelwerte siehe Tab. A- 14).

MLD-Fraktion der PL

Die polaren Lipide des MLD besitzen eine vollständig andere FA-Zusammensetzung. Sie bestehen in Abhängigkeit von der Fütterungsgruppe zu 38.8 bis 40.5 % aus PUFA, 33.5 bis 36.2 % aus SFA und 23.5 bis 27.6 % aus MUFA. Während sich wie bei den Neutrallipiden zwischen den Fütterungsgruppen keine signifikanten Unterschiede in den gesamten PUFA-Gehalten ergeben, zeigen sich hier sowohl bei den n-3-PUFA als auch bei den n-6-PUFA deutliche Unterschiede. Die n-3-PUFA-Gehalte der Fütterungsgruppe MS T (5.1 %) sind sogar tendenziell gegenüber denen der MS K (4.4 %) erhöht. Die Unterscheide beider MS-Gruppen zu den Weidetieren (10.3 %) sind sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) und sind hauptsächlich auf unterschiedliche Anteile an α-Linolen- und Eicosapentaensäure zurückzuführen. Gegenläufig verhalten sich die n-6-PUFA-Anteile. Die Weidetiere enthalten in den PL des Muskelgewebes mit durchschnittlich 29.9 % hoch signifikant ($p < 0.01$) geringere Mengen als die Tiere der Fütterungsgruppe MS T (34.3 %) bzw. signifikant ($p < 0.05$) geringere Anteile als die Färsen der Kontrollgruppe (MS K) mit 34.2 %. Diese Unterschiede sind auf geringere Gehalte an Linol- und Arachidonsäure zurückzuführen. Die tendenziellen Unterschiede der SFA- und MUFA-Anteile zwischen den MS- und Weidetieren beruhen auf unterschiedlichen Anteilen an Palmitin- und Stearin- bzw. Ölsäure. Die Anteile der SFA sind in den PL des Muskelgewebes bei den Weidetieren gegenüber den auf MS-Basis gemästeten Tieren erhöht. Umgekehrt verhält es sich mit den MUFA (Einzelwerte siehe Tab. A- 15).

MLD-Fraktion der PE

Die PE-Fraktion des MLD besteht zu ca. 2/3 aus PUFA. Zwischen den relativen PUFA-Anteilen bestehen erneut keine Unterschiede. Auffallend sind die sehr hohen Anteile der n-3-PUFA mit 6.4 % (MS T), 7.6 % (MS K) bzw. 16.4 % (Weide). Der Unterschied zwischen den MS-Tieren und den Weidetieren ist wie bei der α-Linolen- und bei der Eicosapentaensäure sehr hoch signifikant ($p < 0.001$). Dagegen zeigen sich bei den n-6-PUFA 57.2 % (MS K), 58.8 % (MS T) und 49.9 % (Weide) starke Schwankungen der Einzelwerte, so dass die Unterschiede zwischen Weide und MS K noch signifikant ($p < 0.05$), zwischen Weide und MS T nicht mehr signifikant sind. Dabei sind die Unterscheide bei den beiden Hauptvertretern der n-6-PUFA (Arachidon- und Eicosatriensäure) zwischen Weide und MS K hoch signifikant ($p < 0.01$) und zwischen Weide und MS T sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) (siehe Abbildung 19). Sogar zwischen MS K (5.3 %) und MS T (6.4 %) ergeben sich bei der Eicosatriensäure tendenzielle Unterschiede. Der relative Anteil der MUFA ist bei den Weidetieren (13.8 %) tendenziell geringer als bei MS K (16.5 %) und MS T (18.3 %), was hauptsächlich auf die entsprechenden Anteile der Ölsäure zurückzuführen ist.

Bei den SFA (16.0 bis 19.4 %) ergeben sich aufgrund der Schwankungen der Einzelwerte keine signifikanten Unterscheide, obwohl bei der Stearinsäure signifikante ($p < 0.05$) Unterschiede zwischen MS K (13.8 %) bzw. MS T (11.7 %) und Weide (16.2 %) festgestellt werden.

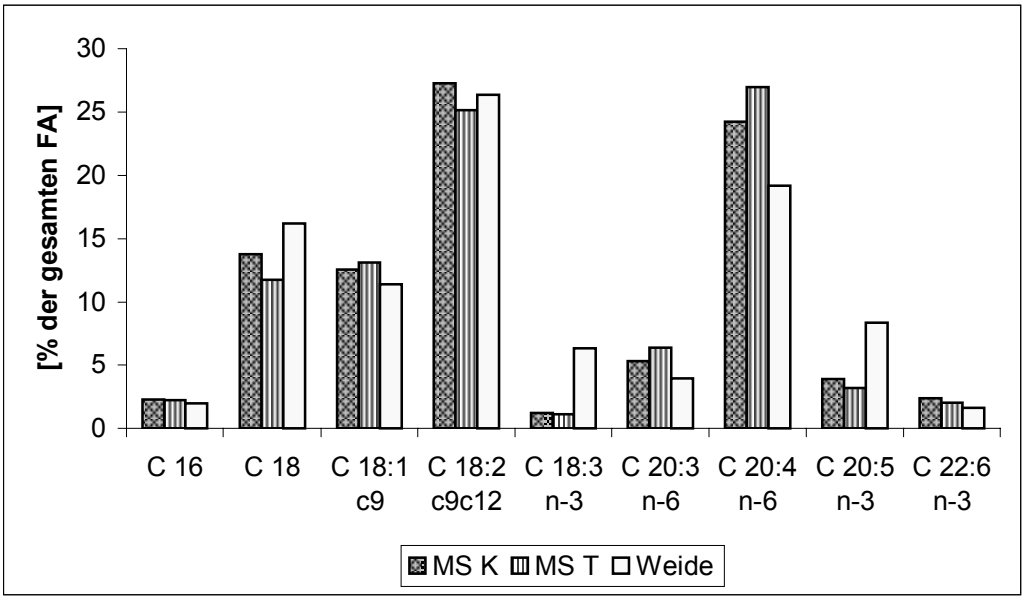


Abbildung 19: Mittelwerte der Anteile ausgewählter FA von MLD-PE (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 5 - 6)

Palmitinsäure ist als zweithäufigste Vertreterin der SFA in allen Fütterungsgruppen zu ca. 2 % enthalten (MS K: 2.3 %, MS T: 2.2 % und Weide: 2.0 %) (Einzelwerte siehe Tab. A- 16).

MLD-Fraktion der PI + PS

Die Lipide dieser Mischfraktion des MLD setzen sich durchschnittlich zu 16.9 bis 20.9 % MUFA, 28.6 bis 36.5 % PUFA und 44.5 bis 53.8 % SFA zusammen. Aufgrund der großen Streubreite der Einzelwerte sind nur wenige signifikante Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen feststellbar. Bei den Weidetieren ist die Stearinsäure mit 47.7 % gegenüber den Tieren, die auf MS-Basis gemästet wurden, mit 36.9 % (MS K) und 43.2 % (MS T) tendenziell erhöht. Der Variationskoeffizient zur Bestimmung der Stearinsäure bei den MS K-Tieren beträgt fast 37 %, so dass für den Vergleich die Medianwerte herangezogen werden. Diese betragen 41.7 % (MS K), 43.2 % (MS T) bzw. 45.3 % (Weide) und zeigen die gleiche Tendenz wie die Mittelwerte. Der Beitrag der Stearinsäure zu den SFA beträgt bei allen drei Fütterungsgruppen mehr als 83 %, so dass sich dieser Summenparameter wie erwartet analog verhält. Weder signifikante noch tendenzielle Unterschiede können bei den MUFA festgestellt werden. In bereits bekannter Weise verhalten sich die PUFA, wobei im Vergleich der Medianwerte ein verringerter Anteil bei den Weidetieren festgestellt werden kann. Während bei den PUFA insgesamt erneut keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, fallen bei genauerer Betrachtung der n-3- bzw. n-6-PUFA die bereits beschriebenen Unterschiede zwischen den Weide- und den

MS-Tieren auf. Die prozentualen Anteile der n-3-PUFA ist bei den Weidetieren im Vergleich zu den MS-Tieren signifikant ($p < 0.05$) (MS K) bzw. sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) gegenüber den MS T-Tieren erhöht. In vergleichbarer Weise verhalten sich ebenfalls die Anteile an α-Linolen- und Eicosapentaensäure, nicht jedoch die der Docosahexaensäure. Bedingt durch geringere Anteile an Eicosatrien- und Arachidonsäure sind in dieser Fettfraktion die n-6-PUFA-Gehalte der Weidetiere im Vergleich zu den MS-Tieren erniedrigt, wobei der Unterschied nur zur Fütterungsgruppe MS T hoch signifikant ($p < 0.01$) ist. Die Unterschiede bei den n-3- und n-6-PUFA wird anhand der Medianwerte deutlicher (Einzelwerte siehe Tab. A- 17).

MLD-Fraktion der PC

Die PC-Fraktion des MLD setzt sich durchschnittlich zu 23.3 bis 30.3 % aus SFA, 35.5 bis 41.2 % aus MUFA und zu 32.9 bis 35.1 % aus PUFA zusammen (siehe Abbildung 20).

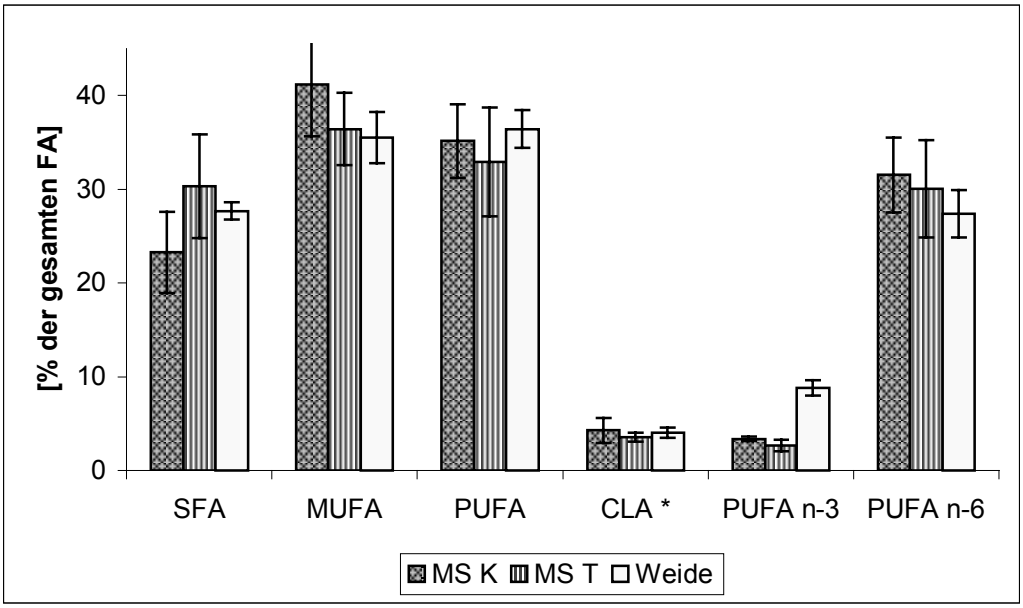


Abbildung 20: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäureklassen der MLD-PC; CLA multipliziert mit Faktor 10 (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 5 - 6)

Bei den SFA ergeben sich signifikante ($p < 0.05$) Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen Weide und MS K. Die Anteile der MUFA unterscheiden sich zwischen den drei Fütterungsgruppem nicht signifikant, wobei der Anteil bei der Gruppe MS K gegenüber den Weidetieren leicht erhöht erscheint. Auch die gesamten PUFA weisen wiederholt keine signifikanten Unterschiede auf. Allerdings sind besonders bei den n-3-PUFA deutliche Unterschiede erkennbar. Bedingt durch erhöhte Anteile an α-Linolen- und Eicosapentaensäure enthalten die Weidetiere (8.8 %) sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) größere Anteile n-3-PUFA als die MS-Tiere (MS K: 3.4 %, MS T: 2.7 %). Zwischen den beiden MS-Fütterungsgruppen ergibt sich ebenfalls ein Unterschied, der aber nicht signifikant ist. Die n-6-PUFA weisen keine derart deutlichen Unterschiede auf. Unter Berücksichtigung der Medianwerte zeigt sich auch hier ein verhältnismäßig nierdriger Anteil in den Weidetieren (26.4 %) im

Vergleich zu den MS K-Tieren (31.4 %) bzw. MS T-Tieren (33.4 %). Analog verhalten sich die Anteile der Linol- und Arachidonsäure, wobei sich die Gehalte der letztgenannten FA zwischen den Weidetieren und den MS K-Tieren hoch signifikant ($p < 0.01$) unterscheiden. Die prozentualen Anteile an CLA sind mit 0.4 % in dieser Fraktion im Vergleich zu den anderen Fraktionen verhältnismäßig gering (Einzelwerte siehe Tab. A- 18).

Leber-Fraktion der CE

Die CE-Fraktion des Lebergewebes enthält 39.1 bis 46.3 % SFA, 29.6 bis 32.3 % MUFA und 23.4 bis 27.2 % PUFA. Die einzelnen Werte innerhalb jeder Fütterungsgruppe besitzen eine große Streubreite, so dass keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden können. Ein Vergleich der Medianwerte zeigt einen erhöhten Anteil an Palmitin- und Stearinsäure in den Weidetieren im Vergleich zu den MS-Tieren, der im Summenparameter SFA nicht deutlich wird. Die Unterschiede innerhalb der PUFA, insbesondere der Linolsäure sind zwischen den MS K- und MS T-Tieren bereits auffällig und lassen sich nur durch zufällige, natürliche Schwankungen erklären. Möglicherweise weist diese Lipidfraktion, die zu deutlich weniger als 3 % zu den Gesamtlipiden der Leber beiträgt, nicht die ausreichende Reinheit und notwendige Menge auf (Einzelwerte siehe Tab. A- 19).

Leber-Fraktion der TG

Etwa 5 % der gesamten Leber-Lipide sind TG. Aufgrund dieser geringen Gehalte ergeben sich bei der Bestimmung der Fettsäuremuster wie bei der CE-Fraktion sehr große Standardabweichungen, die nur wenige signifikante Unterschiede erkennen lassen. Die Anteile der SFA schwanken zwischen 41.9 und 51.0 %, die der MUFA zwischen 21.4 und 35.3 % und die der PUFA zwischen 15.8 und 26.6 %. Sehr hoch signifikante ($p < 0.001$) Unterschiede können zwischen den Gruppen MS K und Weide bzw. MS T und Weide bei den MUFA festgestellt werden. Die prozentualen Anteile lagen bei 35.3 % (MS K), 32.3 % (MS T) bzw. 21.4 % (Weide). Als Ursache sind die deutlich geringeren Gehalte an Palmitolein- und Ölsäure in den Leber-TG der Weidetiere zu nennen, die sich mindestens signifikant ($p < 0.05$) zu den jeweiligen Gehalten der MS-Tiere unterscheiden. Ungewöhnlich ist der hohe Anteil der Arachidonsäure in den Leber-TG der Weidetiere, da die n-6-PUFA bei bisher sämtlichen untersuchten Fraktionen bei den Weidetieren niedriger waren als bei den MS-Tieren. Während für die α-Linolensäure als Hauptvertreter der n-3-PUFA wieder der typische Anstieg im relativen Anteil bei den Weidetieren beobachtet werden kann (signifikant; $p < 0.05$), ist bei den gesamten n-3-PUFA allenfalls eine derartige Tendenz zu erkennen. Ungewöhnlich ist hier der im Vergleich zu den Anteilen in den Leber TG der MS-Tiere niedrige Gehalt an Eicosapentaensäure bei den Weidetieren. Mit einem Anteil von 1.3 % enthalten die Weidetiere in ihren Leber-TG signifikant höhere Mengen CLA im Vergleich zu den MS K-Tieren (0.8 %). Der Unterschied zu den CLA-Gehalten der MS T-Tiere (0.9 %) ist nicht signifikant (Einzelwerte siehe Tab. A- 20).

Leber-Fraktion der PL

Die polaren Lipide der Leber bestehen in ihrer Gesamtheit zu 49.8 bis 54.9 % aus SFA (hauptsächlich Stearin- und Palmitinsäure), 12.5 bis 13.9 % aus MUFA (hauptsächlich Ölsäure) und zu 31.4 bis 37.7 % aus PUFA (im Wesentlichen aus den n-6-PUFA: Arachidon-, Linol- und Eicosatriensäure). Während die MUFA-Anteile unabhängig von der Fütterungsgruppe als konstant anzusehen sind, sind sowohl bei den SFA als auch bei den PUFA deutliche Unterschiede zu erkennen. Die Weidetiere enthalten im Vergleich zu den MS K-Tieren sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) höhere Anteile an SFA, die auf ebenfalls sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) größere Anteile an Palmitinsäure bzw. (nicht signifikant) höhere Stearinsäure-Anteile zurückzuführen sind. Auch zwischen den Weidetieren und den mit MS T ergeben sich im SFA-Anteil signifikante ($p < 0.05$) Unterschiede, die auch bei der Stearinsäure und bei der Palmitinsäure feststellbar sind. Die PUFA der Weidetier-PL weisen im Vergleich zu den MS-Tieren sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) geringere (MS K) bzw. hoch signifikant ($p < 0.01$) geringere (MS T) prozentuale Anteile auf, wobei der Anteil der n-3-PUFA bei den Weidetieren sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) im Vergleich zu den MS K-Tieren bzw. signifikant ($p < 0.05$) zu den MS T-Tieren erhöht ist, während sich die n-6-PUFA in ungleich größerem Maße entgegengesetzt verhalten. Die Unterschiede zwischen Weide und MS K sind sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) bzw. zwischen Weide und MS T hoch signifikant ($p < 0.01$).

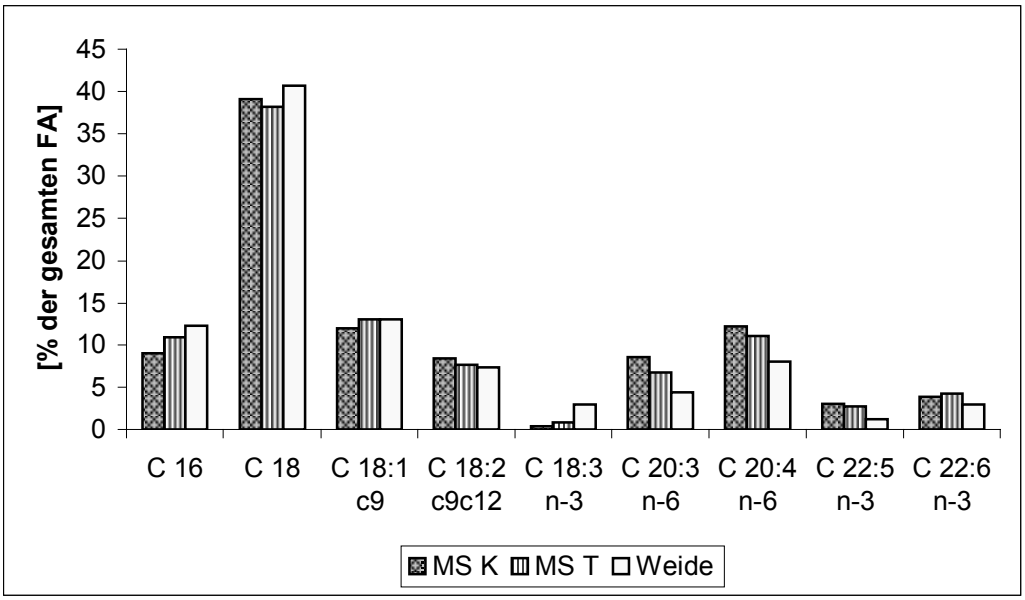


Abbildung 21: Mittelwerte der Anteile ausgewählter FA von Leber-PL (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

Der relative Anstieg der n-3-PUFA bei den Weidetieren ist mit gleichzeitig größeren Anteilen an α-Linolen- und Eicosapentaensäure zu erklären, wobei der Unterschied der relativen Anteile zwischen den Weidetieren und den MS K-Tieren jeweils sehr hoch signifikant ($p < 0.001$), der zwischen den Weidetieren und den MS T-Tieren im Falle der Eicosapentaensäure signifikant ($p < 0.05$) und im Falle der α-Linolensäure hoch signifikant ($p < 0.01$) ist (siehe Abbildung 21).

Ungewöhnlich erscheinen die Anteile der Docosahexaensäure bei den Weidetieren im Vergleich zu den MS-Tieren signifikant ($p < 0.05$) erniedrigt. Bei den Weidetieren wird erneut ein erniedrigter Anteil an n-6-PUFA aufgezeigt. Mit auf gleichen Signifikanzniveaux liegenden Unterschieden verhalten sich analog zu den n-6-PUFA auch deren Hauptvertreter Eicosatrien- und Arachidonsäure. Auch zwischen den Gruppen MS K und MS T können in den PL der Leber Unterschiede nachgewiesen werden, die zwar statistisch abgesichert sind aber auch auf natürlichen Schwankungen beruhen können. Der relative Gehalt an Palmitinsäure ist bei den MS T-Tieren erhöht. Demgegenüber sind die Anteile an n-6-PUFA und gleichzeitig an Eicosatriensäure bei den MS T-Tieren gegenüber den MS K-Tieren erniedrigt. Gleichzeitig kann in den MS K-Tieren ein relativ niedrigerer Anteil an n-3-PUFA festgestellt werden (Einzelwerte siehe Tab. A- 21).

Leber-Fraktion der PE

Die Leber-PE-Fraktion setzt sich zum größten Teil aus Stearin-, Arachidon-, Öl-, Linol- und Palmitinsäure zusammen. Wieder können zwischen den Fütterungsgruppen in den MUFA-Anteilen (Weide: 10.7 %, MS K: 11.9 %, MS T: 12.0 %) keine signifikanten Unterschiede aufgezeigt werden. Im Vergleich zu den MS-Tieren enthalten die Weidetiere mit 47.8 % sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) höhere Anteile SFA (MS K: 39.0 % bzw. MS T: 40.5 %), was sich im gleichen Verhältnis bei der Stearinsäure widerspiegelt. In gleichem Maße wie der Anteil der SFA bei den Weidetieren ansteigt sinkt deren PUFA-Anteil auf 41.0 % (Weide) im Vergleich zu den MS-Tieren (MS K: 48.8 % bzw. MS T: 46.9 %). Die hieraus resultierenden Unterschiede sind sehr hoch signifikant ($p < 0.001$). Im Gegensatz zu den PL als Gesamtfraktion kann innerhalb der PE kein relativer Anstieg der n-3-PUFA bei den Weidetieren festgestellt werden, jedoch ist der relative Gehalt der n-6-PUFA erneut bei den Weidetieren gegenüber den MS-K-Tieren hoch signifikant ($p < 0.01$) bzw. gegenüber den MS T-Tieren signifikant ($p < 0.05$) erniedrigt. Somit lässt sich der geringere Gehalt der PUFA durch den geringeren Anteil an n-6-PUFA erklären, der wiederum durch signifikant ($p < 0.05$) geringere Mengen an Eicosatrien- und Arachidonsäure bedingt ist. Der relativ geringe Anteil der n-3-PUFA ist durch die verhältnismäßig geringen Anteile der Eicosapentaen- und Docosahexaensäure in den Weidetieren im Vergleich zu den MS-Tieren zu erklären. Dabei verhält sich die α-Linolensäure in gewohnter Weise und weist bei den Weidetieren (2.5 %) einen sehr hoch signifikant höheren ($p < 0.001$) Anteil als bei den MS-Tieren (0.3 %) auf. Auffallend ist der signifikant höhere Anteil an CLA bei den Weidetieren (Einzelwerte siehe Tab. A- 22).

Leber-Fraktion der PI+PS

Die gemischte Fraktion aus PI und PS setzt sich in ähnlicher Weise zusammen wie die Leber-PE, wobei der SFA-Anteil mit 47.2 bis 49.5 % etwas höher und der Anteil an PUFA mit 37.6 bis 41.9 % leicht erniedrigt gegenüber den PE ist. MUFA sind zu 9.3 bis 11.9 % enthalten (siehe Abbildung 22). Die am häufigsten vertretenen FA sind die Stearin- (über 42 %), Arachidon- (10.0 bis 14.7 %), Linol- (8.7 bis 12.9 %), Eicosatrien- (9.3 bis 12.3 %) und die Ölsäure (8.1 bis 9.4 %). Auffallende

Unterschiede ergeben sich zwischen den Weidetieren und den MS-Tieren bei der Palmitin-, Linol-, α-Linolen-, Eicosatrien- und der Arachidonsäure. Die Anteile sowohl der Palmitin- als auch der Linolsäure sind sowohl gegenüber den MS K-Tieren als auch gegenüber den MS T-Tieren bei den Weidetieren hoch signifikant ($p < 0.01$) größer. Sogar sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) erhöht sind bei den Weidetieren die relativen Mengen an α-Linolen- und Eicosapentaensäure und damit auch die n-3-PUFA (Weide: 9.0 %, MS K: 3.2 % bzw. MS T: 3.6 %).

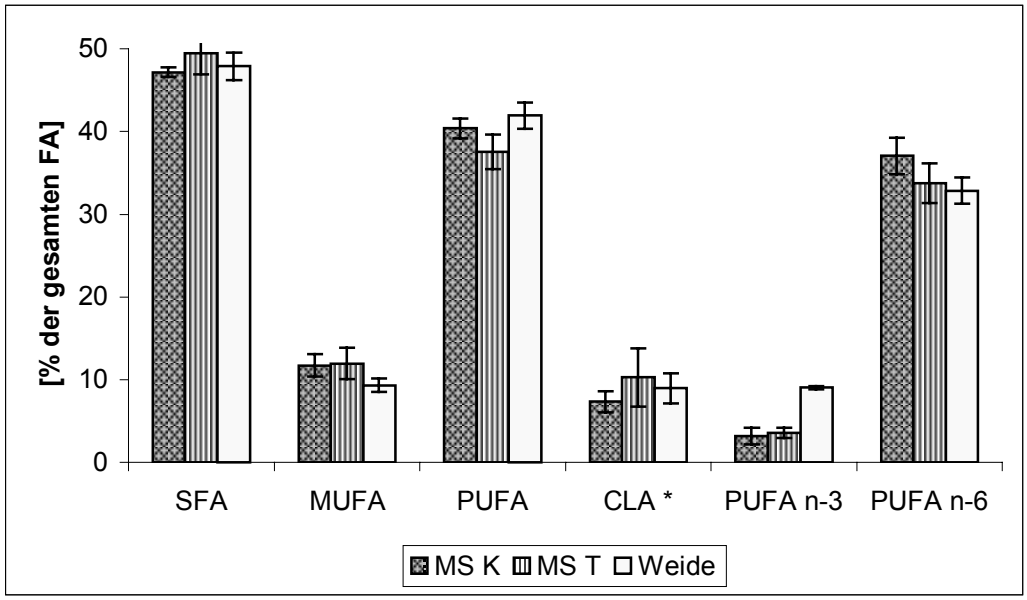


Abbildung 22: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäureklassen der Leber-PI+PS; CLA multipliziert mit Faktor 10 (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 5 - 6)

Während die MUFA-Gehalte der Weidetiere hoch signifikant gegenüber ($p < 0.01$) den MS K-Tieren bzw. signifikant ($p < 0.05$) gegenüber den MS T-Tieren kleiner sind, weisen die Weidetiere hoch signifikant ($p < 0.01$) erhöhte PUFA-Anteile im Verhältnis zu den MS K-Tieren auf, wobei der Unterschied zu den MS T-Tieren nicht signifikant ist. Bedingt durch die geringeren Anteile an Eicosatrien- und Arachidonsäure bei den Weidetieren ist der Anteil der n-6-PUFA gegenüber den MS K-Tieren hoch signifikant ($p < 0.01$) niedriger. Im Vergleich der MS K- zu den MS T-Tieren fallen zusätzliche Unterschiede auf. Diese zeigen sich durch höhere Gehalte an Stearin- und Ölsäure sowie den SFA bzw. niedrigere Anteile an Arachidonsäure, PUFA und n-6-PUFA. Dabei ist lediglich der Unterschied bei den PUFA statistisch signifikant ($p < 0.05$) (Einzelwerte siehe Tab. A- 23).

Leber-Fraktion der PC

Die PC-Fraktion weist von den PL-Unterfraktionen des Lebergewebes den höchsten Anteil an MUFA auf (16.0 bis 16.7 %). Die SFA tragen 44.1 bis 54.2 % zu den Gesamtlipiden dieser Fraktion bei, während die PUFA Anteile zwischen 28.4 und 38.7 % beitragen. Das Fettsäurespektrum setzt sich größtenteils aus Stearin-, Öl-, Palmitin-, Eicosatrien- und Arachidonsäure zusammen. Wie bei der geringen

Schwankungsbreite der MUFA-Anteile zu erwarten, sind hier keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen feststellbar. Dafür sind die SFA-Gehalte der Weidetiere gegenüber den MS-Tieren aufgrund der signifikant ($p < 0.05$) erhöhten Stearinsäuremengen und der sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) höheren Palmitinsäuregehalte größer. Bei anteilig gleichbleibenden n-3-PUFA ist zusätzlich eine sehr hoch signifikante ($p < 0.001$) Abnahme der Eicosatrien- und Arachidonsäure und folglich der n-6-PUFA zu erkennen, die sich in einer ebenfalls sehr hoch signifikanten Abnahme der PUFA äußert. Der stets bei den Weidetieren festzustellende größere Anteil an α-Linolensäure ist auch in dieser Fraktion als signifikant ($p < 0.05$) unterschiedlich zu den MS-Tieren vorhanden, wird aber von einem verhältnismäßig niedrigeren Anteil der Docosahexaensäure bei den Weidetieren ausgeglichen, so dass es wie bereits erwähnt zu keinen signifikanten Unterschieden bei der Summe der n-3-PUFA kommt. Zwischen den Tieren der Fütterungsgruppen MS K und MS T treten wie bei der Mischfraktion aus PI und PS bei den SFA und den PUFA Unterschiede auf. Die Tiere, die α-Tocopherol angereichertes Futter bekamen, zeigen signifikant ($p < 0.05$) mehr SFA, die von einem (nicht signifikant) erhöhten Anteil an Palmitinsäure verursacht werden. Gleichzeitig weisen die MS T-Tiere tendenziell geringere Gehalte an PUFA auf, die mit geringeren Anteilen an Eicosatriensäure korrelieren (Einzelwerte siehe Tab. A- 24).

Plasma-Fraktion der CE

Mit 58.7 bis 68.0 % besitzen die PUFA den größten Anteil an den gesamten Lipiden der Plasma-CE. Die SFA machen 21.8 bis 27.3 % der Lipide und die MUFA 10.2 bis 14.1 % aus (siehe Abbildung 23).

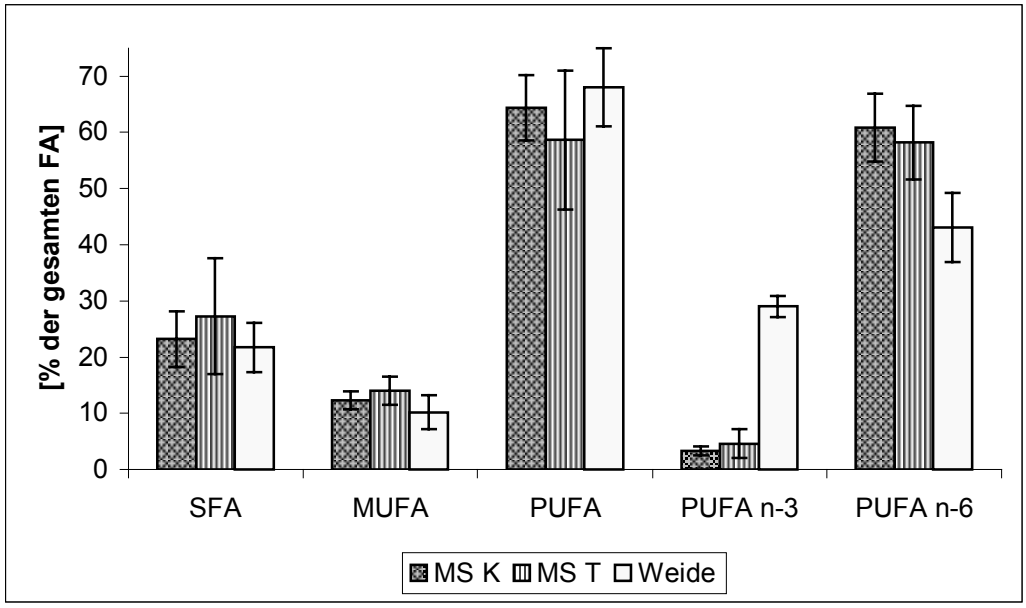


Abbildung 23: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäureklassen der Plasma CE (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

Damit weist diese Fraktion den größten Anteil an PUFA auf. Bei den MS-Tieren setzt sich das Fettsäuremuster aus Linolsäure (ca. 50 %), Palmitin-, Stearin- und Ölsäure (jeweils 9.0 bis 12.6 %) sowie aus Arachidon-, α-Linolen- und γ-Linolensäure (jeweils

2.2 bis 3.9 %) zusammen. Auch bei den Weidetieren dominiert im Fettsäuremuster die Linolsäure (38.3 %), gefolgt von der α-Linolensäure (25.2 %) und Palmitin-, Stearin- sowie der Ölsäure (jeweils 8.3 bis 10.4 %). Signifikante Unterschiede sind trotz der auffälligen Unterschiede der Fettsäuremuster zwischen den drei Fütterungsgruppen weder bei den SFA und MUFA noch bei den PUFA zu erkennen. Um so deutlicher sind Differenzen bei einzelnen FA (Linol-, α-Linolen-, Arachidon- und Eicosapentaensäure), den n-3-PUFA und den n-6-PUFA zu erkennen. Der hoch signifikant ($p < 0.01$) höhere Anteil an Eicosapentaensäure führt zusammen mit einem sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) höheren Anteil an α-Linolensäure zu einem ebenfalls sehr hoch signifikant höheren Anteil an n-3-PUFA in den Weidetieren im Vergleich zu den MS-Tieren. Signifikant ($p < 0.05$) höhere Gehalte an Arachidon-säure und sehr hoch signifikant höhere ($p < 0.001$) Mengen an Linolsäure in den MS-Tieren führen dazu, dass in den Plasma-CE der Weidetiere sehr hoch signifikant geringere Anteile an n-6-PUFA gemessen werden können (Einzelwerte siehe Tab. A- 25).

Plasma-Fraktion der TG

Über die Hälfte der FA der Plasma-TG sind gesättigt (53.2 bis 67.2 %). Die Anteile der MUFA liegen zwischen 20.8 und 28.6 %, PUFA sind zu 12.0 bis 18.2 % enthalten. Die Schwankungen der Einzelwerte führen zu sehr großen Standardabweichungen, die kaum statistisch abgesicherte Unterschiede erkennbar werden lassen. Die Fettsäurespektren der MS-Tiere auf der einen Seite unterscheiden sich von denen der Weidetiere auf der anderen Seite teilweise erheblich. Die dominierende FA in den Plasma-TG der Weidetiere ist die Palmitinsäure (39.0 %). Weiterhin enthält diese Plasma-Fraktion 13.9 % Ölsäure, knapp 9 % Stearinsäure und in Anteilen von 4.2 bis 9.0 % Myristin-, Palmitolein-, Stearin- und Linolsäure. Das Plasma-TG-Fettsäuremuster der MS-Tiere wird geprägt von Stearinsäure (28.9 bzw. 31.6 %), Ölsäure (20.8 bzw. 23.7 %) und Palmitinsäure (11.8 bis 16.9 %). In variablen Anteilen zwischen 1.7 und 4.4 % sind außerdem Myristin-, Linol-, Arachidon- und Docosahexaensäure vertreten. Signifikant ($p < 0.05$) unterscheiden sich die MUFA-Anteile der Weidetiere (20.8 %) von denen der MS K - (28.6 %) bzw. MS T-Tiere (27.0 %). Tendenziell kann wie bei den Plasma-CE bei den Weidetieren sowohl ein erhöhter Anteil SFA als auch ein verringerter Anteil PUFA festgestellt werden. Dieser Umstand wird bei Betrachtung der Medianwerte umso deutlicher. Die Mediane betragen für die SFA 54.5 % (MS K), 57.2 % (MS T) bzw. 69.1 % (Weide), wobei die Medianwerte für die PUFA am geringsten bei den Weidetieren (10.2 %) im Vergleich zu den MS-Tieren sind (MS K: 17.5 %, MS T: 14.4 %). Es ist auffallend, dass die Plasma-TG bei den Weidetieren im Vergleich zu Fraktionen anderer Gewebe aber auch im Vergleich zu den MS-Tieren kaum n-3-PUFA enthalten, wobei der Unterschied im letzten Fall zu den MS T-Tieren signifikant ($p < 0.05$) bzw. zu den MS K-Tieren hoch signifikant ($p < 0.01$) ist. α-Linolensäure, die im Normallfall mengenmäßig dominiert, ist zu weniger als 0.3 % enthalten (Einzelwerte siehe Tab. A- 26).

Plasma-Fraktion der PL

Die PL des Plasmas bestehen zu 47.0 bis 49.1 % aus SFA, so dass über 50 % MUFA und PUFA enthalten sind. Der MUFA-Anteil an den FA der Plasma-PL beträgt zwischen 16.9 und 18.5 %. Somit verbleiben für die PUFA 32.9 bis 36.1 %. Anteilig sind die Stearin-, Linol-, Öl-, Palmitin-, Arachidon und Eicosatriensäure am meisten enthalten (siehe Abbildung 24). Interessant erscheinen die im Vergleich zu den MS-Tieren sich gegenläufig verhaltenden n-3- und n-6-PUFA. Diese Entwicklung führt dazu, dass die gesamten PUFA sich zwischen den Fütterungsgruppen nicht unterscheiden. Die PL der Weidetiere bestehen zu 8.1 % aus n-3-PUFA und sind sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) im Vergleich zu denen der MS K-Tiere (2.8 %) bzw. signifikant ($p < 0.05$) im Vergleich zu den MS T-Tieren (4.1 %) erhöht.

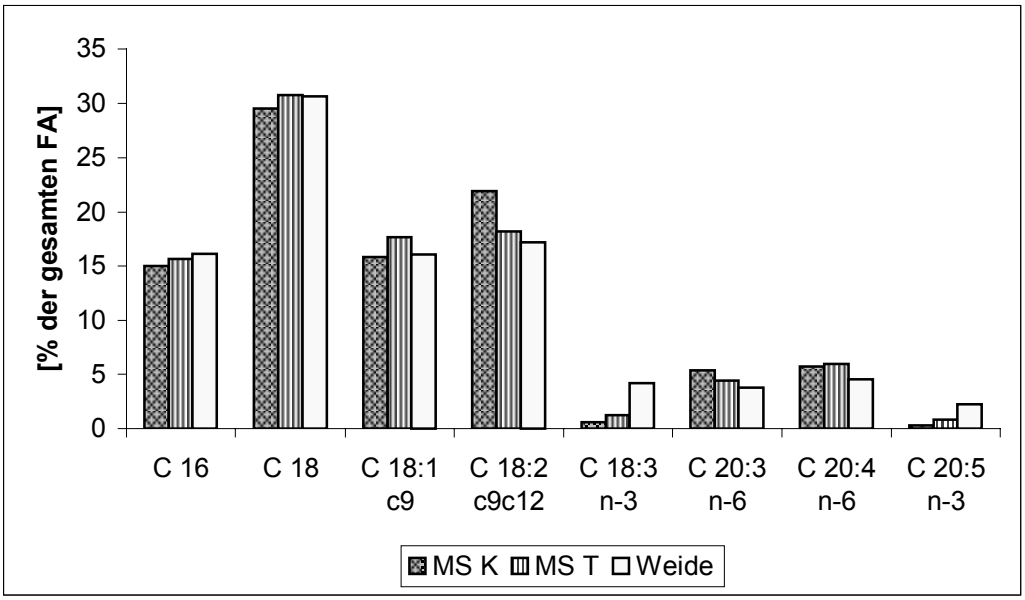


Abbildung 24: Mittelwerte der Anteile ausgewählter FA von Plasma-PL (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

Als Ursache lassen sich analoge Tendenzen bei der α-Linolen- und Eicosapentaensäure ausmachen, bei denen der jeweilige relative Gehalt in den Weidetieren mindestens signifikant im Vergleich zu den MS-Tieren erhöht ist. Wie bereits angedeutet verhalten sich die n-6-PUFA entgegengesetzt. Bedingt durch relativ geringere Gehalte an Linol- und Arachidonsäure enthalten die Weidetiere in Summe weniger n-6-PUFA als die MS-Tiere. Diese Tatsache wird insbesondere bei Betrachtung der Medianwerte (MS K: 33.7 %, MS T: 32.2 %, Weide: 26.1 %) deutlich. Im Vergleich der MS K- und MS T-Tiere zeichnet sich ein tendenziell erhöhter Anteil an n-3-PUFA bei den Tieren ab, die über das Futter eine α-Tocopherol-Zulage erhielten (Einzelwerte siehe Tab. A- 27).

Nierenfett GF

Das Nierenfett zeichnet sich durch seinen geringen Anteil an PUFA aus, der zwischen 1.6 und 2.2 % liegt. Die SFA betragen 59.6 bis 67.0 %, wobei der SFA-Anteil im Nierenfett der Weidetiere (67.0 %) erhöht erscheint. Im Vergleich zu den MS K-Tieren (59.6 %) ist der Unterschied hoch signifikant ($p < 0.01$). Mit 30.8 % liegen die MUFA bei den Weidtieren im Vergleich zu den MS-Tieren (36.1 bzw. 38.8 %) deutlich niedriger. Die Differenz zwischen den Weidetieren und den Tieren der Fütterungsgruppe MS K ist bei den MUFA-Gehalten ebenfalls hoch signifikant ($p < 0.01$). Die beschriebenen Unterschiede bei den SFA und MUFA werden von gleichen Tendenzen bei der Stearinsäure und der Ölsäure verursacht. Hier fällt auf, dass bei den MS-Tieren die Ölsäure vor der Stearin- und Plamitinsäure die am häufigsten vorkommende FA darstellt, während bei den Weidetieren die Rangfolge Stearinsäure > Ölsäure > Palmitinsäure besteht. Tendenziell weist das Nierenfett der Weidetiere einen höheren Anteil an PUFA auf. Dieser ist bedingt durch einen sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) höheren Gehalt an α-Linolensäure (0.9 %) im Vergleich zu den MS-Tieren (0.2 %) (siehe Abbildung 25) (Einzelwerte siehe Tab. A- 28).

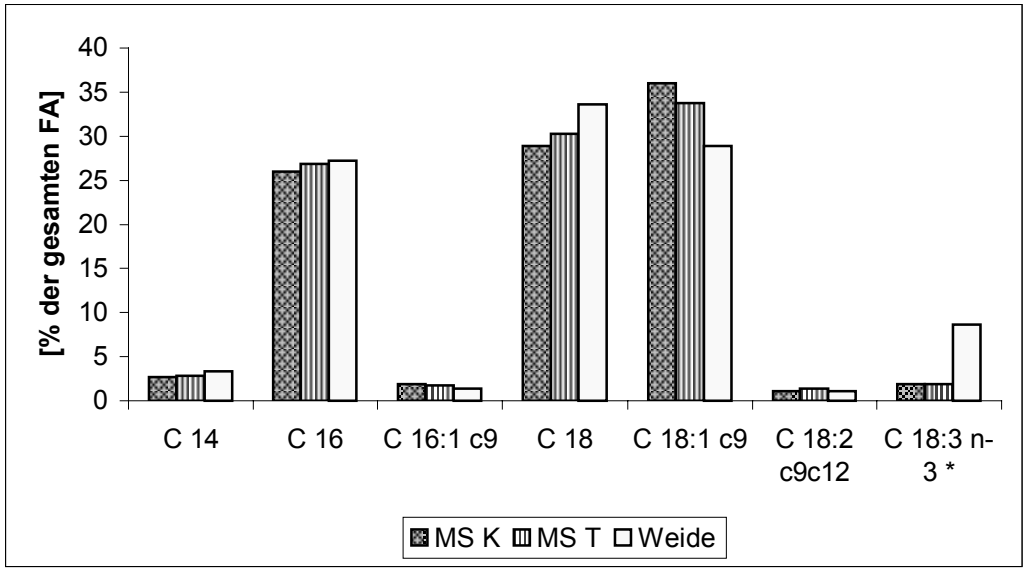


Abbildung 25: Mittelwerte der Anteile ausgewählter FA vom Nierenfett; α-Linolensäure multipliziert mit Faktor 10 (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

6.2.3 antioxidative Kapazität

Unabhängig von der Art der Fütterung besitzen die MLD-Proben der Färsen TEAC-Werte von 0.3 mg/g (siehe Abbildung 26). Weder bei den Muskelproben noch in den Plasmaproben (1.9 bis 2.0 mmol/l) sind statistisch signifikante Unterschiede in Abhängigkeit der Rauhfutterart und/oder des Futtersupplementes zu erkennen (Einzelwerte siehe Tab. A- 29).

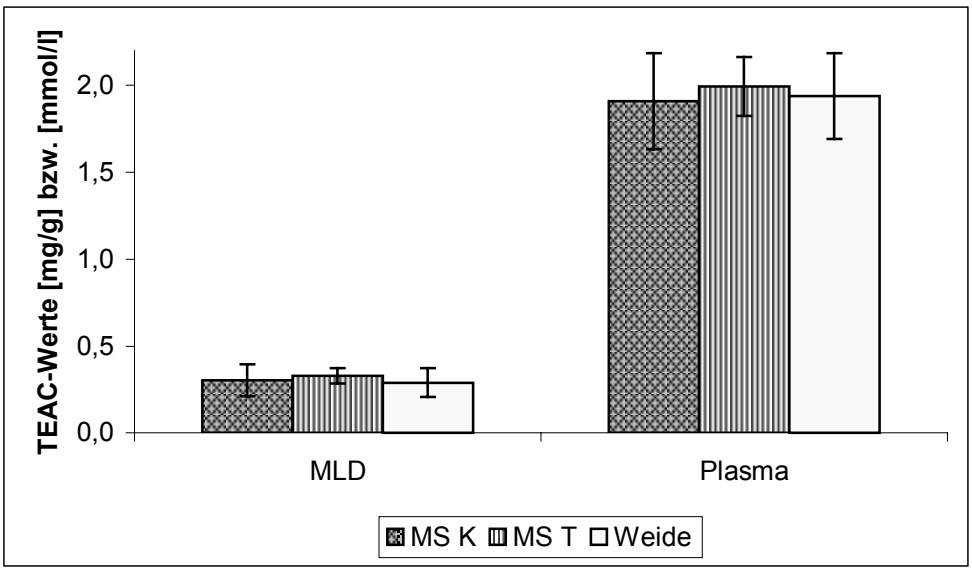


Abbildung 26: Mittelwerte und Standardabweichungen der TEAC-Werte von MLD und Plasma (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 9 - 12)

6.2.4 MDA-Gehalte

Im Muskelgewebe der MS K-Tiere wurden durchschnittlich 0.3 µg/g MDA bestimmt. Signifikant niedriger ($p < 0.05$) sind vergleichsweise die Konzentration an MDA im MLD der Weide- und der MS T-Tiere (0.2 µg/g). Die MDA-Gehalte des Plasmas schwanken zwischen 1.3 und 2.0 µmol/l.

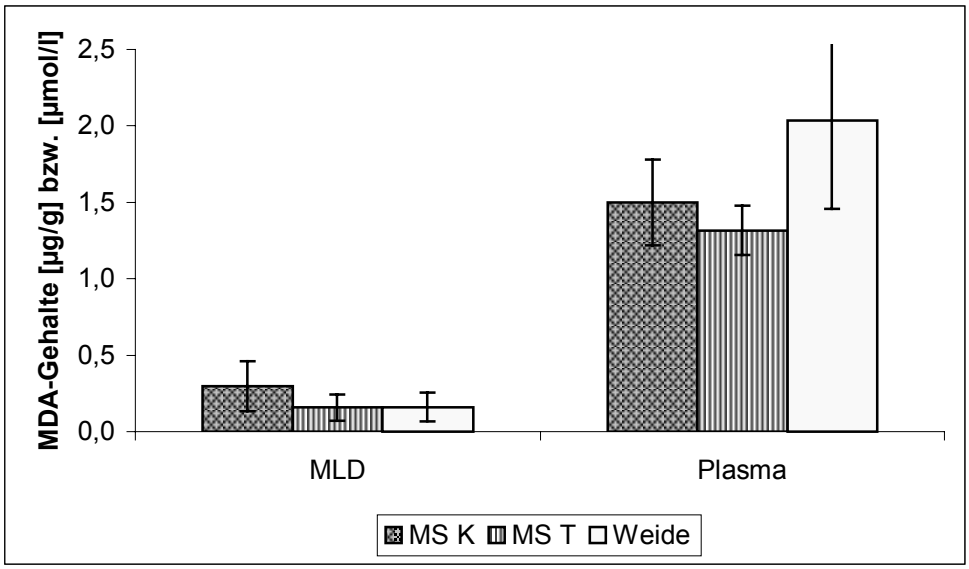


Abbildung 27: Mittelwerte und Standardabweichungen der MDA-Gehalte von MLD und Plasma (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 9 - 12)

Auffallend hoch ist hier der Gehalt an MDA im Plasma der Weidetiere, der sich signifikant ($p < 0.05$) von dem der MS K-Tiere und hoch signifikant ($p < 0.01$) von dem der MS T-Tiere unterscheidet (siehe Abbildung 27) (Einzelwerte siehe Tab. A- 30).

6.3 Fütterungsversuch II (Jungbullen)

Im Rahmen eines weiteren Fütterungsversuches mit insgesamt 72 Jungbullen der Rasse „Deutsches Fleckvieh“ wurde neben dem Einfluss einer Ergänzung des Futters α-Tocopherols auch der Einfluss einer Futtersupplementierung mit β-Carotin und L-Ascorbinsäure untersucht. Außerdem wurden verschiedene Rauhfutterarten (GS, MS) verfüttert. Die Jungbullen wurden zufällig in Gruppen von jeweils neun Tieren eingeteilt. Die Hälfte der Tiere (vier Fütterungsgruppen) erhielt über einen Zeitraum von 150 Tagen (Juni 1998 bis Oktober 1998) zur Kraftfuttermischung (2.3 kg/Tag) MS ad libitum, während die anderen vier Fütterungsgruppen täglich 3.2 kg Kraftfutter und GS ad libitum erhielten. Dem Futter wurden Supplemente zugesetzt, die aus täglichen Zulagen von 1000 mg α-Tocopherylacetat (Rovimix E-50 Adsorbat, F. Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz), 700 mg β-Carotin (Lucarotin 10%, BASF, Ludwigshafen) bzw. 15 g L-Ascorbinsäure (Lutavit C Aquastab, BASF, Ludwigshafen) bestanden. Die Anreicherung des Futters mit diesen Antioxidantien erfolgte sowohl bei den MS- als auch bei den GS-Jungbullen (siehe Tabelle 6). Details zur Rationsgestaltung und zur Zusammensetzung des Kraftfutters wurden von SCHWARZ et al. (1998) beschrieben.

Die Mast der Tiere erfolgte wie bei dem Fütterungsversuch I auf Gut Hirschau der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan.

Tabelle 6: Einteilung der Fleckvieh-Jungbullen in die Fütterungsgruppen für den Fütterungsversuch II

Bezeichnung der Mastgruppe	***Maissilage-Kontrolle (MS K)***	***Maissilage-α-Tocopherol (MS T)***	***Maissilage-β-Carotin (MS C)***	***Maissilage-L-Ascorbinsäure (MS Asc.)***
Rauhfutter [1]	Maissilage	Maissilage	Maissilage	Maissilage
Kraftfutter [2]	2.3 kg	2.3 kg	2.3 kg	2.3 kg
Art der Zulage	-	*all-rac*-α-Tocopherylacetat	β-Carotin	L-Ascorbinsäure
Menge der Zulage [2]	-	1000 mg	700 mg	15 g
Anzahl der Tiere (n)	9	9	9	9
Bezeichnung der Mastgruppe	***Grassilage-Kontrolle (GS K)***	***Grassilage-α-Tocopherol (GS T)***	***Grassilage-β-Carotin (GS C)***	***Grassilage-L-Ascorbinsäure (GS Asc.)***
Rauhfutter [1]	Grassilage	Grassilage	Grassilage	Grassilage
Kraftfutter [2]	3.2 kg	3.2 kg	3.2 kg	3.2 kg
Art der Zulage	-	*all-rac*-α-Tocopherylacetat	β-Carotin	L-Ascorbinsäure
Menge der Zulage [2]	-	1000 mg	700 mg	15 g
Anzahl der Tiere (n)	9	9	9	9

[1] ad libitum [2] pro Tier und Tag

Das Lebendgewicht der Jungbullen vor der Schlachtung betrug 486 bis 699 kg (Mittelwert: 596 kg).

Die im Folgenden beschriebenen Ergebnisse wurden entsprechend den in Kapitel 6.1 aufgeführten Bedingungen bestimmt.

6.4 Ergebnisse

Hinsichtlich der Fleischfarbe (a*-Wert, Rot-Ton) erweisen sich die MLD-Proben der GS-Tiere geringfügig stabiler als die MS-Tiere. Bei Fütterung von MS deutet sich nach Supplementierung der Futterrationen mit den Antioxidantien α-Tocopherol, β-Carotin und L-Ascorbinsäure ein leicht positiver Effekt auf die Fleischfarbe an, der bei GS-Fütterung noch am ehesten nach Zulage von α-Tocopherylacetat erkennbar ist (SCHWARZ, 2000; SCHWARZ et al., 2001).

6.4.1 Gehalte an Antioxidantien und Retinol

α-Tocopherol

Einen sehr deutlichen Einfluss der Rauhfuttergrundlage kann man in allen untersuchten Geweben und im Plasma der Jungbullen erkennen (siehe Abbildung 28). Bei den GS-Jungbullen betragen die α-Tocopherol-Konzentrationen im Nierenfett 0.3 mg/kg, im Muskelgewebe 1.0 bis 1.3 mg/kg, im Lebergewebe 2.9 bis 4.8 mg/kg und im Plasma 0.6 bis 1.9 mg/l. Die entsprechenden Gehalte in den Fütterungsgruppen MS K, MS C und MS Asc. liegen bei 0.2 mg/kg (Nierenfett), 0.2 bis 0.3 mg/kg (MLD), 0.5 bis 0.6 mg/kg (Leber) bzw. 0.5 bis 0.6 mg/l (Blutplasma).

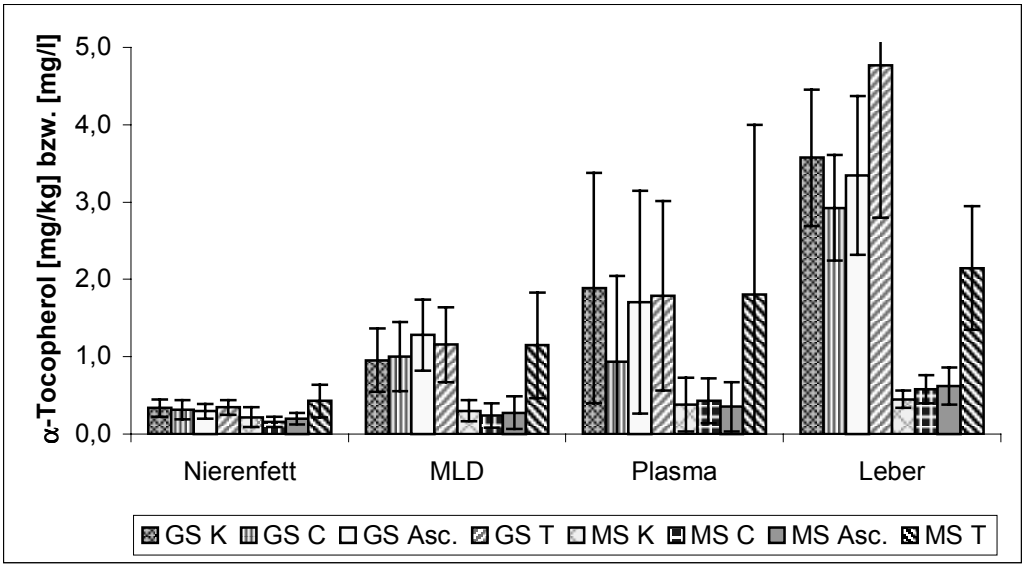


Abbildung 28: Mittelwerte und Standardabweichungen der α-Tocopherol-Konzentrationen in verschiedenen Geweben und im Plasma der Jungbullen (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 9)

Signifikant unterschiedlich ($p < 0.05$) im Vergleich zu den MS T-Jungbullen sind die Gehalte an α-Tocopherol im Plasma (1.8 mg/l) und beim Nierenfett (0.4 mg/kg) im

Vergleich der MS-T- zu den MS K-Tieren. Die Unterschied des α-Tocopherol-Gehaltes im MLD der MS T-Jungbullen (1.2 mg/kg) gegenüber den übrigen MS-Tieren ist hoch signifikant ($p < 0.01$), im Falle der Leber (2.2 mg/kg) sehr hoch signifikant ($p < 0.001$). Deutlich weniger auffällig sind die Unterschiede bei den GS-Jungbullen. Lediglich die Konzentrationen des α-Tocopherols im Plasma und Lebergewebe der Jungbullen, die mit α-Tocopherol angereichertes Futter erhielten, erscheint signifikant ($p < 0.05$) erhöht gegenüber den Konzentrationen bei den GS C-Tieren. Im Vergleich der jeweiligen Fütterungsgruppen untereinander (GS K/MS K, GS C/MS C, GS Asc./MS Asc. bzw. GS T/MS T) sind die Konzentrationen bei den GS-Jungbullen außer im Nierenfett der Kontroll-Gruppe, im Muskelgewebe und im Plasma der GS T-Tiere sowie im Plasma der GS C-Jungbullen signifikant ($p < 0.05$) höher. Die Konzentrationen an α-Tocopherol unterscheiden sich im Nierenfett im Vergleich zwischen MS C und GS C sowie im Lebergewebe zwischen MS T und GS T sogar hoch signifikant ($p < 0.01$) (Einzelwerte siehe Tab. A- 31).

β-Carotin

Die Konzentrationen an β-Carotin betragen im Nierenfett und im MLD unabhängig von der Basis des Rauhfutters und einer Futtersupplementierung weniger als 0.2 mg/kg. Ein deutlich höherer Gehalt an β-Carotin kann im Nierenfett der MS C-Tiere (0.3 mg/kg) nachgewiesen werden, der sich sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) von der β-Carotin-Konzentration im Nierenfett der MS K-, MS Asc.- und MS T-Tiere unterscheidet. Bei den GS-Jungbullen können außerdem weder im Plasma (2.0 bis 2.6 mg/l) noch im Lebergewebe (4.9 bis 6.4 mg/kg) signifikante Unterschiede zwischen den drei Fütterungsgruppen, die supplementiertes Futter erhielten, und der Kontroll-Gruppe festgestellt werden.

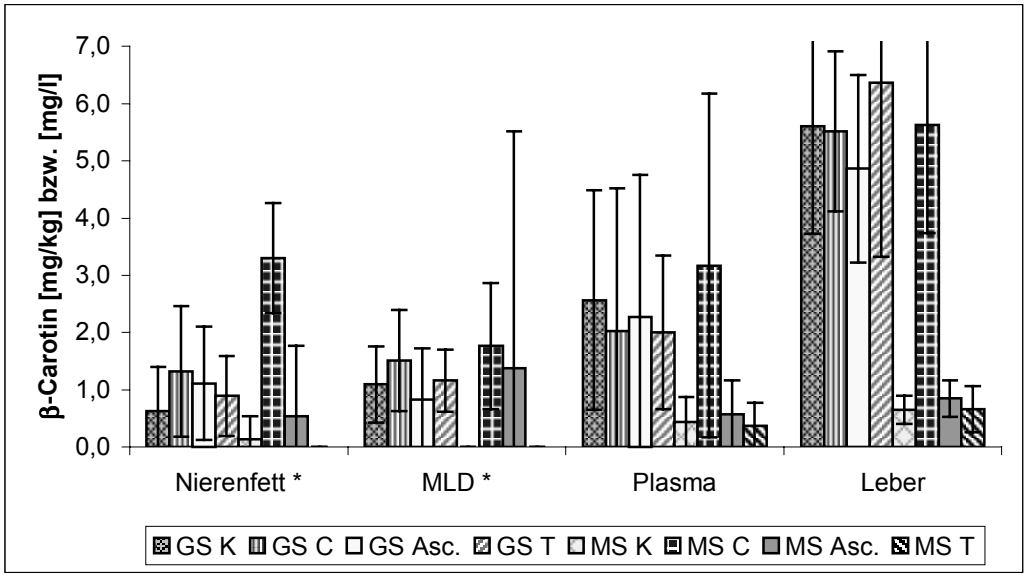


Abbildung 29: Mittelwerte und Standardabweichungen der β-Carotin-Konzentrationen in verschiedenen Geweben und im Plasma der Jungbullen; Nierenfett und MLD multipliziert mit Faktor 10 (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 9)

Auffallend sind die enormen Schwankungen der Einzelwerte, die sich in den großen Standardabweichungen widerspiegeln (siehe Abbildung 29). Die MS-Jungbullen weisen außer bei den MS C-Tieren im Plasma und in der Leber deutlich geringere Gehalte an β-Carotin auf (0.4 bis 0.6 mg/l bzw. 0.7 bis 0.9 mg/kg). Während die Konzentrationen an β-Carotin im Plasma und in der Leber der MS C-Tiere von denen der GS-Jungbullen (GS C) nicht signifikant unterscheidbar sind, zeigen sich innerhalb des Plasmas zwischen den Fütterungsgruppen MS K und GS K sowie MS T und GS T hoch signifikante Unterschiede ($p < 0.01$). Zwischen den Gehalten an β-Carotin in der Leber der MS K/GS K, MS Asc./GS Asc. bzw. MS T/ GS T sind die Unterschiede sehr hoch signifikant ($p < 0.001$). Ebenfalls sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) differieren die Konzentrationen an β-Carotin im Lebergewebe der Fütterungsgruppen MS K, MS Asc. und MS T zu denen der Fütterungsgruppe MS C, während im Plasma diese Unterschiede nur hoch signifikant ($p < 0.01$) sind. Im Muskelgewebe der MS K- und MS T-Tiere liegen die Gehalte an β-Carotin unterhalb der Bestimmungsgrenze. Bei den MS Asc.-Jungbullen fällt die sehr große Standardabweichung des Gehaltes an β-Carotin im MLD auf. Während der Mittelwert (0.1 mg/kg) sich nicht signifikant von der β-Carotin-Konzentration des MLD der MS C-Tiere (0.2 mg/kg) unterscheidet, sind die Medianwerte bei den MS Asc.-Tieren kleiner als die Bestimmungsgrenze bzw. bei den MS C-Jungbullen 0.2 mg/kg. Weitere Unterschiede ergeben sich beim Vergleich der Gehalte an β-Carotin im Nierenfett zwischen den Fütterungsgruppen GS C und MS C (sehr hoch signifikant; $p < 0.001$) bzw. GS T und MS T (hoch signifikant; $p < 0.01$). Dagegen sind die Unterschiede in den Konzentrationen an β-Carotin im MLD zwischen GS K und MS K bzw. GS T und MS T sogar sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) (Einzelwerte siehe Tab. A- 32).

Retinol

Die Retinol-Gehalte im Plasma der Jungbullen schwanken zwischen 0.73 und 0.84 mg/l. Zwischen den Fütterungsgruppen, die jeweils Futter mit gleichen Supplementen erhielten, sind keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellbar. Lediglich innerhalb der auf Grundlage der MS gemästeten Tiere ist bei den mit MS C-Jungbullen eine im Vergleich zu den anderen Tieren (MS K, MS Asc. und MS T) hoch signifikant ($p < 0.01$) höhere Retinol-Konzentration messbar (Einzelwerte siehe Tab. A- 33).

6.4.2 Fettsäurespektren

Wie bei den Fettsäurespektren der unterschiedlichen Färsen-Gewebe bzw. des -Plasmas sind bei den Jungbullen nur vereinzelt Unterschiede innerhalb der Fütterungsgruppen, die auf gleichem Rauhfutter basieren (MS bzw. GS), zu erkennen. Neben dem Vergleich der jeweils vier Fütterungsgruppen erfolgt ein Vergleich zwischen den Tieren, die jeweils mit dem Futter das gleiche Supplement erhielten, so dass jeweils stets nur ein Parameter verändert wird. Ein Vergleich aller acht Fütterungsgruppen untereinander führt nicht zu sinnvollen Aussagen.

MLD-Fraktion der CE+TG

Die Muskel-Neutrallipide der Jungbullen setzen sich aus 47.2 bis 50.6 % SFA, 45.6 bis 49.0 % MUFA und 2.7 bis 4.0 % PUFA zusammen. Mengenmäßig stehen die Öl-, Palmitin-, Stearin-, Palmitolein-, Myristin- und Linolsäure im Vordergrund (siehe Abbildung 30).

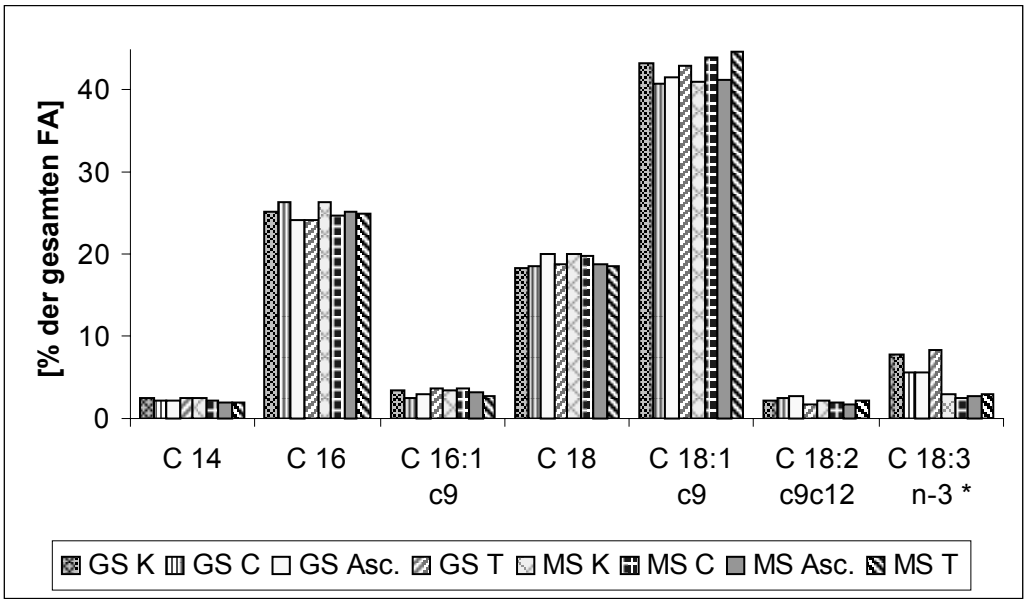


Abbildung 30: Mittelwerte der Anteile ausgewählter FA der MLD-CE+TG; α-Linolensäure multipliziert mit Faktor 10 (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 4)

Durchschnittlich sind die Gehalte an α-Linolensäure bei den GS-Tieren größer als bei den MS-Tieren, jedoch ist der Unterschied beim direkten Vergleich nicht immer signifikant. Bedingt durch die höheren Gehalte an α-Linolensäure ist der Anteil der PUFA in den GS-Tieren ebenfalls tendenziell erhöht (Einzelwerte siehe Tab. A- 34).

MLD-Fraktion der PL

Besonders reich an PUFA sind die PL des Muskels (33.0 bis 43.1 %). Zu diesen Gehalten tragen die Linolsäure mit 22.3 bis 26.3 %, die Arachidonsäure mit 5.1 bis 8.9 %, die α-Linolensäure mit 0.5 bis 4.1 % sowie die Eicosatrien-, Eicosapentaen-, Docosapentaen- und die Docosahexaensäure bei. Zwischen den MS- und den GS-Tieren fallen Unterschiede bei den PUFA und insbesondere bei den n-3-PUFA auf, die im letztgenannten Fall zwischen den Tieren (mit L-Ascorbinsäure angereichertem Futter gemästet) signifikant ($p < 0.05$), zwischen den Kontrollgruppen hoch signifikant ($p < 0.01$) und zwischen den Tieren, die mit dem Futter zusätzlich β-Carotin und α-Tocopherol erhielten, sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) sind. Die Anteile an α-Linolensäure, Eicosapentaensäure und Docosapentaensäure sind bei den GS-Tieren ebenfalls gegenüber den MS-Tieren erhöht. Parallel dazu enthalten die GS-Tiere tendenziell weniger Linolsäure, wobei der Gehalt an n-6-PUFA durch erhöhte Anteile an Arachidonsäure bei den GS-Tieren ausgeglichen wird (Einzelwerte siehe Tab. A-35).

MLD-Fraktion der PE

Die PE-Fraktion des Muskelgewebes besteht mit Anteilen zwischen 53.8 und 62.0 % überwiegend aus PUFA. 20.9 bis 29.5 % stellen SFA dar, die übrigen 15.1 bis 19.8 % sind MUFA. Anteilig trägt die Linolsäure zwischen 26.5 und 33.5 % zu den gesamten FA bei. Bei den MS-Jungbullen folgt im Mengenanteil die Arachidonsäure mit 17.3 bis 22.7 %, während bei den GS-Jungbullen die Stearinsäure den zweitgrößten Anteil gefolgt von der Arachidonsäure besitzt.

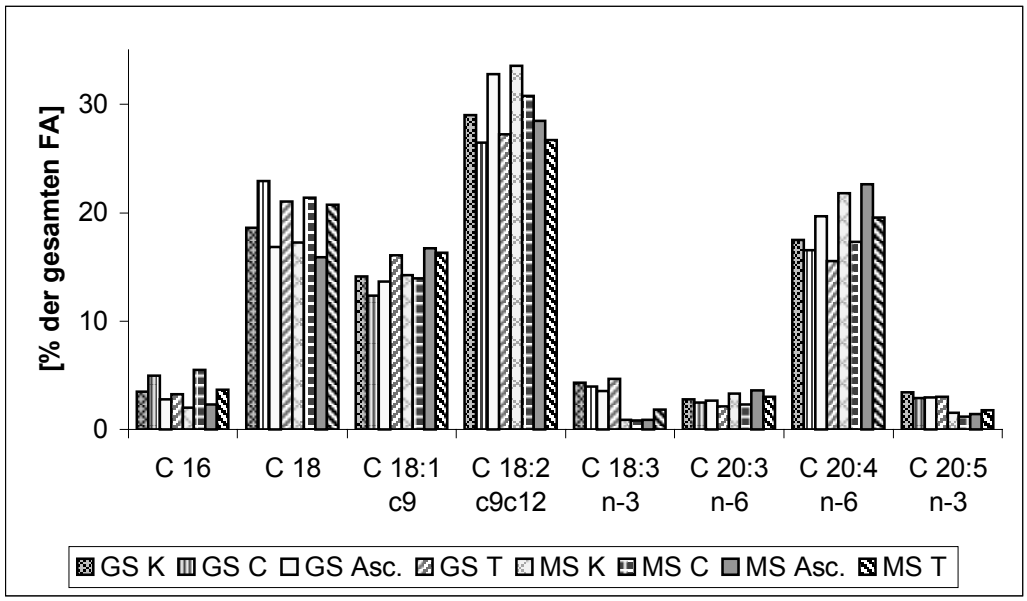


Abbildung 31: Mittelwerte der Anteile ausgewählter FA der MLD-PE; (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 4)

Die Stearinsäure stellt den drittgrößten Anteil bei den MS-Tieren. Der Ölsäureanteil im Fettsäuremuster beträgt zwischen 12.3 und 16.7 %. Die verbleibenden FA besitzen Anteile von weniger als 5 % (siehe Abbildung 31). Die GS-Tiere weisen in gewohnter Weise geringere Anteile an Arachidonsäure, dafür aber höhere Anteile an α-Linolensäure auf. Letztere resultiert in höheren n-3-PUFA-Konzentrationen bei den GS-Jungbullen. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$) (Einzelwerte siehe Tab. A- 36).

MLD-Fraktion der PI+PS

Die Fettsäurezusammensetzung der Mischfraktion aus PI und PS unterscheidet sich sowohl im Spektrum als auch im Grad der Sättigung von der PE-Fraktion des MLD. Mit 51.2 bis 57.8 % SFA und 15.8 bis 19.8 % MUFA verbleiben 24.0 bis 28.1 % für die PUFA. Fast 50 % der FA werden von der Stearinsäure eingenommen. Weiterhin sind in Konzentrationen von 13.5 bis 17.3 % Ölsäure und in Gehalten zwischen 8.4 und 12.9 % Arachidon- und Linolsäure enthalten. Auffallende Unterschiede sind im Vergleich der MS- und GS-Tiere nur bei den PUFA erkennbar. Während sich die relativen Gehalte der PUFA nicht unterscheiden, treten leicht erhöhte Anteile an n-3-PUFA bei den GS-Tieren auf. Betrachtet man einzelne FA, so fällt einzig der hoch signifikante Unterschied ($p < 0.01$) zwischen den Gehalten an α-Linolensäure in den

MS- und GS-Tieren auf (MS: 0.4 bis 0.7 %; GS: 1.1 bis 1.4 %). Die relativen CLA-Gehalte der MS-Jungbullen erscheinen im Vergleich zu denen der GS-Tiere erhöht, wobei der Unterschied nicht signifikant ist (Einzelwerte siehe Tab. A- 37).

MLD-Fraktion der PC

Die PC-Fraktion des Muskels zeichnet sich durch einen sehr hohen Anteil MUFA und PUFA aus (siehe Abbildung 32).

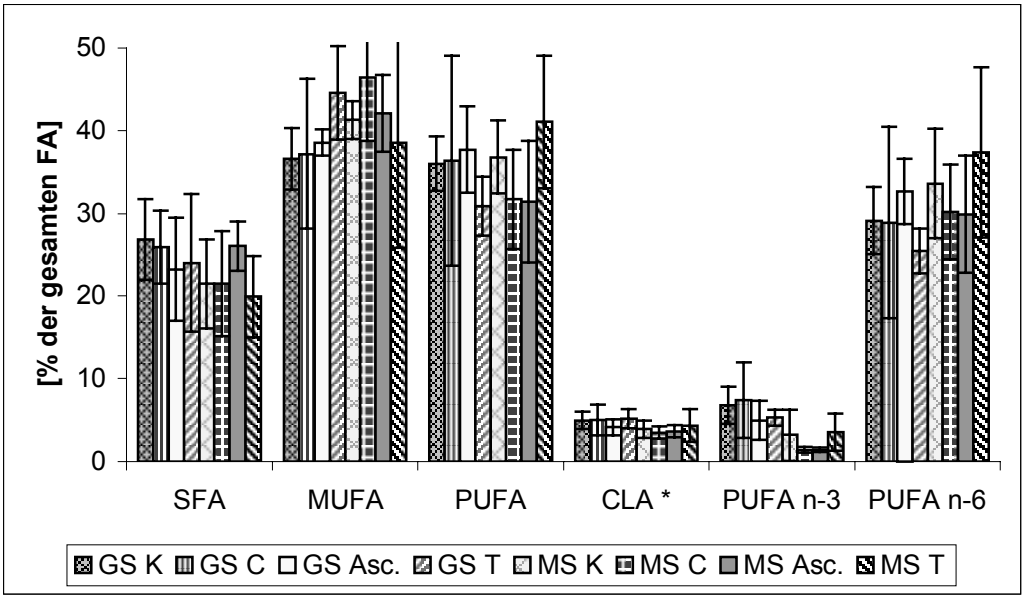


Abbildung 32: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäureklassen der MLD-PC; CLA multipliziert mit Faktor 10 (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 4)

Die MUFA (zum größten Teil Öl- und Palmitoleinsäure) tragen mit 36.6 bis 46.4 % zu den gesamten FA bei. Der Anteil der PUFA (hauptsächlich Linol-, Arachidon-, α-Linolen- und Eicosahexaensäure) beträgt zwischen 31.5 und 41.1 %, der der SFA (im Wesentlichen Palmitin- und Stearinsäure) 19.9 bis 26.9 %. Die mindestens signifikant ($p \leq 0.05$) höheren Anteile an α-Linolen- und Eicosapentaensäure führen insgesamt zu verhältnismäßig größeren Gehalten an n-3-PUFA bei den GS-Tieren, wobei bei den MS-Jungbullen die bekannten höheren Anteile an Arachidonsäure festgestellt werden konnten. Die relativen CLA-Anteile an den FA sind mit maximal 0.5 % im Vergleich zu anderen Fettfraktionen als niedrig einzustufen (Einzelwerte siehe Tab. A- 38).

Leber-Fraktion der CE

Über die Hälfte der FA der Leber-CE machen Stearin- und Palmitinsäure aus, wobei die Stearinsäure mengenmäßig mit relativen Anteilen zwischen 27.4 und 33.3 % überwiegt. Insgesamt betragen die SFA 54.5 bis 63.3 %. Der MUFA-Anteil von 20.1 bis 25.7 % wird hauptsächlich von der Ölsäure geprägt. Linolsäure (7.6 bis 14.3 %), Arachidonsäure (1.7 bis 3.9 %), α-Linolensäure (0.9 bis 4.0 %) und Eicosatriensäure (0.9 bis 2.3 %) führen zu PUFA-Gehalten von 15.1 bis 22.0 %. Aufgrund der enormen Schwankungsbreite der Einzelwerte verbunden mit dem relativ kleinen

Stichprobenumfang (n = 4) lassen sich kaum statistisch signifikante Unterschiede erkennen. Tendenziell enthalten die GS-Jungbullen weniger PUFA als die MS-Tiere, wobei wieder einerseits der n-3-PUFA-Anteil bei den GS-Tieren größer und andererseits der n-6-PUFA-Anteil kleiner wird. Bei manchen Fütterungsgruppen sind die Unterschiede im n-3-PUFA-Gehalt signifikant ($p < 0.05$) (Vergleich MS T und GS T) oder hoch signifikant ($p < 0.01$) (Vergleich MS Asc. und GS Asc.). Als Ursachen für die Unterschiede bei den n-3- bzw. n-6-PUFA sind die bereits mehrfach beschriebenen höheren Konzentrationen an α-Linolensäure in den GS-Jungbullen bzw. die höheren Konzentrationen an Eicosatrien- und Arachidonsäure bei den MS-Tieren zu benennen (Einzelwerte siehe Tab. A- 39).

Leber-Fraktion der TG

Die TG-Fraktion der Leber besteht zu 47.0 bis 53.3 % aus SFA, von denen die Palmitinsäure (24.6 bis 29.2%) zusammen mit der Stearinsäure (13.2 bis 19.4 %) und der Myristinsäure (1.4 bis 2.1 %) dominieren. Die MUFA bestehen überwiegend aus Öl- und Palmitoleinsäure. In Summe steuern sie 27.7 bis 36.2 % zu den gesamten FA bei. Der Anteil an PUFA beträgt 13.0 bis 20.1 %, wobei es sich bei den PUFA größtenteils um Linol-, Arachidon-, Eicosatrien- und α-Linolensäure handelt.
Bei den MS-Jungbullen fällt ein vergleichsweise höherer Anteil an MUFA und ein leicht niedrigerer Anteil an PUFA auf. Diese Veränderungen werden einerseits durch die etwas höheren Gehalte an Ölsäure bei den MS-Tieren andererseits durch niedrigere Konzentrationen an Linol- und α-Linolensäure verursacht. Der Unterschied der α-Linolensäure- und der n-3-PUFA-Gehalte ist zwischen den MS und GS-Jungbullen signifikant ($p < 0.05$), im Fall der L-Ascorbinsäure-Supplementierung des entsprechenden Futters ist die Differenz der α-Linolensäure-Anteile hoch signifikant ($p < 0.01$). Bei den auf Basis von GS gemästeten Jungbullen fällt ein tendenziell erhöhter CLA-Gehalt in dieser Fraktion auf (Einzelwerte siehe Tab. A- 40).

Leber-Fraktion der PL

Die polare Lipidfraktion der Leber (PL) besteht zum großen Teil (mehr als 60 %) aus MUFA und PUFA. Zwischen 33.1 und 40.2 % sind SFA (siehe Abbildung 33). In den Gehalten n-3- und n-6-PUFA unterscheiden sich die GS- von den MS-Tieren. Zusätzlich zu den bereits mehrfach beschriebenen Unterschieden der α-Linolensäure und der Arachidonsäure tritt ein im Vergleich zu den jeweiligen Fütterungsgruppen der MS-Jungbullen signifikant höherer Gehalt an Docosapentaensäure in Erscheinung. Schließlich führen die höheren Gehalte an α-Linolen- und Docosapentaensäure zu einem signifikant ($p < 0.05$) höheren (Vergleich MS C und GS C, Vergleich MS T und GS T) bzw. sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) höheren Gehalt an n-3-PUFA im Gewebe der GS-Jungbullen, während dort der relative Anteil an n-6-PUFA aufgrund der geringeren Gehalte an Arachidon- und Linolsäure abnimmt (Einzelwerte siehe Tab. A- 41).

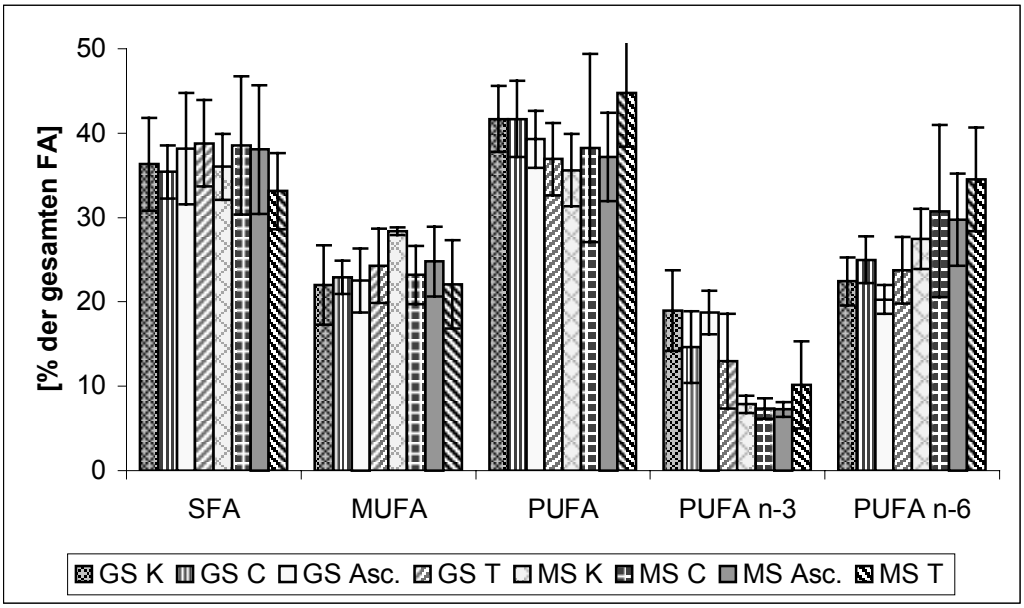


Abbildung 33: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäureklassen der Leber-PL; (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

Leber-Fraktion der PE

Die PE der Leber unterscheiden sich zwischen den beiden Rauhfutter-Gruppen nur geringfügig in den Gehalten an MUFA und PUFA. Die SFA-Anteile liegen zwischen 42.0 und 43.1 %. Bei den MS-Jungbullen schwanken die MUFA-Gehalte zwischen 8.3 und 11.0 % und liegen damit tendenziell etwas unter denen der GS-Tiere (10.8 bis 13.7 %). In umgekehrtem Maße sind die PUFA-Konzentrationen mit 46.3 bis 48.2 % bei den MS-Jungbullen gegenüber denen der GS-Jungbullen (42.8 bis 46.7 %) erhöht. Divergierend verhalten sich auch die n-3- und die n-6-PUFA, deren Verhältnis bei den GS-Tieren zwischen 0.25 und 0.31 liegt, während die MS-Jungbullen ein Verhältnis der n-3- zu den n-6-PUFA von 0.09 bis 0.10 aufweisen. Die Unterschiede in den Gehalten an n-3- bzw. n-6-PUFA sind im Vergleich zwischen den MS- und GS-Jungbullen sehr hoch signifikant ($p < 0.001$). Die gleichen Unterschiede treten bei der α-Linolen-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure (n-3-PUFA) und bei der Linol- und der Arachidonsäure (n-6-PUFA) auf. Der Anteil an n-3-PUFA ist in den GS-Jungbullen stets erhöht, während der Anteil an n-6-PUFA im Verhältnis abnimmt (Einzelwerte siehe Tab. A- 42).

Leber Fraktion der PI+PS

Stearinsäure (47.2 bis 50.2 %) und Palmitinsäure (2.1 bis 2.9 %) ergeben in Summe mit anderen SFA 51.2 bis 53.9 %. Der MUFA-Anteil an den gesamten FA des Spektrums ist mit 8.7 bis 10.2 % sowohl deutlich geringer als der SFA-Anteil als auch geringer als die PUFA-Gehalte (35.7 bis 38.4 %). Statistisch signifikante Unterschiede sind weder bei den SFA noch bei den ungesättigte FA zwischen den GS- und den MS-Jungbullen erkennbar. Dennoch treten auch hier wieder die bereits bekannten Unterschiede im Fettsäurespektrum auf. Die GS-Tiere enthalten sowohl in Summe als auch bei den einzelnen FA sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) mehr

n-3-PUFA (GS: 4.6 bis 5.5 %, MS: 1.4 bis 1.7 %), α-Linolensäure (GS: 1.6 %, MS: 0.4 bis 0.5 %), Eicosapentaensäure (GS: 1.7 bis 2.3 %, MS: 0.3 bis 0.5 %) und Docosahexaensäure (GS: 0.9 bis 1.3 %, MS: 0.6 bis 0.7 %). Die Arachidonsäure, die sowohl bei den GS- als auch bei den MS-Jungbullen die am zweithäufigsten vertretene FA darstellt, ist bei den MS-Tieren (15.0 bis 17.6 %) signifikant ($p < 0.05$) gegenüber den relativen Anteilen dieser FA in den GS-Jungbullen (13.0 bis 15.0 %) erhöht. Gleiches gilt für die beiden weiteren wichtigen n-6-PUFA Linolsäure (MS: 10.7 bis 11.9 %, GS: 9.6 bis 11.0 %) und Eicosatriensäure (MS: 7.1 bis 8.6 %, GS: 5.8 bis 6.9 %). Außerdem erscheinen die relativen CLA-Anteile bei den MS-Jungbullen (nicht signifikant) höher als bei den GS-Tieren (Einzelwerte siehe Tab. A- 43).

Leber-Fraktion der PC

Die PC-Fraktion der Leberproben setzt sich nahezu zur Hälfte (47.1 bis 50.0 %) aus SFA, 15.4 bis 19.5 % MUFA und 30.9 bis 34.8 % PUFA zusammen (siehe Abbildung 34). Außer den tendenziell leicht höheren PUFA- und geringeren MUFA-Gehalten in den Leber-PC der MS-Tiere lassen sich im Vergleich zu den GS-Jungbullen keine Unterschiede feststellen. Wie bei den meisten anderen Fraktionen enthalten die GS-Tiere mindestens signifikant ($p \leq 0.05$) geringere Gehalte an Linol-, Eicosatrien- und Arachidonsäure, dafür aber hoch bis sehr hoch signifikant ($p < 0.01$ bzw. $p < 0.001$) größere Mengen an α-Linolen-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure. Als Konsequenz unterscheiden sich die n-3-PUFA in den GS-Jungbullen mit Gehalten von 8.1 bis 8.5 % sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) von denen der MS-Jungbullen (2.6 bis 3.0 %). Auf einem niedrigeren Signifikanzniveau ($p < 0.01$) liegen die Unterschiede in den n-6-PUFA-Gehalten (GS: 22.5 bis 24.7 %, MS: 28.9 bis 31.9 %). Im Gegensatz zu der zuvor beschriebenen Mischfraktion aus PI und PS sind die CLA-Gehalte der GS-Tiere (1.1 bis 1.2 %) signifikant ($p < 0.05$), bei den GS T-Tieren hoch signifikant ($p < 0.01$) gegenüber den Gehalten in den MS-Jungbullen (0.8 bis 0.9 %) größer (Einzelwerte siehe Tab. A- 44).

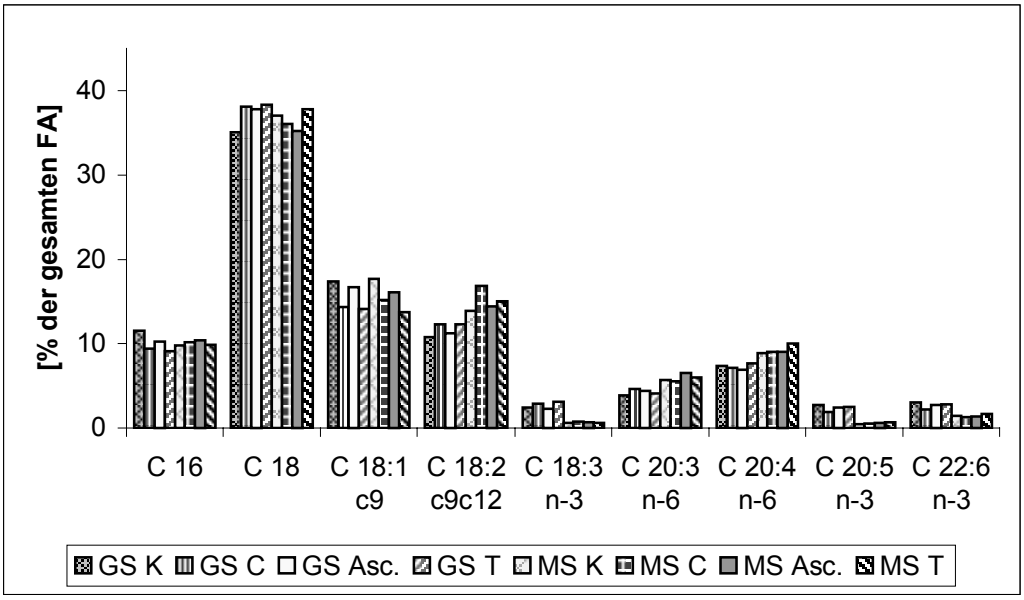


Abbildung 34: Mittelwerte der Anteile ausgewählter FA der Leber-PC; (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 4)

Plasma-Fraktion der CE

Die CE-Fraktion der Plasmalipide lässt kaum Unterschiede zwischen den beiden Rauhfutter-Gruppen erkennen (SFA: 23.9 bis 27.7 %, MUFA: 11.0 bis 15.7 %, PUFA: 57.2 bis 64.6 %) (siehe Abbildung 35). Sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) sind die Unterschiede bei den n-3-PUFA (GS: 18.1 bis 20.7 %, MS: 4.2 bis 5.2 %) und den n-6-PUFA (GS: 39.7 bis 43.6 %, MS: 50.2 bis 55.7 %).

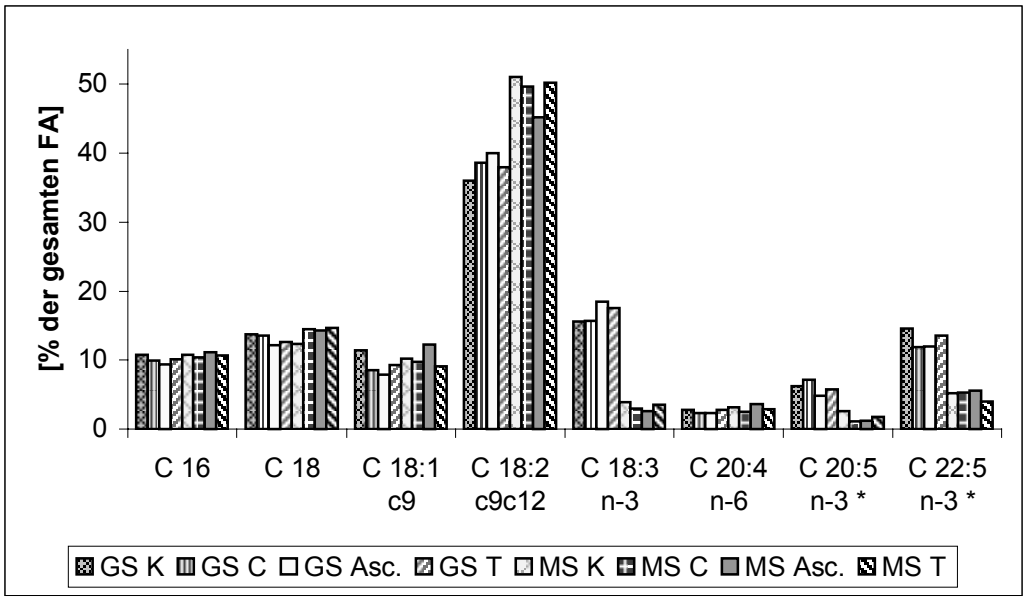


Abbildung 35: Mittelwerte der Anteile ausgewählter FA vom Plasma-CE; Eicosa- und Docosapentaensäure multipliziert mit Faktor 10 (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

Eine Ursache für diese Unterschiede sind die hoch signifikant ($p < 0.01$) verschiedenen Gehalte der Linolsäure, die in den Plasma-CE der GS-Tiere zwischen 36.0 und 40.0 % und in denen der MS-Jungbullen zu 45.2 bis 51.0 % enthalten ist. Auf der anderen Seite sind erneut sehr hoch signifikante ($p < 0.001$) Differenzen zwischen den α-Linolensäure-Gehalten der MS-Tiere (2.6 bis 3.9 %) und der GS-Jungbullen (15.6 bis 18.5 %) feststellbar. Vergleichbare Unterschiede finden sich auch bei anderen n-3- und n-6-PUFA, die stets eine Verringerung der n-6-Gehalte in den GS-Tieren und eine Abnahme der n-3-PUFA-Gehalte in den MS-Jungbullen zur Folge haben (Einzelwerte siehe Tab. A- 45).

Plasma-Fraktion der TG

Die TG-Fraktion besteht zu 33.5 bis 42.4 % aus SFA, 17.9 bis 28.9 % aus MUFA und zu 37.3 bis 43.3 % aus PUFA zusammen. Die weite Streuung der Einzelwerte führt zu hohen Standardabweichungen, die keinerlei statistisch signifikante Unterschiede erkennbar werden lassen. Weder anhand der Mittelwerte noch anhand der Medianwerte lassen sich auffallende Tendenzen ausmachen. Ungewöhnlich erscheint ebenfalls, dass auch bei den n-3- und den n-6-PUFA nicht die üblichen Unterschiede festgestellt werden können (Einzelwerte siehe Tab. A- 46).

Plasma-Fraktion der PL

Mit 42.0 bis 44.3 % nehmen die SFA den größten Anteil der FA innerhalb des Fettsäurespektrums ein. Die verbleibenden FA sind 15.7 bis 22.9 % MUFA und zwischen 34.2 und 41.2 % PUFA (siehe Abbildung 36). Die PUFA sind bei den GS-Tieren im Vergleich zu den MS-Jungbullen signifikant ($p < 0.05$) erhöht. Der MUFA-Anteil ist durch geringere Ölsäure-Konzentrationen bei den GS-Jungbullen ebenfalls signifikant ($p < 0.05$) kleiner.

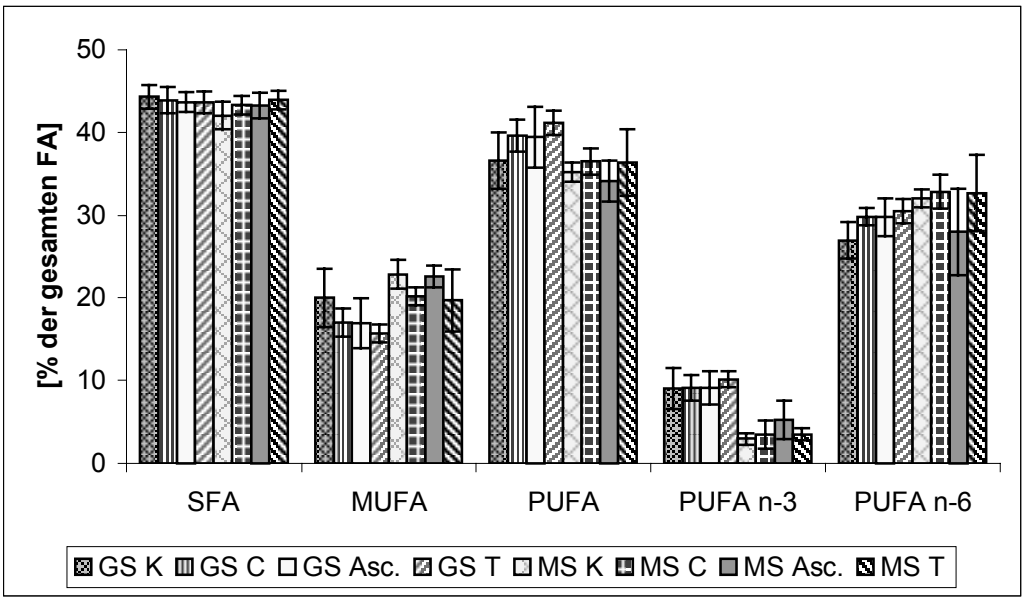


Abbildung 36: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäureklassen der Plasma-PL; (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

Höhere Konzentrationen an α-Linolen-, Eicosapentaen und Docosahexaensäure bei den GS-Jungbullen auf der einen Seite stehen höheren relativen Gehalten an Eicosatrien- und Arachidonsäure in den Plasma-PL der MS-Tiere entgegen. Folglich ist das Verhältnis der n-3-PUFA zu den n-6-PUFA bei den GS-Tieren mit 0.31 bis 0.35 gegenüber dem der MS-Jungbullen mit 0.11 bis 0.12 sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) größer (Einzelwerte siehe Tab. A- 47).

Nierenfett GF

Nierenfett besteht zum größten Teil (63.0 bis 65.9 %) aus SFA. MUFA tragen mit 31.4 bis 34.7 % zum gesamten Fettsäuremuster bei. Der Anteil der PUFA liegt zwischen 2.1 und 2.8 % (siehe Abbildung 37). Fast 90 % der FA sind Palmitin-, Stearin- und Ölsäure, die etwa in gleichen Anteilen vorliegen. In erwähnenswerten Mengen liegt noch Myristinsäure mit Konzentrationen zwischen 3.0 und 3.5 % vor. Die übrigen FA sind in geringfügigen Mengen enthalten. Im Vergleich zu den MS-Jungbullen weisen die GS-Tiere höhere Gehalte an SFA auf, die sich durch entsprechend größere Konzentrationen an Stearinsäure erklären lassen. Ebenfalls höher sind die PUFA-Gehalte im Nierenfett der GS-Tiere, die von einem sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) erhöhten Gehalt an α-Linolensäure bzw. n-3-PUFA hervorgerufen werden.

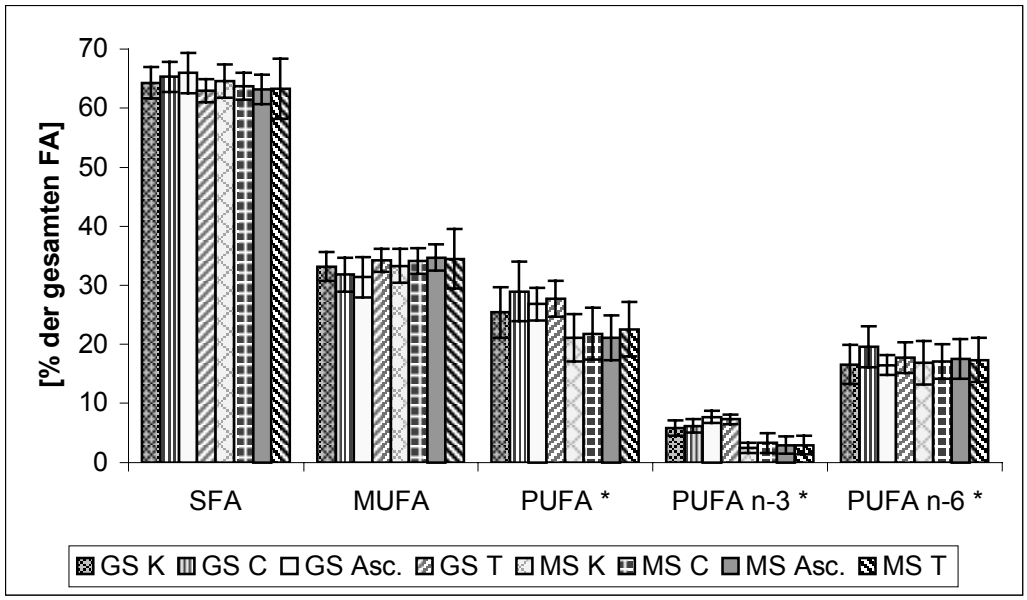


Abbildung 37: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäureklassen von Nierenfett; PUFA, PUFA n-3 und PUFA n-6 multipliziert mit Faktor 10 (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

Im Gegensatz zum PUFA- ist der MUFA-Anteil gegenüber den MS-Tieren aufgrund des signifikant ($p < 0.05$) geringeren Ölsäure-Gehaltes erniedrigt (Einzelwerte siehe Tab. A- 48).

6.4.3 antioxidative Kapazität

Die TEAC-Werte in den Muskelextrakten betragen 0.3 mg/g, während die Werte im Plasma zwischen 1.9 und 2.1 mmol/l schwanken (siehe Abbildung 38). Signifikante Unterschiede sind bei den TEAC-Werten der MLD-Extrakte nicht feststellbar.

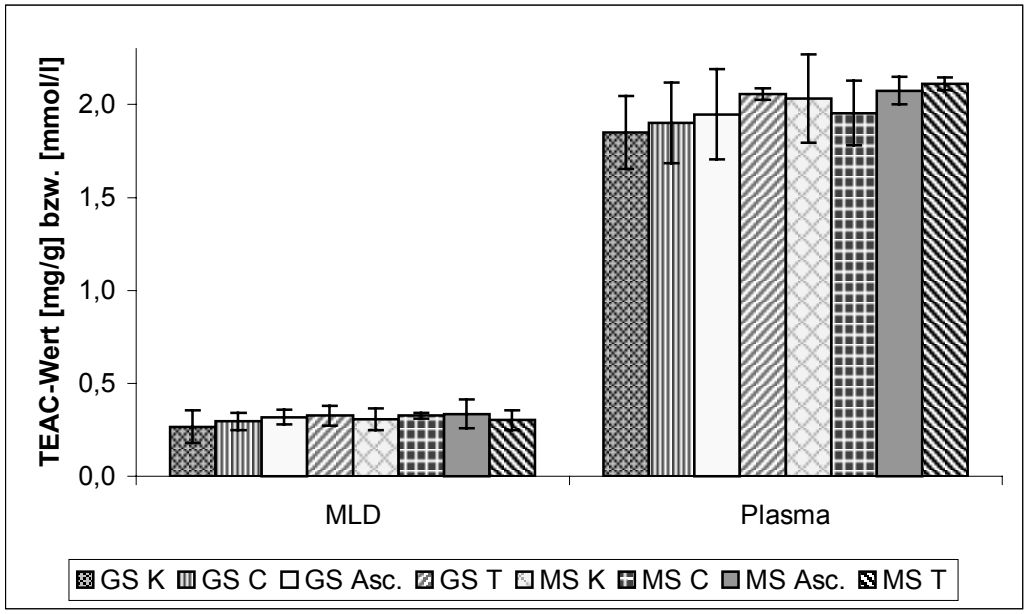


Abbildung 38: Mittelwerte und Standardabweichungen der TEAC-Werte in MLD und Plasma (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

Im Plasma besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den TEAC-Werten der Fütterungsgruppen GS K (1.9 mmol/l) und GS T (2.1 mmol/l) sowie zwischen den Fütterungsgruppen GS T und MS T (2.1 mmol/l). Weitere signifikante Unterschiede in Abhängigkeit von der Art des Rauhfutters oder des Futtersupplementes sind nicht vorhanden (Einzelwerte siehe Tab. A- 49).

6.4.4 MDA-Gehalte

Im MLD beträgt der Gehalt an MDA zwischen 0.2 und 0.3 µg/g. Innerhalb der GS-Tiere können in Abhängigkeit der Futterergänzung mit verschiedenen Antioxidantien keine signifikanten Unterschiede gezeigt werden (siehe Abbildung 39). Bei den MS-Jungbullen fällt bei den MS-T-Tieren (0.2 µg/g) eine niedrigere MDA-Konzentration im Vergleich zu den MS K-, MS C- bzw. MS Asc.-Tieren auf (0.3 µg/g). Der Unterschied zu den MDA-Gehalten bei den MS K-Tieren ist signifikant ($p < 0.05$) bei den MS C-Tieren hoch signifikant ($p < 0.01$). Aufgrund der starken Schwankungen der Einzelwerte im MLD der MS Asc.-Jungbullen kann kein statistisch signifikanter Unterscheid der MDA-Gehalte im Vergleich zu den MS T-Tieren festgestellt werden. Die Konzentration an MDA im MLD der MS C-Tiere (0.3 µg/g) ist im Vergleich zu den GS C-Tieren (0.2 µg/g) signifikant höher.

Die MDA-Gehalte im Plasma der Jungbullen schwanken im Bereich von 1.4 bis 1.9 µmol/l (siehe Abbildung 39). Obgleich zwischen den jeweiligen Supplementierungsgruppen der GS- und MS-Jungbullen in den Gehalten an MDA im Plasma kein signifikanter Unterschied festgestellt werden kann, liegt zwischen den Konzentrationen an MDA bei den MS K- und den MS T-Tieren (1.4 bzw. 1.7 µmol/l) ein signifikanter ($p < 0.05$) Unterschied (Einzelwerte siehe Tab. A- 50).

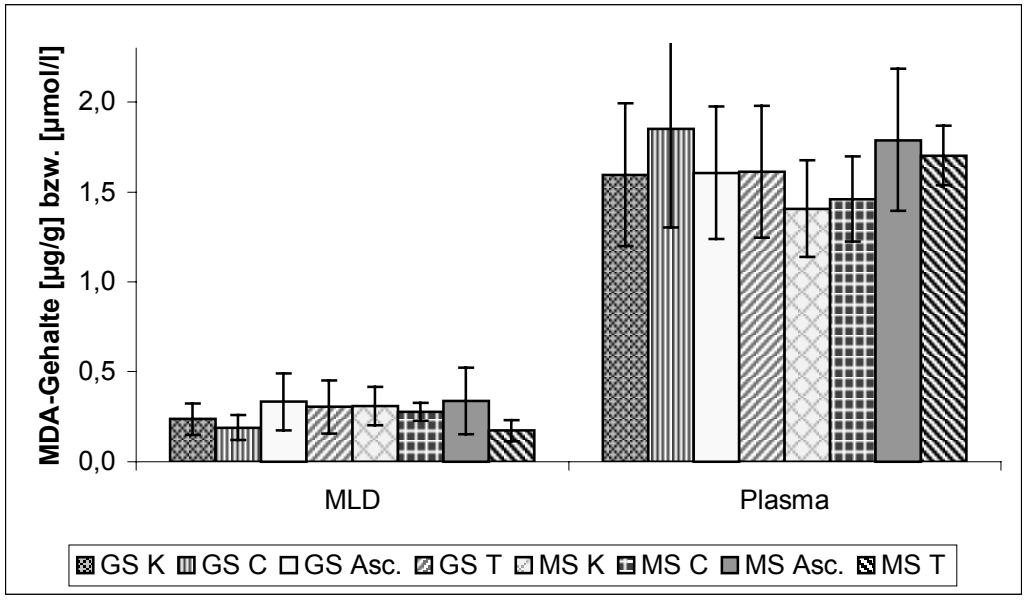


Abbildung 39: Mittelwerte und Standardabweichungen der MDA-Gehalte von MLD und Plasma (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis) (n = 6)

6.5 Diskussion

6.5.1 α-Tocopherol-Gehalte

Es gibt eine Vielzahl veröffentlichter Daten über Tierfütterungsversuche mit Schweinen (MONAHAN et al., 1990, 1992; BUCKLEY et al., 1995; MORRISSEY et al., 1996; WEN et al., 1997; JENSEN et al., 1997, 1998; BERK et al., 1998; HOVING-BOLINK et al., 1998), Ratten (LEE und CSALLANY, 1987; MELIN et al., 1992), Geflügel (MARUSICH et al., 1975; LAURIDSEN et al., 1997; SHELDON et al., 1997; HIGGINS et al., 1998) sowie Rindern (ARNOLD et al., 1993a, 1993b; FLACHOWSKY et al., 1994; SCHAEFER et al., 1995; LIU et al., 1995, 1996a und 1996b; CHAN et al., 1996; MITSUMOTO et al., 1993; MCDOWELL et al., 1996; SANDERS et al., 1997; AUGUSTINI et al., 1998; FAUSTMAN et al., 1998) und anderen Wiederkäuern (GUIDERA et al., 1997), die eine Futtersupplementierung mit Vitamin E betrachten. Die Studien unterscheiden sich in ihren Fütterungsstrategien. Entscheidend ist neben der absoluten Menge supplementierten α-Tocopherols vor allem die Länge der Fütterungsperiode. Beide Parameter schwanken in den verschiedenen Studien in einem weiten Bereich, so dass ein Vergleich mit den eigenen Untersuchungen erschwert ist. Viele Ergebnisse beruhen außerdem auf Untersuchungen eines geringen Stichprobenumfanges. Derartige Resultate können zu widersprüchlichen Schlussfolgerungen führen.

Der Vitamin E-Bedarf von Rindern ist nicht eindeutig definiert. Der National Research Council (Committee on Dietary Allowances, Food and Nutrition Board) der Vereinigten Staaten empfiehlt für heranwachsende Rinder und Milchkühe eine Zufuhr von 15 bis 40 mg Vitamin E/kg Futter (bezogen auf die Trockenmasse) (NRC, 1994). Der Bedarf an Vitamin E schlachtreifer Rinder wird nicht angegeben. Die meisten in der Literatur angegebenen Empfehlungen zielen auf einen zusätzlichen Nutzen (oxidative Stabilisierung) und stellen nicht den physiologischenen Bedarf der Rinder dar (MCDOWELL et al., 1996). LIU et al. (1995) zeigten, dass eine Zulage von 60 mg α-Tocopherylacetat/kg Futter zu keiner Veränderung der Tiergesundheit führte, so dass diese Menge dem täglichen Bedarf erwachsener Rinder entspricht.

Im Vergleich der Ergebnisse beider Fütterungsversuche fällt auf, dass die MS-Jungbullen im Vergleich zu den MS-Färsen außer beim Plasma trotz gleichen Umfanges der Futterergänzung mit α-Tocopherylacetat deutlich weniger α-Tocopherol in den Geweben einlagern. Der Unterschied zwischen den MS- und den GS-Jungbullen fällt weniger deutlich aus, als zwischen den MS-Färsen und den Weidetieren des Fütterungsversuches I. Die jeweiligen Konzentrationen an α-Tocopherol sind bei den GS-Jungbullen weniger als halb so groß wie bei den Weidetieren.

Bereits TIMM (2000) stellte die höchsten Konzentrationen an α-Tocopherol im Lebergewebe fest. Diese Tatsache kann durch die eigenen Ergebnisse bestätigt werden. Bei TIMM (2000) folgte als Gewebe mit der nächsthöchsten Konzentration das Nierenfett, das bei den eigenen Untersuchungen die geringsten α-Tocopherol-Mengen enthielt. Die übrigen Gehalte an α-Tocopherol lagen in vergleichbaren Größenordnungen wie bei den von TIMM (2000) durchgeführten Untersuchungen. In diesen

wurden drei unterschiedliche Fütterungsstrategien miteinander verglichen. In einem Fütterungsversuch wurden zunächst die Menge und die Dauer der Supplementierung mit α-Tocopherylacetat variiert (600 bzw. 2000 mg/Tag; 80 bzw. 120 Tage). Hierbei zeigte sich, dass bei der geringen Dosierung keine Unterschiede in den Proben nach 80 bzw. 120 Tagen feststellbar waren. Im Vergleich zu den Kontroll-Tieren (Muskelgewebe: 0.4 bis 0.8 mg/kg, Serum: 0.9 bis 1.0 mg/l, Leber 2.0 bis 2.8 mg/kg) führte die Fütterung mit angereichertem Futter zu einer Erhöhung der Konzentration an α-Tocopherol auf 1.0 bis 1.9 mg/kg (Muskelgewebe), 1.2 bis 1.8 mg/l (Serum) bzw. 5.8 bis 5.9 mg/kg (Leber). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen konnten bei den vergleichbaren Tieren des eigenen Fütterungsversuches (MS K- und MS T Jungbullen) im Lebergewebe divergierende Resultate erzielt werden (MS K: 0.5 mg/kg; MS T: 2.2 mg/kg). Diese Werte fallen trotz einer höheren Zufütterung mit α-Tocopherylacetat (1000 mg/Tag statt 600 mg/Tag) und längerer Fütterungsperiode (150 Tage) deutlich geringer aus. Bei einer weiteren Erhöhung der täglich mit dem Futter zugeführten Menge von α-Tocopherylacetat auf 2000 mg zeigte sich bei den Untersuchungen von TIMM (2000) ein weiterer Anstieg der α-Tocopherol-Konzentrationen im Muskelgewebe, im Plasma und im Lebergewebe. In der Leber beeinflusste die Länge der Fütterungsperiode zusätzlich die α-Tocopherol-Gehalte. Nach 80 Tagen betrug der Gehalt an α-Tocopherol in der Leber 12.7 mg/kg, nach 120 Tagen 16.8 mg/kg. Diese hohen Werte werden in keinem der selbst durchgeführten Fütterungsversuche erreicht.

In einem weiteren Fütterungsversuch untersuchte TIMM (2000) den Einfluss einer Langzeitsupplementierung mit α-Tocopherylacetat. Mit einer täglichen Zulage von 1000 mg wurden „Deutsche Fleckvieh"-Jungbullen über einen Zeitraum von 180 bzw. 270 Tagen gemästet. In sämtlichen Geweben und im Serum wurden deutlich höhere Konzentrationen an α-Tocopherol bestimmt als in den Kontroll-Tieren. Die Gehalte an α-Tocopherol in den letztgenannten stehen in sehr gutem Einklang mit den eigenen Ergebnissen. TIMM (2000) bestimmte im Muskelgewebe der Kontroll-Tiere 0.3 bis 0.4 mg α-Tocopherol/kg, während die Konzentrationen im Serum und in der Leber bei 0.4 mg/l bzw. 1.0 mg/kg lagen. Je länger der Zeitraum der Zufütterung mit α-Tocopherylacetat war, desto größer waren die resultierenden α-Tocopherol-Konzentrationen in den untersuchten Proben. Diese Dosis- und Dauerabhängigkeit zeigte sich bei allen Geweben (Muskelgewebe: 1.8 bis 2.4 mg/kg nach 180 Tagen bzw. 2.6 bis 2.9 mg/kg nach 270 Tagen; Lebergewebe: 6.5 mg/kg nach 180 Tagen bzw. 8.1 mg/kg nach 270 Tagen) und im Serum (1.6 mg/l nach 180 Tagen bzw. 2.3 mg/l nach 270 Tagen). Eine lineare Interpolation der Wirkung einer Futterergänzung mit α-Tocopherol scheint wenig wahrscheinlich, so dass die Berechnung der jeweiligen Konzentrationen nach 150 Tagen, um einen Vergleich mit den eigenen Untersuchungen zu ermöglichen, nicht möglich ist. Die anhand der Ergebnisse von TIMM (2000) erkennbare Abhängigkeit von der Dauer der Zufütterung lassen aber die deutlich geringeren Konzentrationen an α-Tocopherol in den eigenen Fütterungsversuchen erklärbar erscheinen.

In einem dritten Fütterungsversuch zeigte TIMM (2000) an „Deutschen Fleckvieh"-Ochsen den Einfluss einer Weidefütterung bzw. einer gemischten Fütterung (MS und Weide) im Vergleich zur MS-Fütterung. Bedingt durch die höheren Gehalte an α-Tocopherol in dem Weidegras wurden ansteigende α-Tocopherol-Konzentrationen in Abhängigkeit der Dauer des Weideganges festgestellt. Während in den Geweben bzw. dem Serum der MS-Ochsen 0.9 mg α-Tocopherol/kg (MLD), 0.9 mg/l (Serum) bzw. 3.0 mg/kg (Leber) bestimmt wurden, konnten nach der Mischfütterung bereits deutlich höhere α-Tocopherol-Konzentrationen bestimmt werden (MLD: 2.3 mg/kg; Serum: 1.8 mg/l; Leber: 5.0 mg/kg), die wiederum deutlich von den α-Tocopherol-Gehalten der Weidegangtiere übertroffen wurden (MLD: 3.6 mg/kg; Serum: 5.4 mg/l; Leber: 13.2 mg/kg). Diese Resultate sind annähernd vergleichbar mit den Gehalten an α-Tocopherol in den Geweben bzw. dem Plasma des eigenen Fütterungsversuches mit Färsen, wobei derart hohe Konzentrationen im Plasma und in der Leber der Färsen nicht beobachtet werden.

Einen Fütterungsversuch mit ähnlicher Intensität führten HIDIROGLOU et al. (1988) durch. Jeweils sechs Rinder (Kreuzung aus „Charolais" und „Hereford") im Alter von zwei bis zehn Jahren erhielten neben Heu täglich Rationen von D-α-Tocopherol, D-α-Tocopherylacetat, DL-α-Tocopherol oder DL-α-Tocopherylacetat, die einer Menge von 1000 IE äquivalent waren. Während sich im Muskelgewebe mit durchschnittlich 5.64 mg α-Tocopherol/kg keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen ergaben, zeigten sich sowohl im Plasma als auch in der Leber signifikante Unterschiede in Abhängigkeit des zugesetzten Futtersupplementes. Die Leber wies nach 28 Tagen bei den Rindern, die mit D-α-Tocopherol supplementiertes Futter erhielten, eine Konzentration von 27.0 mg/kg auf. Die α-Tocopherol-Gehalte bei den Rindern, bei denen das Futter mit D-α-Tocopherylacetat supplementiert wurde, betrugen 24.2 mg/kg, wobei ein signifikanter Unterschied zu den Gehalten der D-α-Tocopherol-Gruppe nicht festgestellt wurde. Mit 19.88 mg/kg (DL-α-Tocopherylacetat-Gruppe) bzw. 15.67 mg/kg (DL-α-Tocopherol-Gruppe) unterschieden sich die Konzentrationen an α-Tocopherol in der Leber nach Zufütterung des racemischen Gemisches signifikant von denen, die durch Zugabe des natürlich vorkommenden Isomers erzielt wurden. Im Vergleich zu den eigenen Ergebnissen sind die von HIDIROGLOU et al. (1988) erhaltenen Konzentrationen an α-Tocopherol deutlich höher. Besonders auffallend sind die Konzentrationen in der Leber (15.7 bis 27.0 mg/kg), die um den Faktor 2 bis 5 gegenüber den eigenen Ergebnissen erhöht sind. Im Muskelgewebe der Tiere aus den eigenen Fütterungsversuchen wurden maximal 3.5 mg α-Tocopherol/kg bestimmt. Auch hier liegt ein deutlicher Unterschied zu den zitierten Gehalten an α-Tocopherol vor. Da die hohen Konzentrationen an α-Tocopherol in der Leber bereits nach 28 Tagen aufgetreten sind, kann die Dauer der Futtersupplementierung nicht entscheidend zu diesen Differenzen beitragen. Im Fütterungsversuch von HIDIROGLOU et al. (1988) erhielten die Tiere Heu zur freien Verfügung. Dieses Rauhfutter ist in seinen Gehalten an α-Tocopherol vergleichbar mit GS und kann ebenfalls nicht der Grund für eine derart hohe Anreicherung mit α-Tocopherol in den Geweben und im Plasma sein. Mög-

licherweise sind die Unterschiede auf verschiedene Rinderrassen zurückzuführen (EIKELENBOOM et al., 2000).

In einem Einzelfütterungsversuch erhielten 20 Jungbullen der Rasse „Schwarzbunte“ über 350 Tage neben einer entsprechenden Menge Kraftfutter und Weizenstroh unterschiedliche Mengen Rapssamen (geschrotet) zugesetzt (FLACHOWSKY et al., 1994 und 1997a). Hieraus ergaben sich im Futter einerseits unterschiedliche Fettgehalte andererseits stieg mit zunehmendem Rapssamenanteil auch der Gehalt an α-Tocopherol im Futter. Die hieraus resultierende Vitamin E-Aufnahme lag zwischen 86 und 257 mg pro Tier und Tag bei gleichzeitigem Anstieg der Rohfettaufnahme von 172 bis 640 g pro Tier und Tag. Im Vergleich zu den Kontroll-Tieren konnten bei Zusatz von Rapssamen stets höhere Gehalte an α-Tocopherol im Serum und im MLD bestimmt werden. Die α-Tocopherol-Konzentrationen der Kontrollgruppe sind mit denen der Kontroll-Tiere aus den Fütterungsversuchen I bzw. II vergleichbar (Serum: 0.75 mg/l; MLD 0.70 mg/kg). Ein Vergleich der übrigen Werte mit denen der eigenen Fütterungsversuche ist schwierig, da sich bei dem von FLACHOWSKY et al. (1994) durchgeführten Fütterungsversuch sowohl die absoluten Mengen zugesetzten α-Tocopherols als auch die Dauer der Fütterung stark unterscheiden. Zu beachten ist, dass bei dem beschriebenen Fütterungsversuch stets zwei Parameter im Futter variiert wurden (Gehalt an α-Tocopherol und Fettgehalt). So stieg der Fettgehalt im MLD von 1.3 auf bis zu 2.2 % an. Aufgrund des höheren Fettgehaltes ist die Einlagerung von α-Tocopherol löslichkeitsbedingt erhöht. AUGUSTINI et al. (1998) vermuteten, dass der unterschiedliche Protein- bzw. Fettansatz die verschieden ausgeprägte Einlagerung von α-Tocopherol bei Bullen und Ochsen bedingt, wobei sie wie LIU et al. (1994) nur eine geringe Korrelation zum intramuskulären Fettgehalt feststellen konnten. Bestätigt wurde diese Vermutung von NICOLAY et al. (1995) und DEN HERTOG-MEISCHKE et al. (1997). Geschlechtsspezifische Veranlagerungen hinsichtlich des Proteinansatzes bzw. der Fetteinlagerung können auch der Grund für die verschiedenen Ergebnisse bei den Fütterungsversuchen I und II sein. FAUTMAN und CASSENS (1991) stellten hierzu die These auf, dass Fleischrinder in der Lage sind, α-Tocopherol effektiver einzulagern als Milchrinder, wobei in Hinblick auf die eigenen Ergebnisse zu bedenken ist, dass „Deutsches Fleckvieh“ zu den Zweinutzungsrindern gehört.

DEN HERTOG-MEISCHKE et al. (1997) mästeten Bullen (Kreuzung aus „Piemonteser“ und „Schwarzbunte“) mit Kraftfutter und MS. Die Hälfte der Versuchstiere erhielt über eine Zeitspanne von 120 Tagen 2150 mg α-Tocopherol/kg Futter. Im MST und *musculus longissimus lumborum* lagen bereits die Gehalte an α-Tocopherol bei den Kontroll-Tieren mit 2.3 bzw. 2.1 mg/kg deutlich über den α-Tocopherol-Konzentrationen der MS T-Tiere der beiden eigenen Fütterungsversuche. Die Konzentrationen an α-Tocopherol in den Muskelproben der Tiere, die mit α-Tocopherol ergänztes Futter bekamen, lagen bei 4.6 mg/kg (MST) bzw. 4.4 mg/kg (*musculus longissimus lumborum*). Die Unterschiede in den Gehalten an α-Tocopherol lassen vermuten, dass genetisch bedingt eine bevorzugte Einlagerung von α-Tocopherol stattgefunden hat.

Geringere Resultate in den Gehalten an α-Tocopherol erzielten zuvor NICOLAY et al. (1995). Sie mästeten „Blau-Weiße-Belgier"-Bullen mit Kraftfutter und Weizenstroh. Das Futter wurde mit zwei unterschiedlichen Dosierungen von α-Tocopherol (ca. 280 bzw. 2200 mg/Tag) über einen Zeitraum von 125 Tagen angereichert. Trotz der im Vergleich zu den eigenen Fütterungsversuchen (I und II) höheren Menge an α-Tocopherol im Futter führte der beschriebene Fütterungsversuch zu vergleichbaren Ergebnissen in den α-Tocopherol-Gehalten. Die Konzentrationen im MLD der Kontroll-Tiere betrug bei NICOLAY et al. (1995) 0.8 mg/kg, die der mit hochdosiertem Futter gemästeten Tiere 1.9 mg/kg. Besonders im Vergleich zum Fütterungsversuch I (Färsen) fallen deutliche Parallelen in den α-Tocopherol-Konzentrationen auf. Verhältnismäßig hoch sind im Gegensatz dazu in den mit hoher Dosierung an α-Tocopherol gefütterten Tieren die Gehalte an α-Tocopherol im Blutplasma (7.3 mg/l) und in der Leber (10.8 mg/kg), wobei auch die Konzentrationen in der Leber bzw. dem Plasma der Tiere, die gering angereichertes Futter erhielten, die entsprechenden Werte der Kontroll-Tiere der eigenen Fütterungsversuche deutlich übertrafen.

Jeweils fünf 26 bzw. 27 Monate alte „Holstein-Friesian"-Rinder erhielten 50 Tage vor der Schlachtung in einem von LYNCH et al. (1999) beschriebenen Fütterungsversuch bei gleichem Grundfutter (Kraftfutter und GS bzw. Gerste-Silage) entweder 20 oder 2000 mg α-Tocopherolacetat/kg Futter. Die Gehalte an α-Tocopherol waren in den Muskelproben (*musculus psoas major*, MLD und *musculus gluteus medius*) der Tiere, die die hohe Dosierung erhielten, im Vergleich zu den anderen Tieren signifikant ($p < 0.05$) erhöht. Mit einem identischen Versuchsdesign untersuchten zuvor FORMANEK et al. (1998) den *musculus semimembranosus*. Auch hier unterschieden sich die Gehalte an α-Tocopherol im Muskel der beiden Fütterungsgruppen signifikant (niedrige Dosierung des Futtersupplementes: 2.1 mg/kg Muskelgewebe; hohe Futtersupplementierung: 3.4 mg/kg Muskelgewebe). Zwar sind auch diese Werte gegenüber den Ergebnissen der eigenen Fütterungsversuche erhöht, LYNCH et al. (1999) stellten aber zwischen den einzelnen Muskelarten signifikant ($p < 0.05$) unterschiedliche α-Tocopherol-Konzentrationen fest. Die Gehalte waren am größten im *musculus psoas major* und am geringsten im *musculus gluteus medius*. Zusätzlich sind auch hier die unterschiedlichen Rinderrassen und deren phänotypische Charakteristika bei der Einlagerung von α-Tocopherol zu berücksichtigen.

Insgesamt acht Ochsen („Japanese Black") bildeten das Untersuchungmaterial in einem Fütterungsversuch von MITSUMOTO et al. (1998). Eine Woche vor dem Schlachttermin wurde das Futter (Kraftfutter und Hirse-Silage oder Heu) der Hälfte der Tiere täglich mit 5000 mg DL-α-Tocopherol angereichert. Das α-Tocopherol war mit einer speziellen Schicht überzogen, die das Passieren des Pansens ermöglichte. Die Supplementierung des Futters führte zu einem hoch signifikanten Anstieg der α-Tocopherol-Gehalte im Muskelgewebe (Kontrolle: 1.7 mg/kg; Supplementierung: 2.6 mg/kg), in der Leber (Kontrolle: 2.7 mg/kg; Supplementierung: 14.0 mg/kg) und im Plasma (Kontrolle: 1.2 mg/l; Supplementierung: 7.8 mg/l). Eine signifikante Korrelation zwischen intramuskulärem Fettgehalt und α-Tocopherol-Konzentration wurde

ebenso wenig festgestellt wie ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gehalten an α-Tocopherol in *musculus psoas major* und *musculus longissimus thoracis*. Obwohl MITSUMOTO et al. (1998) in Muskelproben dieses Fütterungsversuches bei den Proben der mit supplementierten Rationen gefütterten Tiere nach 10 Tagen Lagerung weiterhin höhere a*-Werte (Grad der Röte), weniger Metmyoglobin und geringere TBARS-Werte feststellten, bleibt fraglich, ob das α-Tocopherol innerhalb der kurzen Supplementierungsdauer in die oxidationsempfindlichen Membranen eingelagert wurde oder sich hauptsächlich im inter- und intramuskulären Fettgewebe angereichert hat. ARNOLD et al. (1993b) berichteten, dass sich ein Gleichgewicht zwischen α-Tocopherol im Futter und einer Anreicherung im *musculus longissimus lumborum* erst nach 12 bis 18 Wochen einstellt.

Den Effekt einer Langzeitfütterung (252 Tage) mit drei unterschiedlichen Dosierungen des Futtersupplementes (0, 500 bzw. 2000 IE α-Tocopherylacetat pro Tier und Tag) untersuchten ARNOLD et al. (1993a). Ochsen („Holstein-Friesian" und Kreuzung aus „Angus", „Hereford" und „Charolais") wurden nach Körpergröße eingeteilt und in Gruppen zu jeweils fünf oder sechs Tieren zusammengefasst. Zusätzlich erhielten die Tiere MS, Mais, Sojabohnen sowie Vitamine und Mineralstoffe. Hypervitaminosen konnten bei den mit angereichertem Futter gemästeten Tieren nicht festgestellt werden. Bei der Untersuchung des Plasmas zeichnete sich bei einer Supplementierung der Futterrationen mit Vitamin E ein hoch signifikanter Anstieg ab, wobei am Anfang des Fütterungsversuches weder zwischen den Fütterungsgruppen noch zwischen den Rassen ein signifikanter Unterschied im Plasma-α-Tocopherolgehalt bestand. Bei allen Bestimmungen erwiesen sich die Gehalte an α-Tocopherol bei den Tieren, die kein zusätzliches α-Tocopherol mit dem Futter aufnahmen, am niedrigsten und bei den Ochsen, die mit 2000 IE α-Tocopherylacetat supplementierte Rationen erhielten, am höchsten ($p < 0.01$). Im Verlauf des Fütterungsversuches zeigte sich, dass die α-Tocopherol-Konzentrationen im Plasma der Ochsen, die der Kreuzung verschiedener Rassen entstammten, stets hoch signifikant ($p < 0.01$) größer waren als die der „Holstein-Friesian"-Ochsen. Die Konzentrationen von α-Tocopherol im Plasma betrugen bei den mit nichtsupplementiertem Futter gemästeten Ochsen 1.8 (Kreuzung) bzw. 1.4 mg/l („Holstein-Friesian") und bei den Ochsen, die supplementiertes Futter erhielten, 5.6 bzw. 4.4 mg/l (500 IE/Tag und Tier) und 8.9 bzw. 7.1 mg/l (2000 IE α-Tocopherylacetat/Tag und Tier). Bereits die Plasma-α-Tocopherol-Konzentrationen der Ochsen, denen unsupplementiertes Futter angeboten wurde, wiesen höhere Werte auf als die entsprechenden Konzentrationen der eigenen Fütterungsversuche (MS K: 0.5 mg/l). Diese Ergebnisse standen im Gegensatz zu der geringeren Vitamin E-Aufnahme der Ochsen aus den Kreuzungen verschiedener Rinderrassen (geringere Futteraufnahme) und konnten von ARNOLD et al. (1993a) nicht erklärt werden. Auch GARBER et al. (1996) stellten im Plasma unterschiedliche Konzentrationen in Abhängigkeit von der Rinderrasse fest. Nach einer Supplementierung mit 1000 mg DL-α-Tocopherylacetat/kg Futter für 125 bzw. 145 Tage wurden Plasma-α-Tocopherol-Konzentrationen von 4.9 (Kreuzung) bzw. 3.0 mg/l („Holstein-Friesian"-Ochsen) gemessen. Die Konzentrationen an

α-Tocopherol in der Leber, im *musculus gluteus medius*, im *musculus longissimus lumborum* und im subkutanen Fettgewebe stiegen bei ARNOLD et al. (1993a) von einer Fütterungsgruppe zur nächsten hoch signifikant ($p < 0.01$) an. Außer beim Plasma (siehe oben) bestehen keine signifikanten Unterschiede in den Gehalten an α-Tocopherol im subkutanen Fettgewebe, in der Leber und den beiden untersuchten Muskelarten zwischen den „Holstein-Friesian"-Ochsen und den Ochsen aus den Kreuzungen verschiedener Rassen. Die Konzentrationen von α-Tocopherol stiegen im Muskelgewebe von 1.0 bis 1.2 mg/kg (*musculus longissimus lumborum*, keine Futtersupplementierung) bzw. 1.3 bis 1.6 mg/kg (*musculus gluteus medius*, keine Futtersupplementierung) zunächst auf 4.1 bis 4.2 mg/kg (*musculus longissimus lumborum*, Futtersupplementierung mit 500 IE α-Tocopherylacetat/Tag) bzw. 5.0 bis 5.5 mg/kg (*musculus gluteus medius*, Futtersupplementierung mit 500 IE α-Tocopherylacetat/Tag) auf schließlich 6.6 bis 7.2 mg/kg (*musculus longissimus lumborum*, Futtersupplementierung mit 2000 IE α-Tocopherylacetat/Tag) bzw. 8.5 bis 8.7 mg/kg (*musculus gluteus medius*, Futtersupplementierung mit 2000 IE α-Tocopherylacetat/Tag) an. Die α-Tocopherol-Konzentrationen in den Geweben der mit nichtangereichertem Futter gemästeten Ochsen ist vergleichbar mit den Ergebnissen bei den Färsen. Die Tendenz zur Fetteinlagerung und gleichzeitigen Einlagerung von α-Tocopherol in die verschiedenen Gewebe scheint bei Ochsen und bei Färsen ähnlich zu sein. Eine direkte Korrelation zum intramuskulären Fettgehalt besteht jedoch nicht (ARNOLD et al., 1993a). Auffallend ist, dass eine Vervierfachung der Supplementmenge im Futter im *musculus longissimus lumborum* lediglich einen Anstieg von 4 auf 7 mg α-Tocopherol/kg Muskelgewebe bewirkt. Der Grad der Einlagerung von α-Tocopherol ist in den verschiedenen Muskelarten unterschiedlich ausgeprägt, wobei der absolute Gehalt im *musculus gluteus medius* im Vergleich zum *musculus longissimus lumborum* hoch signifikant ($p < 0.01$) höher ist. Die α-Tocopherol-Konzentrationen der Ochsen, deren Futter mit 500 IE α-Tocopherylacetat täglich supplementiert wurde, sind gegenüber den Werten bei den Färsen (Fütterungsversuch I), die mit 1000 IE α-Tocopherylacetat/Tag ergänztes Futter aufnahmen, erhöht, wobei die längere Fütterungsdauer der Ochsen zu bedenken ist. Noch deutlicher ist der Einfluss der α-Tocopherol-Supplementierung des Futters auf die Konzentration des α-Tocopherols in der Leber. Diese betragen 1.6 - 2.1 mg/l (Fütterung mit unsupplementiertem Futter), 10.2 - 13.4 (Futtergänzung mit 500 IE/Tag) bzw. 25.1 - 25.3 (Futtersupplementierung mit 2000 IE/Tag). Im Vergleich zu den Kontroll-Tieren (MS) der Fütterungsversuche I und II erweist sich erneut bereits die α-Tocopherol-Konzentration der Kontroll-Tiere bei ARNOLD et al. (1993a) als höher. Konzentrationen von mehr als 10 mg α-Tocopherol/kg werden nicht einmal von den Weidetieren übertroffen, wobei der längere Fütterungszeitraum der Ochsen die Hauptursache für diesen Konzentrationsunterschied im Speicherorgan Leber sein dürfte (MCDOWELL et al., 1996). 15 - 16 mg α-Tocopherol/kg fanden GARBER et al. (1996) nach Supplementierung mit 1000 mg/kg Futter in der Leber.

Muskelspezifische Unterschiede in der Fähigkeit, α-Tocopherol einzulagern, fanden auch CHAN et al. (1996), die ihren Fütterungsversuch entsprechend dem von ARNOLD

et al. (1993a) durchführten. Jeweils sechs „Holstein-Friesian“-Ochsen wurden mit Futter gefüttert, das entweder nicht oder mit 2000 mg DL-α-Tocopherylacetat pro Tag supplementiert war (Dauer: 122 Tage). Die Konzentrationen an α-Tocopherol in den Muskeln betrug bei den Kontroll-Tieren 0.68 (*musculus longissimus lumborum*), 0.97 (*musculus gluteus medius*) bzw. 1.23 mg/kg (*musculus psoas major*), wobei die Unterschiede zueinander jeweils signifikant ($p < 0.05$) waren. Entsprechende Unterschiede zeigten sich auch bei den mit supplementierten Futterrationen gemästeten Ochsen, die in den untersuchten Muskelproben Gehalte von 6.26 (*musculus longissimus lumborum*), 7.98 (*musculus gluteus medius*) bzw. 10.93 mg/kg (*musculus psoas major*) aufwiesen. Während die α-Tocopherol-Konzentrationen der Kontroll-Tiere denen der eigenen Fütterungsversuche ähnelten, übertrafen die Konzentrationen der mit supplementiertem Futter gefütterten Tiere die eigenen Ergebnisse um mehr als den Faktor 3 (Färsen) bzw. 6 (Jungbullen). Die Gründe hierfür sind in den unterschiedlichen Rinderrassen, den deutlich höheren Supplementierungsdosen bei CHAN et al. (1996) und in den verschiedenen untersuchten Muskelarten zu finden. Wie bei allen anderen Fütterungsversuchen, die auf einer Fütterung von Mais und MS basieren, stellten CHAN et al. (1996) im Vergleich zu den Fütterungsversuchen I und II sehr hohe Plasma-α-Tocopherol-Konzentrationen fest. Diese betrug bei den supplementierten Ochsen 8.0 mg/l.

In einem weiteren Fütterungsversuch mit Ochsen beurteilten ARNOLD et al. (1993b) zwei verschiedene Dosierungsstrategien und den Einfluss der Dauer von Futtersupplementierungen. Die Tiere (jeweils drei „Holstein-Friesian“-Ochsen) erhielten mit dem Futter 2000 IE α-Tocopherylacetat/Tag, 5.8 IE α-Tocopherylacetat/Tag und kg Lebendgewicht, 8.6 IE α-Tocopherylacetat/Tag und kg Lebendgewicht bzw. 5.8 IE α-Tocopherylacetat/Tag und kg Lebendgewicht über eine verkürzte Dauer (bis Tag 126 oder ab Tag 127 von 266 Tagen). Jeweils drei Ochsen (Kreuzung aus „Angus“ und „Hereford“) erhielten entweder kein oder mit täglich 2000 IE α-Tocopherylacetat supplementiertes Futter, um den Einfluss der Rinderrasse zu erfassen. Zusätzlich untersuchten ARNOLD et al. (1993b), inwieweit der Weidegang der Tiere die Einlagerung des α-Tocopherols beeinflusst. Für diesen Versuch wurden sechs Ochsen („Holstein-Friesian“) 86 Tage auf der Weide belassen und danach entweder mit unsupplementiertem Futter oder mit supplementiertem Futter, dessen Supplementanteil 8.6 IE α-Tocopherylacetat/Tag und kg Lebendgewicht betrug, weitergemästet. Das Futter bestand im übrigen wie bei ARNOLD et al. (1993a) aus MS, Mais, Sojabohnen sowie einer Mineralstoff- und Vitaminmischung. Auch bei diesem Fütterungsversuch zeigte sich ein deutlicher Anstieg der Gehalte an α-Tocopherol im Plasma, in den Muskelproben, in der Leber und im Fettgewebe der Ochsen, die supplementiertes Futter erhielten, gegenüber den mit nichtsupplementierten Rationen gefütterten Tieren ($p < 0.01$). Die höchsten Konzentrationen an α-Tocopherol wurden in der Leber der Tiere festgestellt, die täglich 8.6 IE α-Tocopherylacetat/kg Lebendgewicht erhielten, wobei das vorherige Weiden der Ochsen nicht zu einer weiteren Steigerung dieser Gehalte führte. Im *musculus longissimus lumborum* führte eine Supplementierung des Futters, die einer Menge von 5.8 IE/kg Lebendgewicht bzw.

2000 IE/Tag entsprach, zu einer Anreicherung auf 6.5 bis 7.6 mg α-Tocopherol/kg Muskelmasse, wobei diese Konzentration die Sättigung dieses Muskels mit α-Tocopherol widerzuspiegeln scheint, da trotz höherer Supplementierung des Futters kein weiterer Anstieg des α-Tocopherol-Gehaltes im Gewebe nachweisbar war. Auch die Ergebnisse dieses Fütterungsversuches zeigen verglichen mit den eigenen Ergebnissen deutlich höhere α-Tocopherol-Konzentrationen im Plasma und im Gewebe. Eine Beurteilung ist aber erneut aufgrund der unterschiedlichen Versuchsbedingungen unmöglich.

24 Färsen (Kreuzung aus „Angus“ und „Hereford“) wurden zufällig in vier Fütterungsgruppen eingeteilt, von denen jeweils zwei das gleiche Grundfutter (hauptsächlich Sojabohnen bzw. Baumwollsaat, zusätzlich Mais und Mineralstoffe) erhielten. Eine Fütterungsgruppe pro Grundfutter erhielt über einen Zeitraum von 90 Tagen mit DL-α-Tocopherylacetat angereichertes Futter, welches eine tägliche Zufuhr von 4036 IE/Tier ermöglichte (CHAN et al., 1998), das Futter der jeweils anderen Fütterungsgruppe enthielt DL-α-Tocopherylacetat in einer Konzentration, die zu einer täglichen Aufnahme von 216 IE/Tier führte. Als Rauhfutter stand den Tieren Heu ad libitum zur Verfügung. Die Gehalte an α-Tocopherol am Ende des Fütterungsversuches unterschieden sich jeweils zwischen den Fütterungsgruppen signifikant ($p < 0.05$), wobei sich die α-Tocopherol-Konzentrationen in den jeweiligen Muskeln zwischen den Tieren, die Sojabohnen- und Baumwollsaat erhielten, nicht signifikant unterschieden. Der relative Anstieg des Gehaltes an α-Tocopherol war im *musculus psoas major* stärker ausgeprägt als im *musculus longissimus lumborum*, wobei der Unterschied in den absoluten Gehalten im Gegensatz zu den Untersuchungen von ARNOLD et al. (1993b) nicht signifikant ist. Die Konzentrationen an α-Tocopherol in den beiden von CHAN et al. (1998) untersuchten Muskeln sind größer (*musculus longissimus lumborum*: 1.83 - 2.13 mg/kg bzw. 4.37 - 4.52 mg/kg; *musculus psoas major*: 1.54 - 2.03 mg/kg bzw. 5.56 - 6.11 mg/kg) als die Gehalte an α-Tocopherol im MST der Färsen (Fütterungsversuch I). Leider werden keine vergleichbaren Ergebnisse ohne α-Tocopherol-Supplementierung des Futters von diesen Autoren angegeben. Zusätzliche Informationen bezüglich der Futterzusammensetzung fehlen, so dass weitere Ursachen nicht diskutiert werden können. Möglicherweise unterschieden sich die beiden Futterarten im Fettgehalt, der einen entscheidenden Einfluss auf die Absorption des α-Tocopherols im Dünndarm besitzt (FLACHOWSKY et al., 1994, 1997a, 1997b).

Mit 0, 1000 bzw. 2000 IE α-Tocopherylacetat/Tier wurde das Futter von insgesamt 84 Ochsen angereichert (Kreuzung aus „Angus“, „Hereford“ und „Saler“), deren Grundfutter aus Mais und MS bestand (SANDERS et al., 1997). Die Tiere dieses Fütterungsversuches zeigten weder während des Fütterungsversuches Unterschiede in ihren Wachstumseigenschaften noch am Ende des Versuches (nach 100 Tagen) signifikante Unterschiede der Schlachtkörperzusammensetzung, so dass eine direkte Vergleichbarkeit innerhalb des gesamten Fütterungsversuches gegeben war. Die Konzentration an α-Tocopherol im *musculus longissimus lumborum* erwies sich mit 3.7 mg/kg als hoch im Vergleich zu den Gehalten im Muskelgewebe der Tiere, die

supplementiertes Futter erhielten (1000 IE/Tier und Tag: 5.84 mg/kg; 2000 IE/Tier und Tag: 5.74 mg/kg). Ähnlich hohe α-Tocopherol-Gehalte bei den Kontroll-Tieren wurden bei keinem weiteren in der Literatur beschriebenen Fütterungsversuche mit Rindern festgestellt. Ob die Ursache in dem Grundfutter (Mais und MS) begründet ist, bleibt fraglich, da diese Mastform typisch für die Fütterung von Rindern in den Vereinigten Staaten ist und auch bei anderen Fütterungsversuchen angewendet wurde. Während der Unterschied der α-Tocopherol-Konzentration im Muskelgewebe der Kontroll-Tiere im Verhältnis zu den mit supplementiertem Futter gemästeten Ochsen signifikant ($p < 0.05$) unterschiedlich war, konnten SANDERS et al. (1997) zwischen den beiden Dosierungen der Futtersupplementierung (1000 bzw. 2000 IE/Tier und Tag) keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen.

Fleischproben (*musculus longissimus lumborum*) von sechs „Holstein-Friesian"-Ochsen, die mit einem Grundfutter aus Mais und MS gemästet wurden, dienten LANARI et al. (1995) als Untersuchungsgut. Jeweils drei Tiere erhielten 105 Tage vor der Schlachtung unsupplementiertes oder mit 620 IE α-Tocopherylacetat/Tag angereichertes Futter. Die quantitative Bestimmung ergab einen α-Tocopherol-Gehalt im Muskelgewebe der mit unsupplementierten Rationen gefütterten Tiere von 0.66 mg/kg im Vergleich zu einem Gehalt von 2.25 mg/kg im Gewebe der Ochsen, die erhöhte α-Tocopherol-Mengen über das Futter aufnahmen. Diese Konzentrationen entsprechen sehr gut den Ergebnissen des Fütterungsversuches I (Färsen), wobei die unterschiedliche Dosierung, das unterschiedliche Geschlecht und die Bestimmung des α-Tocopherol-Gehaltes in verschiedenen Muskelarten unberücksichtigt bleiben.

Drei verschiedene Muskelarten (*musculus longissimus lumborum*, *musculus gluteus medius* und *musculus semimembranosus*) von „Holstein-Friesian"-Ochsen wurden von LIU et al. (1996b) auf ihren Gehalt an α-Tocopherol untersucht. Die Proben entstammten einem Tierfütterungsversuch mit insgesamt 36 Tieren, denen zusätzlich zum Grundfutter (Mais und MS) über 126 Tage vier unterschiedliche Dosierungen an *all-rac*-α-Tocopherylacetat (0, 250, 500 oder 2000 mg/Tier und Tag) angeboten wurden. Die Konzentration an α-Tocopherol im Plasma der Tiere unterschied sich in jeder Dosierungsstufe des Futtersupplementes sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) mit Konzentrationen von 0.4, 1.6, 3.0 und 4.4 mg/l Plasma. Spätestens nach 21 Tagen (erster Untersuchungstag) hat sich ein Gleichgewicht zwischen Plasma-α-Tocopherol-Konzentration und α-Tocopherol-Konzentration im Futter eingestellt. Sehr hoch signifikante Unterschiede ($p < 0.001$) wurden auch bei den Konzentrationen an α-Tocopherol im Muskelgewebe und in den verschiedenen Muskeln festgestellt. Die Konzentrationen betrugen durchschnittlich 0.59 mg/kg (nach Fütterung mit unsupplementiertem Futter), 1.39 mg/kg (Fütterung mit zusätzlich 250 IE/Tier und Tag), 2.27 mg/kg (Futtersupplementierung mit 500 IE/Tier und Tag) und 4.95 mg/kg (Supplementierung des Futters mit 2000 IE/Tier und Tag) und waren damit vergleichbar mit den Konzentrationen der eigenen Fütterungsversuche. Ebenso wie ARNOLD et al. (1993b) und CHAN et al. (1996) stellten LIU et al. (1996b) die geringste α-Tocopherol-Konzentration im *musculus longissimus lumborum* (1.97 mg/kg) fest. Jeweils

sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) höher waren ab einer täglichen Futtersupplementierung von 500 IE/Tier die Konzentrationen im *musculus semimembranosus* (2.24 mg/kg) und *musculus gluteus medius* (2.69 mg/kg), wobei sich die Gehalte zwischen diesen beiden Muskeln ebenfalls sehr hoch signifikant unterschieden. Auch TIMM (2000) stellte Unterschiede in den Gehalten an α-Tocopherol im MST und MLD fest, wobei die Konzentration an α-Tocopherol bei einem Fütterungsversuch im MST tendenziell stets höher erschien als im MLD. Signifikant ($p < 0.05$) waren diese Unterschiede jedoch nur bei den höheren Zulagen im Futter (600 mg α-Tocopherylacetat/Tier und Tag über 120 Tage, 2000 mg α-Tocopherylacetat/Tier und Tag über 80 Tage und über 120 Tage). Bei dem Langzeitfütterungsexperiment stellte TIMM (2000) allerdings tendenziell höhere α-Tocopherol-Konzentrationen im MLD im Vergleich zum MST fest. Als möglicher Grund für die unterschiedliche α-Tocopherol-Anreicherung wurde diskutiert, dass die Muskelfasern der roten Muskulatur eine Vielzahl kleiner Mitochondrien enthalten, während in der weißen Muskulatur wenige große Mitochondrien enthalten sind. Hieraus resultiert insgesamt eine größere Membranoberfläche der Mitochondrien in der roten Muskulatur. Eine größere Oberfläche begünstigt die Einlagerung von α-Tocopherol in die Phospholipid-Doppelschicht der Membran (ASHGAR et al., 1991). Auch der Durchmesser der einzelnen Muskelfasern unterscheidet sich je nach Muskulaturtyp und kann somit die Einlagerung des α-Tocopherols beeinflussen. Außerdem ist im lebenden Organismus die Blutversorgung der roten Muskulatur aufgrund einer Vielzahl von Kapillaren stärker als die der weißen Muskulatur, so dass auch das in den Kapillaren verbleibende, nicht entfernbare Blut die höheren α-Tocopherol-Gehalte in der roten Muskulatur vortäuschen kann (ARNOLD et al., 1993b; LIU et al., 1996b).

MITSUMOTO et al. (1991c) verglichen den Einfluss einer Futterergänzung in Abhängigkeit der Rinderrasse und der Dauer der Supplementierung. Basierend auf einer Diät aus Mais und MS erhielten jeweils vier Ochsen (unbekannte Kreuzung) über 67 Tage entweder 0 oder 1200 IE Vitamin E (α-Tocopherylacetat) pro Tier und Tag. Außerdem wurden jeweils fünf „Holstein-Friesian"-Ochsen mit Futter gemästet, welches im gleichen Umfang mit α-Tocopherylacetat supplementiert war, wobei die Dauer der Zufütterung auf 38 Tage begrenzt war. Durch die Supplementierung des Futters mit α-Tocopherylacetat wurde sowohl die α-Tocopherol-Konzentration im MLD der Ochsen, die einer Kreuzung unbekannter Rassen entstammten, (Mast mit unsupplementiertem Futter: 2.2 mg/kg; Fütterung mit angereichertem Futter: 6.0 mg/kg) als auch im MLD der „Holstein-Friesian"-Ochsen (ohne Futtersupplementierung: 2.2 mg/kg; mit Supplementierung des Futters: 3.5 mg/kg) hoch signifikant ($p < 0.01$) gesteigert. Der Unterschied zwischen den α-Tocopherol-Konzentrationen im MLD beider „Rassen" war ebenfalls hoch signifikant ($p < 0.01$). Erneut erwies sich bereits die Konzentration an α-Tocopherol der Kontroll-Tiere als deutlich gegenüber den Ergebnissen der eigenen Fütterungsversuch erhöht.

Proben des *musculus longissimus lumborum* eines Fütterungsversuches mit zwölf „Holstein-Friesian"-Ochsen, von denen die Hälfte der Tiere mit 1500 IE DL-α-Tocopherylacetat pro Tag und Tier angereichertes Futter erhielt, während die andere

Hälfte nicht supplementiertes Futter bekam, zeigten nach einer Dauer dieses Fütterungsversuches von 232 bzw. 252 Tagen einen hoch signifikanten Anstieg der α-Tocopherol-Gehalte von 1.3 bzw. 1.7 mg/kg (Kontrolle) auf 6.1 bzw. 6.8 mg/kg (Fütterung mit angereichertem Futter) (MITSUMOTO et al., 1993). Unter Berücksichtigung der höheren Dosierung und des verlängerten Fütterungszeitraumes sind diese Konzentrationen vergleichbar mit den α-Tocopherol-Konzentrationen des MLD der MS T-Tiere.

Basierend auf einer Diät aus Mais und MS erhielten jeweils acht Färsen („Charolais“) zusätzlich über 28 Tage entweder 0 oder 1000 IE DL-α-Tocopherylacetat pro Tier und Tag (NOCKELS et al., 1996). Die Konzentrationen an α-Tocopherol im Plasma betrugen nach Beendigung des Fütterungsversuches 1.67 (Kontrolle) bzw. 3.28 mg/l (Fütterung mit supplementierten Rationen), während die Gehalte an α-Tocopherol im *musculus longissimus lumborum* 3.77 (Fütterung mit unsupplementiertem Futter) bzw. 3.68 mg/kg (Fütterung mit supplementierten Rationen) betrugen. Innerhalb dieser Zeit hat folglich noch keine Akkumulation von α-Tocopherol im Muskelgewebe stattgefunden. In der Leber war allerdings schon ein signifikanter ($p < 0.05$) Anstieg von 5.13 mg/kg auf 8.09 mg/kg feststellbar. SCHAEFER et al. (1995) erklären den temporären Verlauf der α-Tocopherol-Akkumulation in den verschiedenen Geweben damit, dass nach einer Fütterung von α-Tocopherol und Aufnahme in die Chylomikronen nach Absorption im Dünndarm zunächst die Konzentration an α-Tocopherol im Blut steigt. Dieses dient als Transportmedium, so dass das α-Tocopherol in die Leber gelangt, die als Speicherorgan dient. Von hier erfolgt nach Bedarf und Angebot eine weitere Verteilung in die übrigen Organe und schließlich innerhalb des gesamten Organismus.

Die α-Tocopherol-Konzentrationen im MLD der Kontroll-Tiere aus den Fütterungsversuchen I und II stehen mit 0.66 mg/kg (Färsen) bzw. 0.22 mg/kg (Jungbullen) in sehr gutem Einklang mit den Ergebnissen von LEONHARDT et al. (1997), die handelsübliches Rindfleisch (MLD) auf ihren Gehalt an α-Tocopherol untersuchten. Sie stellten bei einem Medianwert von 0.21 mg/kg einen mittleren α-Tocopherol-Gehalt im MLD von 0.26 mg/kg fest.

MCDOWELL et al. (1996) berichteten, dass bei einer täglichen Supplementierung des Futters mit 1600 IE α-Tocopherolacetat für 21 Tage bzw. 800 IE für 7 Tage eine hoch signifikant ($p < 0.01$) höhere tägliche Gewichtszunahme bei den Tieren eintritt, die die größere Dosierung an Vitamin E erhielten, wobei diese Ergebnisse im Widerspruch zu anderen Publikationen stehen. Weder ARNOLD et al. (1993a) noch SMITH et al. (1996) stellten Unterschiede bei der durchschnittlichen, täglichen Gewichtszunahme der Rinder fest. Auch die Fütterungseffektivität, das Schlachtkörpergewicht, die Marmorierung, die USDA-Qualitätseinstufung und die Ribeye-Fläche bleiben bei einer Supplementierung des Futters mit α-Tocopherol unbeeinflusst.

Entsprechend dem Vorschlag von JENSEN et al. (1998a) spiegeln die Konzentrationen an α-Tocopherol im Plasma und in der Leber den derzeitigen Ernährungsstatus mit α-Tocopherol wider, während das Fett- und das Muskelgewebe die Langzeitver-

sorgung mit α-Tocopherol darstellen. Abhängig von der Dosis und der Dauer der α-Tocopherol-Supplementierung steigt der Gehalt an α-Tocopherol in den Geweben und Flüssigkeiten in folgender Reihenfolge an: Blutplasma < Muskelgewebe < Fettgewebe < Organe (Leber, Lunge, Milz, Herz) (MONAHAN et al., 1990; MCDOWELL et al., 1996). Allerdings werden auch andere Reihenfolgen beschrieben (ARNOLD et al., 1993a; FLACHOWSKY et al., 1997a).

Die Aufnahme von α-Tocopherol in die Gewebe ist von der Menge und der Dauer der Fütterung supplementierten Futters abhängig. Außer in der Leber und im Fettgewebe wird nach einer gewissen Zeit ein Plateau der α-Tocopherol-Konzentration erreicht, welches die Gleichgewichtskonzentration darstellt (PARKER, 1989; ARNOLD et al., 1993b; ROSEN-BAUER et al., 1996). Nach 12 bis 18 Wochen stellt sich dieses Gleichgewicht im Muskelgewebe (*musculus longissimus lumborum*) ein.

Neben den bereits ausführlich diskutierten Ursachen für die unterschiedliche Absorption von α-Tocopherol stellt auch die Darreichungsform einen entscheidenden Faktor dar. Bei den meisten hier diskutierten Fütterungsversuchen wurde sprühgetrocknetes DL-α-Tocopherylactetat mit zermahlenen Reisspelzen vermischt und dem Futter beigemischt. BALDI et al. (1997) verabreichten jeweils 5000 IE DL-α-Tocopherylacetat in drei verschiedenen Formen. Jeweils in Gelatine-Kapseln befand sich das α-Tocopherylacetat gebunden auf einem Silica-Träger, verkapselt in Stearin- und Palmitinsäure oder gelöst in pflanzlichem Öl. Es konnte in allen Fällen ein signifikanter Anstieg der α-Tocopherol-Konzentration im Plasma bei allen Darreichungsformen festgestellt werden, der jedoch bei der Mikroverkapselung im Silica-Träger signifikant niedriger im Vergleich zu der Verkapselung in FA bzw. Lösung in Öl ausfiel.

BONTEMPO et al. (2000) ergänzten für jede von acht „Holstein-Friesian"-Färsen das Futter, welches aus Heu, MS, Sojaschrot und gemahlenem Mais bestand, einmalig mit 5000 IE α-Tocopherol. Verkapselt in Cellulose lag das α-Tocopherol in einem Fall gelöst in pflanzlichem Öl, in einem weiteren Fall eingeschlossen in Liposomen und im letzten Fall in Cyclodextrinen eingeschlossen vor. Im Plasma der Tiere konnte im Vergleich zu den Kontroll-Tieren (1.8 bis 2.2 mg/l) bei allen Färsen dieses Fütterungsversuches, die die α-Tocopherol-Zulage erhielten, mit 2.2 bis 5.1 mg/l ein starker Anstieg der α-Tocopherol-Konzentrationen festgestellt werden. Die unterschiedliche Art der Verkapselung bewirkte innerhalb des Beobachtungszeitraumes von zwei Wochen keine verschiedene Entwicklung der α-Tocopherol-Konzentrationen im Blutplasma. Diese Ergebnisse liegen trotz des vollständig unterschiedlichen Versuchsdesigns im gleichen Größenbereich wie die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen.

Im Vergleich zu den Ergebnissen von ARNOLD et al. (1993a), GARBER et al. (1996) sowie TIMM (2000) zeigen die Ergebnisse des Fütterungsversuches II (Jungbullen) deutlich niedrigere α-Tocopherol-Gehalte im Fettgewebe, wobei ARNOLD et al. (1993a) subkutanes Fettgewebe untersuchten. Dessen α-Tocopherol-Konzentration ist nicht unbedingt mit dem Gehalt an α-Tocopherol im Nierenfett vergleichbar. Sowohl bei TIMM (2000) als auch bei den eigenen Untersuchungen fällt eine Korre-

lation der α-Tocopherol-Gehalte im Muskelgewebe und im Nierenfett auf. Die im Vergleich niedrigeren Konzentrationen an α-Tocopherol (Fütterungsversuch II) lassen auf eine verminderte Absorption des α-Tocopherols schließen.

Weitere Untersuchungen bezüglich der Verfügbarkeit der Vitamin E-Supplemente im Futter werden in Kapitel 7.2 diskutiert.

6.5.2 β-Carotin- und Retinol-Gehalte

Carotinoide sind als antioxidativ wirkende Futtersupplemente wenig bekannt (MORRISSEY et al., 1998). Fütterungsversuche mit definierten Mengen an β-Carotin als Futtersupplemente bei Rindern sind in der Literatur nicht beschrieben.

Aus dem Futter stammendes β-Carotin wird analog zum α-Tocopherol absorbiert und im Muskel-, Leber- sowie im Fettgewebe eingelagert. Zunächst steigt der Gehalt an β-Carotin in den Chylomikronen und den VLDL. TRABER et al. (1994) untersuchten den Plasma-Carotin-Spiegel von zehn erwachsenen Menschen, die jeweils 60 mg β-Carotin in Gelatinekapseln ohne zusätzliches Fett erhielten. Die Gehalte an β-Carotin stiegen innerhalb von 27 Stunden im Plasma von 0.01 µmol/l (5.4 µg/l) auf 0.16 µmol/l (85.9 µg/l) an und blieben bis zu 72 Stunden nach der Aufnahme des β-Carotins konstant. In diesem Zusammenhang wiesen VOGEL et al. (1996) darauf hin, dass nach einer Lagerungsdauer von sechs Monaten bei -80 °C keine Unterschiede in den Gehalten an β-Carotin und α-Tocopherol im Plasma festgestellt werden konnten, so dass lagerungsbedingte Analytverluste in den Plasmaproben der beiden Fütterungsversuche auszuschließen waren.

Der natürliche Gehalt an β-Carotin ist am höchsten bei Weidegras, gefolgt von der GS. Am niedrigsten ist die Konzentration in der MS (HAMPEL, 1995; EIKELENBOOM et al., 2000). Die Konzentrationen von β-Carotin im Rauhfutter korrelieren gut mit den Gehalten an β-Carotin im Plasma, in der Leber und im Muskelgewebe der MS-, GS- bzw. Weidetiere, ohne Berücksichtigung der Ergebnisse für die Tiere, deren Futter mit β-Carotin angereichert worden war. Die Konzentration an β-Carotin in den Muskeln war folglich bei den MS-Tieren (mit Ausnahme der MS C-Tiere) am niedrigsten, wobei in vielen Fällen die Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze der verwendeten Methode lag. Etwas höher lagen die Konzentrationen an β-Carotin im Muskelgewebe der GS-Tiere (0.06 bis 0.13 mg/kg) und der Weidetiere (0.27 mg/kg). Im Plasma, welches auch für das β-Carotin als Transportmedium dient, sind die Unterschiede zwischen MS- (0.23 bis 0.57 mg/l), GS- (2.01 bis 2.57 mg/l) und Weide-Tieren (4.09 mg/l) noch deutlicher, wobei die Konzentration im Plasma der MS C-Tiere 3.17 mg/l betrug. Bei einer Konzentration von etwa 3 bis 4 mg/l tritt offensichtlich eine Sättigung an β-Carotin im Plasma ein. Am deutlichsten sind die Unterschiede in der Leber, die als Speicherorgan für das β-Carotin dient. Die Konzentrationen betragen 0.65 bis 0.94 mg/kg (MS-Tiere), 4.86 bis 6.36 mg/kg (GS-Tiere) bzw. 14.52 mg/kg (Weidetiere).

Aufgrund der bereits höheren Versorgung mit β-Carotin können bei den GS-Tieren keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Fütterungsgruppen festgestellt

werden. Auch eine tägliche Supplementierung des Futters mit 700 mg β-Carotin/Tier und Tag führt nicht zu einem signifikant höheren Gehalt an β-Carotin im Vergleich zu den Proben der GS-Jungbullen, deren Futterrationen nicht mit β-Carotin supplementiert wurden. Umso deutlicher wirkt sich bei den MS-Tieren eine β-Carotin-Anreicherung des Futters aus, wobei die Unterschiede aufgrund der großen Schwankungsbreite der Einzelwerte nicht immer signifikant ausfallen.

JUKOLA et al. (1996) verglichen die Gehalte an β-Carotin im Serum von Kühen (unbekannte Rasse). Die Hälfte dieser Tiere war laktierend. Als Rauhfutter stand den Kühen Silage (wahrscheinlich GS, nicht näher angegeben), Heu oder frisches Weidegras zur Verfügung. Weitere das Futter betreffende Angaben fehlen. Die Konzentrationen im Serum aller Kühe unterschieden sich nicht signifikant. Bei den Weidetieren wurde mit β-Carotin-Konzentrationen zwischen 13.3 und 15.4 mg/l vergleichbare Konzentrationen wie im Plasma der Weidetiere aus Fütterungsversuch I bestimmt. Die entsprechenden Konzentrationen bei den Silage-Kühen unterschieden sich nicht signifikant von denen der Weidetiere. Sie betrugen 11.8 bis 13.7 mg/l, während die Kühe, die Heu erhielten, einen Serum-β-Carotin-Spiegel von 2.5 bis 3.2 mg/l aufwiesen, der im Größenbereich der GS-Jungbullen lag.

Einen Fütterungsversuch mit Puten unternahmen KING et al. (1995). Sie ernährten die Tiere zunächst vier Wochen mit einer Basis-Diät, um vergleichbare Ausgangsbedingungen zu erzielen. Anschließend erhielt ein Teil der Tiere für drei Wochen eine mit β-Carotin supplementierte Diät (25 mg β-Carotin/kg Futter). Im Blutplasma konnte nach Beendigung des Fütterungsversuches ein hoch signifikanter ($p < 0.01$) Anstieg des β-Carotin-Gehaltes festgestellt werden, der sich auch in der Leber widerspiegelte (unsupplementierte Diät: 0.11 mg/kg; supplementierte Diät: 0.70 mg/kg). Im Muskelfleisch konnte jedoch kein Effekt der Futtersupplementierung mit β-Carotin gezeigt werden. Vergleichbar mit dem α-Tocopherol ist die zelluläre Wirkung des β-Carotins im Muskelgewebe nicht geklärt. Die Lagerung überschüssigen β-Carotins findet hauptsächlich in der Leber und im intermuskulären Fettgewebe sowie im Auflagenfett statt, wobei nach drei Wochen der Futterergänzung eine Gleichgewichtseinstellung innerhalb des Körpers als unwahrscheinlich anzusehen ist. Zwar konnte im Rahmen des Fütterungsversuches von KING et al. (1995), bei dem das Futter einer Gruppe statt mit β-Carotin mit α-Tocopherol (150 mg/kg Futter) supplementiert wurde, bereits ein signifikanter Anstieg der α-Tocopherol-Konzentration im Muskelgewebe gezeigt werden. Dieser Anstieg kann jedoch möglicherweise auch unabhängig von einer Gleichgewichtseinstellung des β-Carotins erfolgen und schneller eintreten.

Eine Supplementierung des Futters mit sehr hohen Mengen β-Carotin (6 g/kg bzw. 30 g/kg Futter) nahmen NAKAGAWA et al. (1996) an Mäusen vor. Je mehr β-Carotin in den roten Blutkörperchen enthalten war, desto weniger Fettsäurehydroperoxide wurden in den PE und PC gemessen, wobei gleichzeitig insgesamt ein leicht prooxidativer Effekt in der Leber und in der Lunge mit steigendem β-Carotin-Gehalt beobachtet wurde, der jedoch nicht signifikant war. Die Konzentrationen an β-Carotin waren im Plasma und in der Leber der Mäuse, die die mit β-Carotin angereicherte

Diät erhielten, stets signifikant höher als bei den Kontroll-Tieren. Im Plasma betrugen die Konzentrationen 4 nmol/l (= 2.1 µg/l, Kontrolle), 38 nmol/l (= 20.4 µg/l, 6 g β-Carotin/kg Futter) bzw. 99 nmol/l (= 53.1 µg/l, 30 g β-Carotin/kg Futter). In der Leber stiegen die Konzentrationen an β-Carotin von < 53.7 µg/kg (Kontrolle) über 0.75 mg/kg (6 g β-Carotin/kg Futter) auf 3.00 mg/kg (30 g β-Carotin/kg Futter). Bei ihren Untersuchungen stellten NAKAGAWA et al. (1996) eine unterschiedliche Verteilung der verschiedenen β-Carotin-Isomere fest, wobei die Ursachen schwierig zu ermitteln sind. Möglich ist, dass die Isomerisierung in den roten Blutkörperchen oder aber während der Aufarbeitung zu den Untersuchungen stattfand (siehe oben). Mit zunehmender Konzentration des β-Carotins sank der Anteil des α-Tocopherols (außer bei der Leber der Mäuse, die mit 6 g/kg supplementiertes Futter bekamen). Dies kann durch den beobachteten prooxidativen Effekt des β-Carotins verursacht worden sein, der zu einer Oxidation des α-Tocopherols führte.

Das Plasma der Weidetiere (Fütterungsversuch I) enthält mit 0.53 mg/l im Vergleich zu den der GS-Jungbullen (0.77 bis 0.84 mg/l) deutlich geringere Mengen Retinol, obwohl der Gehalt an β-Carotin im Plasma der Färsen (4.1 mg/l) gegenüber dem β-Carotin-Gehalt im Plasma der Jungbullen (2.0 bis 2.6 mg/l) verhältnismäßig erhöht ist. Eine Korrelation zwischen den Gehalten an Retinol und seinem Edukt β-Carotin kann nicht festgestellt werden. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Plasma-Retinol-Gehalten der MS-Tiere und der GS-Tiere besteht nicht. Gleichwohl kann bei den MS C-Jungbullen ein signifikant höherer Retinolgehalt im Vergleich zu den anderen MS-Jungbullen festgestellt werden, der bei den GS C-Tieren verglichen mit den übrigen GS-Tieren nicht bestand.

Bei einer Supplementierung von 30 g β-Carotin/kg Futter beobachteten NAKAGAWA et al. (1996) einen signifikanten Anstieg des Retinol-Gehaltes im Plasma der Mäuse.

Insgesamt führen die Ergebnisse der Futtersupplementierung mit β-Carotin nicht zu einer bedeutenden Veränderung der Retinolgehalte im Plasma. Mit einer Konzentration von 0.8 mg/l scheint eine Sättigung des Plasmas mit Retinol vorzuliegen, über die hinaus eine weitere Anreicherung nicht stattfindet. Geschlechtsspezifische Unterschiede treten nicht in Erscheinung.

6.5.3 Fettsäurespektren

Auffallend sind bei nahezu allen Untersuchungen die starken Schwankungen der Einzelwerte um den Mittelwert, die zu einer entsprechend großen Standardabweichung führten. Nur in wenigen Fällen konnten statistisch signifikante Unterschiede festgestellt werden, die auf die Futtersupplementierung zurückzuführen waren. In den meisten Fällen beruhen die Unterschiede auf verschiedenen Rauhfutterarten.

MLD-Fraktion der Neutrallipide

Unterschiede in den Fettsäurespektren der Mischfraktion aus CE und TG vom MLD (nur die Fütterungsgruppen MS K und MS T wurden verglichen) zwischen den Färsen und Jungbullen sind nicht erkennbar. Bei vereinzelten FA treten tendenziell Diffe-

renzen auf, die auf natürliche Schwankungen und den relativ kleinen Stichprobenumfang (Färsen: n = 5 - 6; Jungbullen: n = 4) zurückzuführen sind. Die analysierte Mischfraktion stellt die Neutrallipide dar, wobei der Anteil der CE vernachlässigbar gering ist. LARICK et al. (1989) trennten das aus MLD extrahierte Gesamtfett in neutrale und polare Lipide. Die Fleischproben stammten vom Bison bzw. von „Hereford"- oder „Brahman"-Ochsen, die etwa das gleiche Alter (18 Monate) aufwiesen und mit dem gleichen Futter ernährt wurden, wobei unterschiedliche genetische Einflüsse und Schlachtkörperzusammensetzungen Berücksichtigung fanden. Die Neutrallipide bestanden bei LARICK et al. (1989) zu 40.6 - 44.4 % aus Ölsäure, zu 30.1 - 35.8 % aus Palmitinsäure, zu 12.3 - 17.0 % aus Stearinsäure und zu jeweils 0.5 bis 4.8 % aus den übrigen FA. Insgesamt bestanden die Neutrallipide folglich aus 48 - 53 % SFA, 47 - 52 % MUFA und 1 - 2 % PUFA. Diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit den Ergebnissen der CE + TG-Mischfraktion des MLD überein, die unabhängig vom Geschlecht und einer Supplementierung des Futters zu 40.7 - 50.8 % aus Ölsäure, zu 22.0 - 27.8 % aus Palmitinsäure und zu 14.3 - 20.1 % aus Stearinsäure bestand, was in 41.6 -50.6 % SFA, 45.6 - 55.3 % MUFA und 2.5 - 4.0 % PUFA resultierte. Tendenziell sind die Gehalte der MUFA und PUFA bei den Fütterungsversuchen I und II auf Kosten der SFA gegenüber den alten Werten von LARICK et al. (1989) erhöht. Gründe hierfür sind in den veränderten Fütterungsstrategien und möglicherweise in den genetischen Unterschieden zu finden.

Inwieweit die genetische Variabilität zwischen den Rinderrassen zu Unterschieden in der Fettsäurezusammensetzung führt, wurde von ZEMBAYASHI und NISHIMURA (1996) untersucht. Von Ochsen der Rassen „Japanese Black" und „Holstein-Friesian", die mit Kraftfutter (Mais, Gerste und Weizen) sowie Reisstroh gefüttert wurden, entnahmen sie nach der Schlachtung (480 - 630 kg) Muskelproben und Proben von subkutanem Fettgewebe, deren Fettsäurezusammensetzung sie anschließend bestimmten. Die Neutrallipide des intramuskulären Fettgewebes bestanden durchschnittlich zu 50.1 % aus Ölsäure, gefolgt (in absteigender Reihenfolge ihrer Anteile) von Palmitinsäure (23.9 %), Stearinsäure (10.1 %) und Palmitoleinsäure (4.3 %). Die übrigen Minorfettsäuren trugen zwischen 0.8 und 2.6 % zu den gesamten Fettsäuren der Neutrallipide bei. Diese Anteile weichen zum Teil deutlich von den eigenen Ergebnissen ab. Sehr niedrig ist vergleichsweise der Anteile der Stearinsäure (SFA), während die Anteile der Öl- und Palmitoleinsäure (MUFA) im Vergleich zu den Ergebnissen des Fütterungsversuches II deutlich erhöht sind. Obgleich zwischen den beiden untersuchten Rinderrassen („Japanese Black" und „Holstein-Friesian") kein Unterschied in der Zusammensetzung der Fettsäuremuster festgestellt wurde, beeinflussen Faktoren wie Stress und Stallbedingungen die Zusammensetzung der Fettfraktion (ZEMBAYASHI und NISHIMURA, 1996).

ITOH et al. (1999) mästeten „Angus"- und „Fleckvieh"-Ochsen zunächst auf der Weide und später für dreizehn Monate mit Mais und GS. Unter Berücksichtigung der verschiedenen Gehalte an intramuskulärem Fett, bestanden die TG im MLD dieser Ochsen zu 41 - 43 % aus Ölsäure, zu 27 - 30 % aus Palmitinsäure, zu 14.5 % aus Stearinsäure und zu jeweils 3 - 4 % aus Palmitolein- sowie Myristinsäure. Der hieraus

resultierende Anteil an MUFA ist mit 45 - 48 % etwas niedriger als der Schwankungsbereich bei den eigenen Fütterungsversuchen, wobei die Jungbullen generell etwas geringere MUFA-Anteile aufwiesen als die Färsen. Dafür sind deren SFA-Anteile (41.6 - 46.5 %) geringer als die der Jungbullen (47.2 - 50.6 %), wobei diese Unterschiede auf verschiedene Anteile Öl- bzw. Stearinsäure zurückzuführen sind. Der SFA-Anteil bei den von ITOH et al. (1999) untersuchten Rindern (46 - 50 %) liegt in einer vergleichbaren Größenordnung wie der bei den Jungbullen. Auffallend niedrig sind auch hier die PUFA-Anteile (1 - 3 %), die im wesentlichen von der Linol- und der Linolensäure stammten. Abgesehen von den etwas höheren PUFA-Anteilen sowohl im Fütterungsversuch I als auch im Fütterungsversuch II tragen auch hier hauptsächlich die Linol- und die α-Linolensäure zu den PUFA bei. ITOH et al. (1999) stellten mit steigendem Gehalt an intramuskulärem Fett eine Verringerung von Linol- und α-Linolensäure fest. Hierin wird auch der Grund für die Unterschiede zu den eigenen Ergebnissen (Fütterungsversuch II) zu finden sein. Ochsen neigen vermehrt zur Einlagerung von Fett im Vergleich zu Bullen, was eine Erklärung für die Abweichungen zu den oben diskutierten Werten von ZEMBAYASHI und NISHIMURA (1996) darstellen könnte.

Die Fettsäurezusammensetzung in verschiedenen Muskelpartien von Rindfleisch unbekannter Rassen ergab einen durchschnittlichen Anteil von 50.9 % SFA (hauptsächlich Palmitin- und Stearinsäure), 43.7 % MUFA (größtenteils Ölsäure) und 4.9 % PUFA, wobei sich diese Angaben auf das Gesamtfett (neutrale und polare Lipide) beziehen (DE VIZCARRONDO et al., 1998). Zwischen den verschiedenen Muskeltypen wurden kaum Unterschiede in der Zusammensetzung der Fettsäurespektren festgestellt.

Ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen der drei Fütterungsversuche von TIMM (2000) erscheint vielversprechend, da die Fütterung ähnlich war und Tiere der selben Rasse verwendet wurden. Allerdings untersuchte TIMM (2000) von Muskel- und Lebergewebe lediglich das Gesamtfett und die PL-Fraktion, von Plasma wurden wie bei den eigenen Fütterungsversuchen die Fettsäurespektren der CE, TG und PL bestimmt und vom Nierenfett das Fettsäurespektrum des Gesamtfettes. Die Vergleichbarkeit mit den eigenen Ergebnissen ist für die Fettsäurespektren des Muskel- und Lebergewebes nur eingeschränkt möglich.

Bei allen drei von TIMM (2000) beschriebenen Fütterungsversuchen erwies sich im Gesamtfett der untersuchten Muskelpartien (MST und MLD) wie bei den CE + TG des MLD der eigenen Fütterungsversuche die Ölsäure als mengenmäßig dominierende FA, wobei diese einen Anteil von 33 bis 41 % des Gesamtfettes im Vergleich zu 41 bis 51 % bei den Neutrallipiden der eigenen Fütterungsversuche ausmachte. Die Gehalte an Palmitinsäure (23 - 28 %) und Stearinsäure (13 - 19 %) in den von TIMM (2000) untersuchten Muskelproben sind dagegen wieder mit denen der eigenen Proben des MLD vergleichbar. Bedingt durch die nicht abgetrennten PL konnte TIMM (2000) 15 - 19 % PUFA im Gesamtfett der Muskel nachweisen. Auffallende Unterschiede zwischen den Fettsäurepektren des Muskel-Gesamtfettes in Abhängigkeit der Dosierung und der Dauer der Futteranreicherung mit α-Tocopherol wurden von TIMM (2000) nicht beobachtet. Die Ergebnisse der Langzeitfütterung ergaben einen

leichten Anstieg der MUFA- (ca. 5 %) bei einem entsprechenden Rückgang der PUFA-Anteile. Da bei beiden Fütterungsversuchen Tiere der gleichen Rasse („Deutsches Fleckvieh“) eingesetzt wurden und auch die übrigen Parameter (Rauhfutter, Schlachtgewicht etc.) vergleichbar waren, vermutete TIMM (2000), dass die Unterschiede eventuell lagerungsbedingt seien und/oder auf veränderte analytische Parameter zurückzuführen wären. Ein langzeitfütterungsbedingter Einfluss der Futterergänzung mit α-Tocopherol scheint ebenfalls als Ursache dieser Unterschiede in Frage zu kommen, gilt jedoch in Anbetracht der eigenen Ergebnisse und der von TIMM (2000) diskutierten Gründe eher als unwahrscheinlich. In einem Fütterungsversuch mit Ochsen (MS, MS + Weide, Weide) beobachtete TIMM (2000) sinkende Anteile an Palmitin- und Ölsäure mit steigendem Anteil an frischem Weidegras im Futter. Bei den Weidetier-Färsen des Fütterungsversuches I wurde ebenfalls ein deutlicher Rückgang des Gehaltes an Palmitinsäure in der CE + TG-Fraktion des MLD im Vergleich zu den Kontroll- und MS T-Tieren festgestellt. Ein derart deutlicher Rückgang der Anteile an Ölsäure wie bei TIMM (2000) konnte im gleichen Fütterungsversuch allerdings nicht bestätigt werden. Gleichwohl konnte bei den eigenen Untersuchungen bei den Weidetieren wie bei den Ergebnissen von TIMM (2000) eine Zunahme des Anteils der Stearin-, Linol- und α-Linolensäure gezeigt werden, wobei die Summenparameter (SFA, MUFA und PUFA) aufgrund der Untersuchung verschiedener Fettfraktionen (Gesamtlipide $\leftrightarrow$ Neutrallipide) miteinander nicht vergleichbar sind. TIMM (2000) fand folglich höhere Anteile an PUFA, da die PUFA-reichen PL bei der Untersuchung des Gesamtfettes nicht abgetrennt wurden. Die Ergebnisse des Fütterungsversuches I zeigen ebenfalls einen deutlichen Anstieg der PUFA-Gehalte, insbesondere der n-3-PUFA. Es ist bekannt, dass die n-3-PUFA in höheren Anteilen in Weidegras enthalten sind (VEGA et al., 1996). Die von TIMM (2000) aufgezeigte Abnahme des Anteils der MUFA bei den Weidetier-Ochsen konnte in der CE + TG-Fraktion der Weidetier-Färsen nicht bestätigt werden.

MUFA-Anteile von bis zu 68.3 % bei einem PUFA-Anteil von weniger als 2.0 % konnten BOYLSTON et al. (1995) in den Neutrallipiden des MLD von „Japanese Wagyu“-Rindern zeigen. Der hohe Anteil an MUFA wurde bedingt durch hohe Ölsäuregehalte (fast 60 %) und Palmitoleinsäuregehalte (5.3 %). Entsprechend niedriger waren die Palmitin- und Stearinsäuregehalte (23.3 bzw. 7.0 %), was zu einem SFA-Anteil von insgesamt weniger als 32 % der gesamten FA führte. Am niedrigsten fiel bei den Vergleichsuntersuchungen („Japanese Wagyu“, „American Wagyu“, „Longhorn“, „Angus“ und „US Choice“) von BOYLSTON et al. (1995) der MUFA-Anteil bei den „Angus“-Rindern aus (56.4 %). Bei dieser Rinderrasse bestanden die Neutrallipide des MLD zu 42.5 % aus SFA bei einem erneut sehr niedrigen Anteil an PUFA. Abgesehen von dem geringen PUFA-Gehalt stimmen diese Werte gut mit den prozentualen Verteilungen der Fettklassen innerhalb der CE + TG-Fraktion der Färsen überein. Zu berücksichtigen ist bei den von BOYLSTON et al. (1995) aufgeführten Werten, dass das Muskelgewebe in gegartem Zustand untersucht wurde. Hierbei können aufgrund der Oxidationsempfindlichkeit der PUFA Verluste eintreten. Fleisch von „Japanese Wagyu“-Rindern unterscheidet sich in seiner äuße-

ren Erscheinungsform dahingehend von bekanntem Rindfleisch, dass in sehr hohem Ausmaße Fett eingelagert wird, was in Form einer stark ausgeprägten Marmorierung sichtbar wird. Auch weitere sensorische Eigenschaften (Geschmack und Zartheit) dieses Fleisches sind folglich ungewohnt im Vergleich zu dem in Europa erhältlichen Rindfleisch (XIE et al. 1996). Das Futter aller von BOYLSTON et al. (1995) untersuchten Rinder bestand aus Gerste, Mais, Alfalfa und Weizenstroh. Die Fütterung erfolgte über 524 Tage. Der sehr hohe Ölsäureanteil kann durch eine erhöhte Δ9-Desaturase-Aktivität bedingt sein, die mit dem Alter der Tiere ansteigt und möglicherweise in den Rinderrassen unterschiedlich ist. ST. JOHN et al. (1991) stellten bei ihren Untersuchungen allerdings keine Unterschiede in den Aktivitäten der Elongasen und Desaturasen in den Mikrosomen des Fett- bzw. Lebergewebes zwischen „Angus"- und „Bradford"-Färsen fest. Ein Ansteigen des Anteils an MUFA kann auch durch eine erhöhte Aufnahme von Fett (aus dem Futter) hervorgerufen worden sein, wobei diese dann spezifisch für die verschiedenen Rinderrassen verschieden sein muss. Eine unterschiedliche Mikroorganismen-Flora im Pansen kann ebenfalls die Ursache für die Erhöhung des MUFA-Anteils nach Fütterung mit Kraftfutter sein. Letzteres bewirkt ein Absinken des Pansen-pH-Wertes, der eine Verringerung der mikrobiellen Hydrierung von MUFA und PUFA verursacht. Auf diese Weise gelangen mehr ungesättigte FA in den Dünndarm, wo die Absorption der FA stattfindet. Bei einem Vergleich der Fettsäuremuster ist also der Fettgehalt der verschiedenen Proben zu berücksichtigen.

In einer älteren Studie von HECKER et al. (1975) wurden „Hereford"-, „Holstein-Friesian"- und „Angus"-Ochsen sowie -Färsen untersucht. Mit steigendem Gewicht der Tiere wurde eine gleichzeitige Zunahme des Fettgehaltes beobachtet. Außerdem veränderte sich die Zusammensetzung der Fette sowohl im Muskel- als auch im Unterhautfettgewebe dahingehend, dass mit zunehmendem Alter der Anteil der MUFA auf Kosten der SFA zunahm (WOOD und ENSER, 1997). Ein Grund hierfür ist die Δ9-Desaturase-Aktivität der Mikrosomen im Fettgewebe (ST. JOHN et al., 1999). Das Gesamtfett des Muskels (*musculus biceps femoris*) bestand bei HECKER et al. (1975) zu nahezu 50 % aus Ölsäure und zu knapp 27 % aus Palmitinsäure. Palmitolein-, Stearin-, Linol- und Myristinsäure trugen mit 9.3 %, 7.7 %, 3.8 % bzw. 2.2 % zum Gesamtfett bei. Während die beiden Major-FA und die Myristinsäure in vergleichbaren Größenordnungen wie die entsprechenden FA bei den beiden eigenen Fütterungsversuchen liegen, weichen die publizierten Anteile der Palmitolein- und Stearinsäure um den Faktor zwei bis drei im Vergleich zu den selbst ermittelten Anteilen nach oben bzw. nach unten ab. Die Unterschiede sind einerseits auf die Untersuchung von Gesamtfett bzw. Neutrallipiden zurückzuführen, andererseits ist es auch wahrscheinlich, dass sich innerhalb des letzten Viertel-Jahrhunderts die Fütterung geändert hat (TIMM, 2000).

Die bei den Fütterungsversuchen I und II beobachteten Unterschiede beruhen zum Einen auf einer unterschiedlichen Fettsäurezusammensetzung des Rauhfutters (GS, MS, Weide) zum Anderen ist eine Veränderung der Pansen-Mikroorganismen-Flora vorstellbar, die wie bereits von BOYLSTON et al. (1995) berichtet die Biohydrierung

der FA beeinflusst. Versuche, die Fettsäureverteilung in den Lipiden von Rindern direkt durch Fütterung von Fetten zu beeinflussen, sind aus oben beschriebenen Gründen bei Wiederkäuern nicht so einfach durchzuführen wie bei Monogastriden.

Um den Anteil der n-3-PUFA zu erhöhen und das Verhältnis n-6-PUFA zu n-3-PUFA den ernährungsphysiologischen Empfehlungen anzupassen, schlossen MANDELL et al. (1997) die Mast ihrer Versuchstiere („Charolais"-Ochsen) ab, indem sie das Grundfutter (Mais, Alfalfa-Silage) mit Fischmehl (Hering) anreicherten. Im Gesamtfett des MLD führte die Supplementierung der Futterrationen zu einer Erhöhung der Anteile von Palmitinsäure (27.5 - 28.9 %) und der n-3-PUFA, wobei der PUFA-Anteil insgesamt (knapp 5 %) konstant blieb. Die Anteile der Stearinsäure (11.9 - 13.6 %) und Arachidonsäure (0.3 - 0.7 %) gingen bei einer Anreicherung des Futters mit Fischmehl leicht zurück. Nahezu konstant verhielten sich die Anteile der Ölsäure (43.8 - 44.4 %) sowie die Anteile der Linol-, Palmitolein- und Myristinsäure, die jeweils zwischen 3 und 4 % zu den Gesamtfettsäuren beitrugen. Der Anteil der SFA (ca. 45 %) befindet sich in einer vergleichbaren Größenordnung wie der SFA-Anteil der CE + TG-Mischfraktion bei den eigenen Fütterungsversuchen. Vergleichbar sind auch die Anteile der Ölsäure, die maßgeblich zu den MUFA (ca. 49 %) beiträgt. Der PUFA-Anteil erweist sich gegenüber den eigenen Ergebnissen als leicht erhöht, wobei berücksichtigt werden muss, dass MANDELL et al. (1997) die Gesamtfettfraktion untersuchten, die die PUFA-reichen PL mitenthielt. Im Vergleich zu den Kontroll-Tieren fanden MANDELL et al. (1997) zwar keine erhöhten Anteile an PUFA (siehe oben), jedoch stieg der Anteil der langkettigen n-3-PUFA an. Die Pansen-Mikroorganismen sind nicht in der Lage, diese langkettigen FA in signifikantem Maße zu hydrieren, so dass es zu einer vermehrten Einlagerung der n-3-PUFA in die PL kommt (MORGAN et al., 1992; WOOD und ENSER, 1997). Eine Erhöhung des n-3-PUFA-Anteils auf Kosten der n-6-PUFA lässt sich, wie mit den Ergebnissen der GS- und Weidefütterung gezeigt wurde, auch ohne die kostenintensive Zufütterung von Fischmehl erreichen. Letzteres vermag zudem, das Aroma des verzehrfähigen Fleisches in Richtung „fischig" und „tranig" negativ zu beeinflussen (WOOD und ENSER, 1997).

Bereits 1981 zeigten ALLEN und FOEGEDING, dass es schwierig ist, bei Wiederkäuern die Lipidzusammensetzung durch Fütterung zu beeinflussen. Im Futter enthaltene MUFA und PUFA werden im Pansen in Abhängigkeit der Aktivität der Pansen-Mikroorganismen-Flora in starkem Umfang hydriert (GURR, 1997). Auch nach Veränderung der Fütterungsintensität konnten BLUNK et al. (1992) keine signifikante Beeinflussung der Fettsäuremuster, insbesondere der polaren Lipide feststellen. Aufgrund dieser Ergebnisse entschlossen sich XIE et al. (1996) frühzeitig, durch gezielte Züchtung die Fettzusammensetzung zu beeinflussen.

WOOD und ENSER (1997) bestätigen die Ergebnisse der eigenen Fütterungsversuche in der Weise, dass sie im Gesamtfett von grasenden Wiederkäuern ein sehr gutes n-6-/n-3-PUFA-Verhältnis vorfanden (2.11). Dieses Verhältnis sollte kleiner als vier sein. Die MS-Rinder zeigten ein n-6-/n-3-PUFA-Verhältnis von 3.70 (Färsen) bzw. 4.27 (Jungbullen) und lagen damit knapp über bzw. unter dieser Empfehlung.

Deutlich höhere n-3-PUFA-Gehalte bei den GS- und den Weidetieren führen zu n-6-/n-3-PUFA-Verhältnissen in der CE + TG-Fraktion der Muskellipide von 3.00 bzw. 1.63. Unter Beibehaltung eines möglichst kleinen n-6-/n-3-PUFA-Verhältnisses ist man bemüht, darin das Verhältnis der PUFA zu den SFA zu erhöhen. Dieser Quotient liegt aufgrund der hohen Gehalte an Palmitin- und Stearinsäure zwischen 0.06 und 0.07 (MS-Tiere) bzw. bei knapp 0.08 (GS- und Weidetiere). Angestrebt werden sollte ein Verhältnis PUFA zu SFA von 0.45, wie es beim Schweinefleisch (0.58) bereits erreicht wird. Auch WOOD und ENSER (1997) wiesen darauf hin, dass einer fütterungsbedingten Beeinflussung dieses Verhältnisses die bakterielle Aktivität der Pansen-Mikroorganismen gegenübersteht, die sowohl eine Hydrierung der PUFA zu MUFA als auch von MUFA zu SFA bewirken kann. Eine Beeinflussung der Fettsäurezusammensetzung schließt eine Manipulation der Pansen-Fermentation ein, so dass eine unterschiedliche Fettsäurezusammensetzung des Kraft- und Rauhfutters über eine veränderte Pansen-Mikroorganismen-Flora letztendlich zu veränderten Fettsäurespektren in den verschiedenen Geweben führt. Ochsen, die im Rahmen ihrer Mast GS erhielten, wiesen im Vergleich zu Tieren, die nur mit Gerste und Soja als Kraftfutter gemästet wurden, signifikant höhere Gehalte an α-Linolensäure und anderen n-3-PUFA auf, während die Anteile an Linolsäure und den übrigen n-6-PUFA zurückgingen. Der Grund für den Anstieg ist, dass α-Linolensäure eine der mengenmäßig dominierenden FA in den Membranen der Zellorganellen von Gras darstellt. α-Linolensäure tritt nach der Passage des Pansens und Absorption im Dünndarm in Konkurrenz zur γ-Linolensäure auf, die weiter zu Arachidonsäure dehydriert wird, so dass es zu einer vermehrten Einlagerung der α-Linolensäure auf Kosten der Arachidonsäure kommt. Wegen der schlechten Verdaulichkeit von im Futter enthaltenen Fetten, die auf einer verminderten Verträglichkeit von Fetten durch Pansen-Mikroorganismen beruht, ist eine direkte Fütterung von Fetten in hohen Dosen allenfalls in verkapselter Form oder als Calciumsalze der FA möglich. Bei fütterungsbedingter Erhöhung des Anteils ungesättigter FA wird allerdings eine gleichzeitige Gabe von Vitamin E zum Schutz vor Lipidoxidation empfohlen. Eine verringerte Aktivität der membrangebundenen Phospholipase konnte bei Rindern nach erhöhten Vitamin E-Einlagerungen in den Muskeln nicht festgestellt werden. Bei Schweinen wurde dies jedoch beobachtet (WOOD und ENSER, 1997).

NÜRNBERG et al. (2002) verglichen den Einfluß des Weideganges bzw. der Fütterung mit Kraftfutter auf die Fettsäurezusammensetzung im MLD von „Deutschen Fleckvieh"- und „Holstein-Friesian"-Bullen. Untersucht wurde jedoch nur das Gesamtfett, welches jedoch in Hinblick auf die Fettsäureverteilung und das n-6-/n-3-PUFA-Verhältnis die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen bestätigte.

Den Einfluss von Rapssamen in der Mastrinderfütterung auf das Fettsäuremuster untersuchten FLACHOWSKY et al. (1994) in einem Einzelfütterungsversuch mit 20 Jungbullen („Schwarzbunte"). Diese erhielten über 350 Tage neben dem normalen Kraftfutter (Gersten- und Weizenschrot) und Weizenstroh Rapssamen, deren jeweiliger Anteil in der Futterration 0, 7.1, 14.2 bzw. 21.4 % entsprach. Die Schlachtung erfolgte nach Erreichen eines Gewichtes von etwa 560 kg. Gleichzeitig mit einem

steigenden intramuskulären Fettgehalt stellten FLACHOWSKY et al. (1994) im Gesamtfett des MLD Veränderungen in den Gehalten an Palmitin-, Palmitolein-, Stearin- und Ölsäure fest. Der Rückgang der Palmitin- und Palmitoleinsäure (von 24.2 auf 19.0 % bzw. von 2.6 auf 1.5 %) war mit einer vermehrten Einlagerung von Stearin- und Ölsäure (von 17.8 auf 23.5 % bzw. von 37.4 auf 38.5 %) aus den Rapssamen erklärbar. Die Anteile der Linolsäure und der Arachidonsäure sanken mit steigendem Rapssamenanteil im Futter von 6.2 auf 5.6 % bzw. von 2.3 auf 1.7 %. Im Vergleich zu den Fettsäurespektren der CE + TG-Fraktion des MLD aus den eigenen Fütterungsversuchen sind die Anteile der beiden letztgenannten FA, die bevorzugt in den PL lokalisiert sind, bei den Untersuchungen von FLACHOWSKY et al. (1994) erhöht. Aufgrund starker Schwankungen der Einzelwerte und eines geringen Stichprobenumfanges von fünf Tieren je Fütterungsgruppe erwiesen sich die Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen von FLACHOWSKY et al. (1994) meistens als nicht signifikant.

MLD-Fraktion der PL

Die Fraktion der Muskel-PL unterscheidet sich in ihrer Fettsäurezusammensetzung erwartungsgemäß deutlich von der CE + TG-Fraktion des MLD. PL sind wesentliche Bestandteile der Zell- und Organellmembranen, so dass ihnen wichtige Funktionen zukommen. Entscheidend für die Zellintegrität ist die Fluidität der umgebenden Membranen, die wiederum von der Fettsäurezusammensetzung abhängt. Aufgrund der vielfältigen Funktion von Membranen ist deren Zusammensetzung weniger variabel und weniger einfach beeinflussbar. Neben den SFA und MUFA enthalten die PL beachtliche Anteile an PUFA, wobei Linol- und Arachidonsäure als Vertreter der n-6-PUFA dominieren (ALLEN und FOEGEDING, 1981). Der Anteil der PL am gesamten intramuskulären Fett beträgt zwischen 25 und 48 %, wobei diese Schwankungen von der Fetteinlagerung (Marmorierung) abhängig sind (GURR, 1997).

Anteilig am meisten sind in den PL des MLD Ölsäure (GS-Jungbullen: 25.5 - 28.4 %, MS-Jungbullen: 27.2 - 30.4 %, MS-Färsen: 24.7 - 26.3 % Weide-Färsen: 22.4 %), Linolsäure (GS Jungbullen: 22.9 - 24.9 %, MS-Jungbullen: 22.3 - 26.3 %, MS-Färsen: 20.0 - 20.5 %, Weide-Färsen: 18.6 %) und Palmitinsäure (Jungbullen: 15.5 - 16.6 %, MS-Färsen: 17.9 - 18.7 %, Weide-Färsen: 19.2 %) vertreten. In geringeren Anteilen folgen Stearinsäure (Jungbullen: 11.3 - 12.9 %, MS-Färsen: 14.0 - 14.7 %, Weide-Färsen: 15.8 %) und Arachidonsäure (GS-Jungbullen: 7.1 - 8.9 %, MS-Jungbullen: 6.2 - 7.4 %, MS-Färsen: 10.7 - 11.0 %, Weide-Färsen: 8.9 %). Im Vergleich der beiden eigenen Fütterungsversuche weisen folglich die Färsen tendenziell höhere SFA- und niedrigere MUFA-Anteile als die Jungbullen auf. Auch innerhalb der Fettsäuremuster ergeben sich Unterschiede, wobei vereinfacht die Ergebnisse der GS-Jungbullen mit denen der Weidetier-Färsen verglichen werden. Bei den Jungbullen fällt ein erhöhter Anteil an Linolsäure bei gleichzeitig verringertem Stearinsäure-Gehalt auf. Unterschiedlich sind auch die Gehalte an Eicosatriensäure, die bei den Jungbullen gegenüber den Färsen anteilig nur eine untergeordnete Rolle zu spielen scheinen. Während die GS-Jungbullen und Weidetier-Färsen vergleichbare Arachi-

donsäure-Konzentrationen aufweisen, liegen die der MS-Jungbullen deutlich unter denen der MS-Färsen. Die relativen Anteile der übrigen FA liegen bei den Jungbullen und Färsen in vergleichbaren Größenordnungen. Unerwartet hoch erscheinen die Anteile der Arachidonsäure bei den MS-Färsen im Vergleich zu den MS-Jungbullen. Statt eines höheren Anteils der Arachidonsäure in der PL-Fraktion der MS-Jungbullen liegt sowohl die Öl- als auch die Linolsäure in größeren Anteilen vor.

TIMM (2000) erhielt bei ihren Untersuchungen (verschiedene Dosierung und Dauer der α-Tocopherol-Supplementierung des Futters) zum Teil deutlich abweichende Ergebnisse. Jeweils zwischen 16 und 21 % betrug der Anteil der Linol-, Palmitin-, Öl- und Stearinsäure an den PL der Muskelproben (MLD und MST). Mit Ausnahme der Weidetier-Färsen aus dem Fütterungsversuch I sind bei den eigenen Ergebnissen die Gehalte der Öl- und Linolsäure deutlich höher, während die Anteile der Palmitin- und besonders der Stearinsäure unter den von TIMM (2000) ermittelten Werten lagen. Die Anteile der Arachidonsäure waren dagegen wieder von vergleichbarer Größenordnung. TIMM (2000) stellte jedoch im Vergleich mit den Ergebnissen des Langzeitfütterungsversuches und des Fütterungsversuches mit Ochsen aber auch zu anderen Literaturdaten teilweise sehr stark ausgeprägte Abweichungen ihrer Ergebnisse fest. Die Ergebnisse des Langzeitfütterungsversuches stimmen weitaus besser mit denjenigen der Fütterungsversuche I und II überein. TIMM (2000) fand bei diesem Experiment eine Ölsäure-Konzentration von durchschnittlich 25 % (Fütterungsversuch I: 22.4 bis 26.3 %; Fütterungsversuch II: 25.5 bis 30.4 %), einen Palmitinsäure-Anteil von 18 % (Fütterungsversuch I: 17.9 bis 19.2 %; Fütterungsversuch II: 15.5 bis 16.6 %), einen Gehalt an Linolsäure von 18 % (Fütterungsversuch I: 18.6 bis 20.5 %; Fütterungsversuch II: 22.3 bis 26.3 %), einen Anteil an Arachidonsäure von 9 % (Fütterungsversuch I: 8.9 bis 11.0 %; Fütterungsversuch II: 6.2 bis 8.9 %) und einen Stearinsäureanteil von 14 % (Fütterungsversuch I: 14.0 bis 15.8 %; Fütterungsversuch II: 11.3 bis 12.9 %). Infolge dessen lagen auch die Summenparameter für die SFA, MUFA und PUFA jeweils in vergleichbaren Größenordnungen. Im Gegensatz zu der von ALLEN und FOEGEDING (1981) aufgrund der biologischen Funktion der Zellmembranen postulierten geringen Variabilität der Fettsäurezusammensetzung innerhalb der PL, konnten sowohl von TIMM (2000) als auch bei den eigenen Fütterungsversuchen fütterungsbedingte Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen festgestellt werden. Umso deutlicher erscheint die Tatsache einer Variabilität in der Fettsäurezusammensetzung der PL-Fraktion der Muskellipide bei Betrachtung des dritten Fütterungsversuches von TIMM (2000), bei dem die Ochsen („Deutsches Fleckvieh“) mit MS gemästet, gemischt auf der Weide gehalten und anschließend mit MS gemästet oder vollständig auf der Weide gehalten wurden. TIMM (2000) bestimmte Gehalte an Ölsäure zwischen 21 und 29 %, während die Konzentrationen der Palmitinsäure bei 16 bis 20 %, die der Linolsäure bei etwa 15 %, die der Stearinsäure bei 11 bis 13 % und der Anteil der Arachidonsäure bei 7 bis 8 % lagen. Diese Ergebnisse waren mit leichten Unterschieden sehr gut mit den Ergebnissen des Fütterungsversuches I vergleichbar, wobei bei diesem Fütterungsversuch etwas höhere Anteile sowohl der Stearin- als auch der Arachidon- bzw.

Linolsäure bestimmt wurden. Stets wiesen die Weidetiere signifikant geringere Ölsäure-Anteile im Vergleich zu den MS-Tieren auf. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von TIMM (2000) konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Weidefütterung zu einem Sinken des Anteils der n-6-PUFA (Arachidon- und Linolsäure) und einem Anstieg der SFA-Anteile (Stearin- und Palmitinsäure) führt. Dagegen konnte vergleichbar mit den Resultaten von TIMM (2000) ein deutlicher Anstieg der Anteile an n-3-PUFA (α-Linolen- und Eicosapentaensäure) gezeigt werden, wobei ein eindeutiger Trend bei Docosapentaen- und -hexaensäure nicht vorliegt. Die deutlichen Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung der Muskel-PL führen in Folge zu einem erhöhten Anteil an SFA und einem geringeren MUFA-Anteil. Der PUFA-Anteil bleibt im Gegensatz zu den Ergebnissen von TIMM (2000) beim Fütterungsversuch I konstant, da die Veränderungen in den n-6- und n-3-PUFA nicht zu einem Anstieg der PUFA insgesamt führen. TIMM (2000) schloss aus den Ergebnissen des Fütterungsversuches mit Ochsen, dass das Geschlecht der Tiere einen Einfluss auf die Fettsäurezusammensetzung besitzt. Da jedoch die Auswertung des Fütterungsversuches mit Färsen zu ähnlichen Ergebnissen führt wie der Fütterungsversuch mit Ochsen, scheint dieser Rückschluss fraglich. Wahrscheinlicher ist ein Einfluss des Fettgehaltes, da sowohl Ochsen als auch weibliche Rinder im Gegensatz zu Bullen zu einer vermehrten Fetteinlagerung neigen.

Die Zusammensetzung der FA in den PL von Bullen, Färsen und Ochsen der Rasse „Deutsches Fleckvieh“, die mit MS und Kraftfutter gemästet wurden, zeigten bei BLUNK et al. (1992) jeweils gleiche Anteile SFA, MUFA und PUFA, wobei im Gegensatz zu TIMM (2000), aber vergleichbar mit den Ergebnissen der beiden eigenen Fütterungsversuche, die Ölsäure mit einem Gehalt von bis zu 29 % mengenmäßig die anderen FA in ihrem Anteil überragte. Im Vergleich zu den Ergebnissen von BLUNK et al. (1992) erweisen sich die Anteile an SFA und MUFA bei den eigenen Ergebnissen als niedriger, während der Anteil der PUFA höher ist. Die Anteile der Palmitin- und Ölsäure sind im Vergleich zu den Ergebnissen von BLUNK et al. (1992) (19 % bzw. 13 %) geringfügig niedriger, dabei sinkt der Anteil der Linolsäure sogar um fast 10 %-Punkte auf etwa 15 %. Etwas ausgeglichen wird dieser Rückgang des Linolsäuregehaltes durch die um 3 - 7 %-Punkte höher liegenden Arachidonsäureanteile. Ähnlich wie bei TIMM (2000) trugen die übrigen FA bei den eigenen Untersuchungsergebnissen sowie bei den Ergebnissen von BLUNK et al. (1992) nur zu jeweils maximal 3 % zu den gesamten FA der Muskel-PL bei. Arachidon- und Linolsäure stehen zueinander im engen Verhältnis, da aus Linolsäure durch Einwirken von Desaturasen und Elongasen Arachidonsäure gebildet werden kann. Somit ist eine möglich Ursache für diese Unterschiede gefunden, wobei BLUNK et al. (1992) Tiere der gleichen Rasse untersuchten. Ein rassenspezifischer Unterschied in der Enzymaktivität kann ausgeschlossen werden. Auch das Alter der Tiere kann nicht verantwortlich für diesen Effekt sein, da diese stets bei etwa gleichem Alter geschlachtet wurden.

Ebenfalls „Deutsche Fleckvieh“-Ochsen (gefüttert mit Mais und GS) wurden von ITOH et al. (1999) untersucht. Deren Ergebnisse entsprechen tendenziell denen der

eigenen Fütterungsversuche. Fast ein Drittel der FA in den polaren Lipiden machte die Ölsäure aus, deren Anteil verglichen mit den eigenen Ergebnissen geringfügig höher war. Leichte Unterschiede ergaben sich auch in den Gehalten an Stearinsäure (bei den Jungbullen niedriger) und Palmitinsäure (bei sämtlichen Tieren der Fütterungsversuche I und II höher). Besonders auffallend waren jedoch erneut die geringeren Gehalte an Linol- und Arachidonsäure (mit einem Anteil von ca. 12 % bzw. 5 %) sowie die größeren Anteile an Eicosa- und Docosapentaensäure. Die Unterschiede in den Fettsäurespektren, die sich auch auf die Anteile der SFA (28 %), MUFA (37 %) bzw. PUFA (25 %) auswirkten, waren in den erhöhten intramuskulären Fettgehalten der Ochsen begründet. Auch schien die Art der Fütterung bei den Untersuchungen von ITOH et al. (1999) einen Einfluss auf die Fettsäureverteilung innerhalb der PUFA zu haben.

Einen deutlich höheren Anteil SFA (knapp 41 %) stellten ZEMBAYASHI und NISHIMURA (1996) in der polaren Lipidfraktion der Muskeln von Ochsen („Japanese Black“ und „Holstein-Friesian“) fest. Der Anteil der MUFA lag mit knapp 26 % deutlich unterhalb des Gehaltes an PUFA (knapp 34 %). Im Gegensatz zu ALLEN und FOEGEDING (1981) ist die Variabilität in der Fettsäurezusammensetzung innerhalb der PL durchaus groß, wobei die Fettsäurezusammensetzung in den Muskel-PL sowohl abhängig von der Rasse als auch von der Zusammensetzung des Futters ist. Ungewöhnlich erscheint bei den Ergebnissen von ZEMBAYASHI und NISHIMURA (1996) das Verhältnis der MUFA zu den SFA, welches mit steigendem Fettgehalt größer wird. Außerdem stellten sie einen mit fast 10 % außergewöhnlich hohen Anteil an Eicosatriensäure fest, der bei keiner vergleichbaren Untersuchung auftrat.

Auch BOYLSTON et al. (1995) untersuchten neben den Neutrallipiden die polaren Lipide in Muskelproben von fünf verschiedenen Rinderrassen. Dabei stellten sie weitaus geringere rassenspezifische Unterschiede in der Zusammensetzung der Fettsäurespektren fest als bei den Neutrallipiden der entsprechenden Muskelpartien. Die Gehalte an Ölsäure schwankten bei den fünf untersuchten Rinderarten zwischen 19.6 und 38.8 %, die der Linolsäure zwischen 12.9 und 22.2 %. Der Gehalt an Palmitinsäure schwankte in geringeren Grenzen zwischen 16.2 und 18.6 %. Die relativen Anteile der Arachidonsäure (4.9 bis 7.1 %), Stearinsäure (6.9 bis 8.0 %) und Palmitoleinsäure (2.0 bis 2.8 %) führten insgesamt zu SFA-Gehalten von maximal 30 % und PUFA-Gehalten von maximal 27 % bei einem MUFA-Anteil von durchschnittlich 41 %. Im Vergleich zu den Werten der eigenen Fütterungsversuche fallen die relativ hohen Anteile an MUFA bei entsprechend geringeren PUFA-Anteilen auf. Eine wesentliche Ursache kann der bereits oben diskutierte vorgeschaltete Erhitzungsprozess bei den Untersuchungen von BOYLSTON et al. (1995) sein, der einen dezimierenden Einfluss auf die leicht oxidierbaren PUFA ausüben kann. Daneben sind weiterhin die unterschiedlichen Rinderrassen, die verschiedenartige Fütterung und das Geschlecht der untersuchten Tiere zu berücksichtigen.

Die PL-Fraktion des Muskelgewebes weist ein sehr gutes PUFA/SFA-Verhältnis auf. Dieses liegt bei den GS-Tieren zwischen 1.3 und 1.5, bei den MS-Tieren zwischen 1.0 und 1.2 und bei den Weidetieren bei 1.1. Bei sämtlichen Fütterungsgruppen wird

die Empfehlung von mindestens 0.45 (WOOD und ENSER, 1997) deutlich überschritten, so dass das Fett dieser Fraktion als ernährungsphysiologisch äußerst hochwertig anzusehen ist. Allerdings gilt zu bedenken, dass mit einem erhöhten Anteil an PUFA auch die Oxidationsempfindlichkeit dieser Lipidfraktion steigt und der Anteil der PL am Gesamtfett des Muskelgewebe mengenmäßig gering ist. Weiterhin spielt für die ernährungsphysiologische Beurteilung das Verhältnis n-6-/n-3-PUFA eine wesentliche Bedeutung, welches einen Wert kleiner als vier annehmen sollte (WOOD und ENSER, 1997). Während die MS-Tiere im Verhältnis zu hohe Anteile an n-6-PUFA aufweisen, die zu n-6-/n-3-PUFA-Verhältnissen von 6.7 bis 7.7 (Färsen) bzw. 9.9 bis 11.8 (Jungbullen) führen, zeigen die GS-Tiere in der PL-Fraktion des MLD eine nahezu ideales Verhältnis der n-6- zu den n-3-PUFA (4.2 bis 4.5). Einen optimalen n-6-/n-3-PUFA-Quotienten zeigt die PL-Fraktion im Muskelgewebe der Weidetiere (2.9). Ein Einfluss des Rauhfutters auf das Verhältnis n-6-/n-3-PUFA wird aus den obigen Ergebnissen deutlich. Weidetiere und Tiere, die während der Mast mit GS oder Heu gefüttert wurden, enthalten in den PL des Muskelgewebes höhere Anteile an n-3-PUFA. Auffallend sind die unterschiedlichen n-6-/n-3-PUFA-Quotienten zwischen den MS-Jungbullen und den MS-Färsen, die sich mit den unterschiedlichen intramuskulären Fettgehalten erklären lassen.

MLD-Unterfraktionen der PL

In der Literatur sind vergleichbare Untersuchungen nicht bekannt, die die Fettsäurespektren der einzelnen PL-Unterklassen (PE, PI, PS und PC) von Muskelfett betrachten, so dass ein Vergleich mit derartigen Daten nicht möglich ist. Ein Vergleich mit den jeweiligen Fettsäuremustern der Gesamt-PL ist nicht sinnvoll, so dass zur Diskussion jeweils nur die Ergebnisse des anderen Fütterungsversuches zur Verfügung standen.

Das Fett der PE-Fraktion des MLD besteht im Wesentlichen aus Linol- (25.1 bis 33.5 %), Arachidon- (15.6 bis 27.0 %), Stearin- (11.7 bis 22.9 %) und Ölsäure (11.4 bis 16.7 %). Das Fettsäurespektrum der Jungbullen weist im Vergleich zu der entsprechenden Lipidfraktion bei den Färsen geringere PUFA-Anteile auf, die durch den vergleichsweise verminderten n-3-PUFA-Gehalt verursacht werden. Dieser Unterschied ist sowohl im Vergleich der MS-Tiere untereinander als auch im Vergleich der GS-Tiere mit den Weidetieren deutlich. Auch bei der Eicosatrien- und der Arachidonsäure werden im Vergleich der MS-Tiere bei den Jungbullen niedrigere Konzentrationen bestimmt, die aber durch höhere Anteile an Linolsäure ausgeglichen werden, so dass sich die n-6-PUFA letztendlich in ihrer Summe nicht unterscheiden. Der niedrigere PUFA-Gehalt der Jungbullen wird durch einen höheren Anteil an SFA ausgeglichen. Hauptsächlich ist dieser höhere Anteil durch die Stearinsäure bedingt. Die PE-Fraktion weist bei den Muskellipiden den höchsten Anteil an PUFA auf, so dass bei allen Fütterungsgruppen der von WOOD und ENSER (1997) empfohlene PUFA/SFA-Quotient von mindestens 0.45 überschritten wird (GS: 1.8 - 3; MS Jung-bullen: 1.9 - 3.0; MS Färsen: 3.6 - 4.1; Weide: 3.4). Das empfohlene Verhältnis n-6-/n-3-PUFA von kleiner 4 wird nur in den PE der Weidetiere erzielt, wobei auch die GS-Tiere mit

5.4 bis 7.6 noch ein gutes n-6-/n-3-PUFA-Verhältnis im Vergleich zu den MS-Jungbullen (16.2 - 20.0) aufweisen. Gezeigt werden kann ein geschlechtsspezifischer Unterschied bei den MS-Tieren sowohl beim Quotienten aus PUFA und SFA (siehe oben) als auch beim Verhältnis der n-6- zu den n-3-PUFA (Jungbullen: 16.2 - 20.0; Färsen: 7.5 - 9.1). Die PE-Fraktion des MLD erweist sich aufgrund des hohen PUFA-Anteils (fast 2/3 der gesamten FA) als besonders oxidationsempfindlich.

Die Mischfraktion der PI + PS des MLD weist im Vergleich zu den PE sehr hohe Anteile an SFA, hauptsächlich Stearinsäure (36.9 - 52.5 %), auf. Weiterhin besitzt diese Fraktion hohe Anteile an Ölsäure (12.7 - 17.3 %), Arachidonsäure (9.6 - 17.2 %) und Linolsäure (6.0 - 10.5 %). Die im Vergleich zu den PE stark abweichende Fettsäurezusammensetzung zeigt, dass die PL ein sehr heterogenes Gemisch darstellen, bei dem die Fettsäurezusammensetzung der Unterfraktionen in Abhängigkeit ihrer biologischen Funktion sehr unterschiedlich sein kann.

Sowohl die Jungbullen, die auf MS-Basis gemästet wurden, als auch die Jungbullen, die GS als Rauhfutter erhielten, besitzen höhere Anteile an SFA im Vergleich zu den Färsen, die durch größere Mengen von Stearinsäure verursacht werden. Gleichzeitig divergieren die Anteile der Linol- und Arachidonsäure bei den MS-Jungbullen (8.4 - 10.5 % bzw. 10.8 - 12.9 %) im Vergleich zu den MS-Färsen (6.0 - 6.8 % bzw. 12.4 - 17.2 %). Wie bei den PE wird das empfohlene n-6-/n-3-PUFA-Verhältnis von kleiner 4 nur von den Weidetieren erreicht (Jungbullen: 6.6 - 16.8; MS-Färsen: 6.9 - 7.5). Das Verhältnis der PUFA zu den SFA, welches mindestens 0.45 betragen sollte (WOOD und ENSER, 1997), wird nahezu in allen Fütterungsgruppen erreicht (Jungbullen: 0.42 - 0.55; Färsen: 0.53 - 0.82).

Die PC-Fraktion stellt die anteilig größte Unterfraktion innerhalb der Muskel-PL dar. Bei einem beachtlich hohen Anteil an Palmitinsäure (10.7 bis 23.1 %) enthält die PC-Fraktion mit 69.7 bis 80.1 % einen sehr hohen Anteil ungesättigter FA, die sich aus 31.9 bis 42.2 % Ölsäure, 19.4 bis 29.4 % Linolsäure und 4.0 bis 7.5 % Arachidonsäure zusammensetzen. Unterschiede zwischen der Fettsäurezusammensetzung der PC Fraktion im MLD der Jungbullen und Färsen sind deutlich bei der Zusammensetzung der SFA zu erkennen. Bei den Jungbullen ist der relative Anteil der Stearinsäure (4.4 bis 7.4 %) im Vergleich zu den Färsen (2.9 bis 4.7 %) erhöht. Im Gegensatz dazu enthalten die Färsen relativ mehr Palmitinsäure (18.7 bis 23.1 %) als die Jungbullen (10.7 bis 18.7 %). Außerdem sind die durchschnittlichen Konzentrationen der Linolsäure bei den Jungbullen (20.3 bis 29.4 %) größer als bei den Färsen (19.4 bis 21.5 %). Bei einem Vergleich der Weidetiere (Färsen) mit den GS-Tieren fällt ein deutlich niedrigerer Gehalt an n-3-PUFA bei den Jungbullen auf.

Der hohe PUFA-Anteil im Vergleich zu dem Anteil der SFA bedingt ein sehr gutes Verhältnis der PUFA zu den SFA (1.08 - 2.05), welches somit bei allen Tieren deutlich über der Empfehlung von WOOD und ENSER (1997) (0.45) liegt. Trotz eines hohen PUFA-Anteiles wird ein optimales n-6- zu n-3-PUFA-Verhältnis nur in der PC-Fraktion des MLD von den Weidetieren erreicht. Die GS-Tiere besitzen mit 3.9 - 6.7 ebenfalls noch zufriedenstellende n-6-/n-3-PUFA-Quotienten. Die MS-Tiere (sowohl

Jungbullen als auch Färsen) besitzen aufgrund ihrer deutlich geringeren Gehalte an n-3-PUFA (vor allem α-Linolensäure) unvorteilhafte n-6-/n-3PUFA-Verhältnisse (Jungbullen: ca. 20; Färsen: ca. 10). Der geschlechtsspezifische Unterschied ist wahrscheinlich erneut auf unterschiedliche Neigungen zur Einlagerung von Fett bei Bullen und weiblichen Rindern zurückzuführen.

Leber-Fraktion der Neutrallipide und Fraktion der PL

Im Gegensatz zu Untersuchungen von Muskelgewebeproben sind Ergebnisse über die Untersuchung von Leberproben hinsichtlich der Fettsäurezusammensetzung ihrer einzelnen Unterfraktionen rar.

DE VIZCARRONDO et al. (1998) stellten bei ihren Untersuchungen des Leber-Gesamtfettes 39.2 % SFA, 44.7 % MUFA und 14.2 % PUFA fest, wobei die am häufigsten vertretene FA die Ölsäure war. Bei den SFA dominierten Stearin- und Palmitinsäure. Das Verhältnis der PUFA zu den SFA entsprach mit 0.44 der Empfehlung von WOOD und ENSER (1997). Ein Vergleich dieser Daten mit den eigenen Ergebnissen und den Resultaten von TIMM (2000) ist nur begrenzt möglich, da DE VIZCARRONDO et al. (1998) weder das Alter noch das Geschlecht und die Rinderrasse angeben.

Die Fettsäurezusammensetzung des Gesamtfettes und der PL-Fraktion der Leber wurde von TIMM (2000) untersucht. Hierbei wurden generell nur geringfügige Unterschiede zwischen Gesamtfett und PL-Fraktion festgestellt. Die Auswertung der Chromatogramme zur Fraktionierung der Lipide mittels HPLC ergab einen geschätzten Anteil der PE, PI, PS und PC von über 90 %, was die geringen Unterschiede zwischen PL und Gesamtfett erklärt.

Die Ergebnisse der Fettsäurezusammensetzung der Leber (Gesamtfett und PL) stehen dabei bei TIMM (2000) in deutlichem Widerspruch zu den Resultaten von DE VIZCARRONDO et al. (1998). Bei den beiden von TIMM (2000) betrachteten Fütterungsversuchen mit Jungbullen wurden 42 bis 44 % SFA (Palmitinsäure: 7 - 10 %; Stearinsäure: 32 - 34 %), 14 bis 16 % MUFA (Ölsäure: 11 - 12 %) und 35 bis 40 % PUFA (Linolsäure: 12 - 14%; Arachidonsäure: 12 - 13 %; Eicosatriensäure: 5 - 6 %; Docosatetraen- und -pentaensäure: 1 - 3 %) bestimmt. Leichte Unterschiede stellte TIMM (2000) beim Vergleich der Ergebnisse dieser beiden Fütterungsversuche mit dem Ochsen-Fütterungsversuch fest. Beim Vergleich der Weidetier-Ochsen mit den MS-Ochsen fiel ein deutlicher Anstieg des Anteils einiger FA auf (Palmitin-, α-Linolen-, Eicosapentaen-, Docosapentaen- und Docosahexaensäure). Auf der anderen Seite wurde ein Rückgang der Gehalte an Stearin- und Arachidonsäure beim Vergleich der Weidetiere mit den MS-Tieren offenbar. Diese Veränderungen in den Fettsäurespektren führten zu Gehalten von 41 bis 42 % SFA (Palmitinsäure: 9 - 14 %; Stearinsäure: 30 - 31 %), 11 bis 18 % MUFA (Ölsäure: 8 - 14 %) und 36 bis 43 % PUFA (Linolsäure: 7%; Arachidonsäure: 7 - 11 %; Eicosatriensäure: 4 - 7 %; Docosatetraen- und -pentaensäure: 1 - 4 %), wobei der Rückgang des Anteils an Linolsäure im Vergleich zu den Jungbullen besonders auffallend war. Die Ergebnisse der eigenen Fütterungsversuche weisen im Vergleich zu den Ergebnissen von TIMM (2000) erneut leichte Unterschiede auf, wobei auch bei den Ergebnissen des Fütterungsversuches

I verglichen mit den Ergebnissen des Fütterungsversuches II zum Teil deutliche Abweichungen beobachtet werden können. Die Fraktion der Leber-PL der Jungbullen enthält weniger SFA (33.1 - 38.8 %) als die vergleichbare Fraktion der Färsen (49.8 - 54.9 %), was sich sowohl in deutlich geringeren Anteilen an Stearinsäure (Jungbullen: 16.7 - 21.8 %; Färsen: 38.2 - 40.7 %) als auch an geringeren Gehalten von Palmitinsäure (Jungbullen: 8.4 - 10.2 %; Färsen: 9.0 - 12.3 %) verdeutlicht. Dagegen sind relative Anstiege bei den Jungbullen in den Gehalten an MUFA (Jungbullen: 22.0 - 28.4 %; Färsen: 12.5 - 13.9 %) und PUFA (Jungbullen: 35.6 - 44.8 %; Färsen: 31.4 - 37.7 %) zu erkennen. Die GS-Jungbullen besitzen im Vergleich zu den Weidetier-Färsen auffallend höhere Gehalte an n-3-PUFA (GS: 13.0 - 19.0 %; Weide: 11.1 %). Die Unterschiede bei den MUFA und PUFA werden im Wesentlichen durch die Öl- und Linolsäure verursacht. Verglichen mit den Ergebnissen von TIMM (2000) sind also die SFA-Anteile bei den Jungbullen geringer und die MUFA-Anteile der Jungbullen erhöht. Bei den Färsen ergibt sich ein deutlich erhöhter SFA-Anteil auf Kosten des PUFA-Anteils, wobei die Ergebnisse der Färsen insgesamt sehr gut mit den Ergebnissen der Fettsäurezusammmensetzung der Leber-PL von Ochsen übereinstimmen.

Wie bereits von TIMM (2000) kann auch anhand der eigenen Ergebnisse eine insgesamt relativ geringe Variabilität der Fettsäurezusammensetzung innerhalb der Leber-PL bestätigt werden. Im Gegensatz zu den PL des Muskelgewebes steht dies in Einklang mit der von ALLEN und FOEGEDING (1981) beschriebenen geringen Variabilität der Fettsäurezusammensetzung der PL, die in der definierten biologischen Funktion begründet ist. Sowohl die Ergebnisse von TIMM (2000) als auch die Ergebnisse der Fütterungsversuche I und II, werden von ST. JOHN et al. (1991) gestützt, die keinerlei Desaturase-Aktivität in der Leber von Rindern feststellen konnten, was wiederum die geringen Ölsäure-Gehalte im Vergleich zu den hohen Stearinsäure-Gehalten erklärt und damit die Ergebnisse von DE VIZCARRONDO et al. (1998) in Frage stellt.

Die Leber-PL bzw. deren Gesamtfett besitzen unabhängig von der Fütterung ein sehr gutes Verhältnis der n-6- zu den n-3-PUFA, wobei die GS- und Weidetiere im Vergleich zu den MS-Tieren einen erhöhten n-3-PUFA-Anteil aufweisen. Der hohe PUFA-Anteil in den PL der Leber bedingt zusätzlich für alle Fütterungsgruppen ausgezeichnete PUFA/SFA-Quotienten, so dass die ernährungsphysiologische Qualität der Leberlipide sehr hoch ist.

Leber-Unterfraktionen der Gesamtlipide

Vergleichswerte für die Fettsäurezusammensetzung der weiteren Unterfraktionen der Leberlipide (CE, TG, PE, PI, PS und PC) sind nicht bekannt, so dass im Folgenden lediglich die beiden Fütterungsversuche I und II miteinander verglichen und diskutiert werden können.

Die Fraktion der Leber-PE besitzt sehr hohe Anteile an Arachidonsäure (19.4 bis 26.0 %) und Linolsäure (7.1 bis 16.2 %). Noch größer ist allerdings erneut der Anteil der Stearinsäure (33.2 bis 38.8 %) bei einem niedrigen Gehalt an Ölsäure (6.8 bis 11.3 %). Die Verteilung der einzelnen FA resultiert in SFA-Anteilen von 39.0 bis

47.6 %, Gehalten an MUFA von 8.3 bis 13.7 % und Anteilen an PUFA von 41.0 bis 48.8 %. Die am stärksten ausgeprägte Variabilität zeigte sich bei den SFA und PUFA jeweils bei den Färsen. Im Vergleich zu den Weidetieren (Fütterungsversuch I) zeigen die GS-Jungbullen weniger SFA (Stearin- und Palmitinsäure) dafür mehr PUFA bei gleichbleibenden MUFA-Anteilen. Die höheren PUFA-Gehalte bei den Jungbullen lassen sich im Wesentlichen von der Linolsäure ableiten, die einen relativen Anstieg der n-6-PUFA (GS-Tiere: 32.8 - 35.4 %; Weidetiere: 31.2) bedingt. Im Gegensatz zu den GS-Jungbullen ist der SFA-Gehalt aufgrund des höheren Anteils an Stearinsäure bei den MS-Jungbullen im Vergleich zu den MS-Färsen erhöht. Bei vergleichbaren PUFA-Gehalten wird die Erhöhung der SFA-Gehalte durch eine leichte Verringerung der MUFA-Anteile ausgeglichen. Zudem sind wegen des geringeren Gehaltes an Docosahexaensäure in den Leber-PE der MS-Jungbullen weniger n-3-PUFA enthalten. Trotz eines sinkenden Anteils an Eicosatriensäure enthalten die MS-Jungbullen durch höhere Linol- und Arachidonsäure-Gehalte mehr n-6-PUFA (42.2 bis 43.6 %) als die MS-Färsen (35.2 bis 37.8 %).

Die PE-Fraktion der Leber weist bei allen Fütterungsgruppen ein sehr gutes PUFA zu SFA-Verhältnis auf, während das Verhältnis der n-6- zu den n-3-PUFA lediglich bei den MS-Jungbullen nicht der Empfehlung von WOOD und ENSER (1997) entspricht.

Die Mischfraktion der PI + PS stellt die anteilig kleinste der untersuchten PL-Unterfraktionen der Leber dar. Auch diese Fraktion besitzt wie die PE-Fraktion geringe Anteile an MUFA (8.7 bis 11.9 %). Dem gegenüber stehen Anteile an SFA von 47.2 bis 53.9 % (Stearinsäure: 42.3 - 50.2 %) und 35.7 bis 41.9 % PUFA (Arachidonsäure: 10.0 - 17.6 %; Linolsäure: 8.7 - 12.9 %; Eicosatriensäure: 5.8 - 12.3 %). Die Weidetiere weisen im Vergleich zu den MS-Färsen einen starken Anstieg der Anteile von Linol-, α-Linolen- und Eicosapentaensäure und einen Rückgang des Anteils an Arachidonsäure auf. Generell fällt beim Vergleich der Ergebnisse der beiden Fütterungsversuche der verhältnismäßig höhere SFA-Anteil bei den Jungbullen (51.2 - 53.9 %; Färsen: 47.2 - 49.5 %) auf. Dieser ergibt sich aus einem erhöhten relativen Gehalt an Stearinsäure (Jungbullen: 47.2 - 49.6 %; Färsen: 42.3 - 45.0 %), der dem geringeren Gehalt an Palmitinsäure bei den Jungbullen (2.0 - 2.9 %; Färsen: 2.7 - 3.8 %) überwiegt. Bei den GS-Jungbullen sind die PUFA-Gehalte mit 35.7 bis 37.1 % im Vergleich zu den Weidetier-Färsen (41.9 %) geringer. Ursachen hierfür sind geringere Anteile an α-Linolen- und die Eicosapentaensäure (n-3-PUFA). Die n-6-PUFA setzten sich im Vergleich zu den Weidetieren aus weniger Linol- und Eicosatriensäure dafür aber mehr Arachidonsäure zusammen. Bei den MS-Jungbullen dagegen werden vergleichsweise zu den MS-Färsen weniger MUFA (Jungbullen: 8.8 - 10.2 %; Färsen: 11.7 - 11.9 %) gemessen, während der Anteil der PUFA (37.1 - 38.4 %) mit dem der Färsen (37.6 - 40.4 %) vergleichbar ist. Innerhalb der PUFA fallen weitere Unterschiede zwischen den MS-Jungbullen und MS-Färsen auf, die sich in geringeren n-3-PUFA-Gehalten und größeren n-6-PUFA-Anteilen bei den männlichen Tieren verdeutlichen. Der Rückgang der n-3-PUFA ist erklärbar mit geringeren Gehalten an Eicosapentaen- und Docosahexaensäure in der PI + PS-Fraktion der Leber von Jungbullen. Der geringere Anteil der Eicosatriensäure bei den MS-Jungbullen wird

innerhalb der n-6-PUFA durch höhere Anteile an Linol- und Arachidonsäure überkompensiert.

Während das Verhältnis der PUFA zu den SFA bei allen Fütterungsgruppen mit PUFA/SFA-Quotienten von größer 0.45 als empfehlenswert anzusehen ist, weisen nur die Weidetiere ein ebenfalls empfehlenswertes Verhältnis der n-6- zu den n-3-PUFA auf, wobei dieses Verhältnis im Übrigen bei den GS-Jungbullen stets besser ist als das Verhältnis bei den MS-Tieren.

Die PC-Fraktion stellt die anteilig größte PL-Unterfraktion der Leberlipide dar. Im Vergleich zu den zuvor beschriebenen Fraktionen der Leber (PE, PI + PS) weist die PC-Fraktion, bedingt durch höhere Ölsäure-Konzentrationen (13.5 - 17.7 %), MUFA-Anteile auf, die zwischen 15.4 und 19.5 % liegen. Der Anteil der SFA ist ebenfalls mit 44.1 bis 54.2 % recht hoch, so dass im Vergleich zu den beiden zuvor beschriebenen und diskutierten Fraktionen der PUFA-Anteil abnimmt (28.4 bis 38.7 %). Dabei zeichnet sich besonders innerhalb der PUFA ein deutlicher Unterschied zwischen den Färsen und den Jungbullen ab. Diese spiegeln sich in sehr unterschiedlichen Anteilen an Linolsäure (Jungbullen: 10.8 - 16.9 %; Färsen: 6.6 - 7.4 %), α-Linolensäure (MS-Jungbullen: 0.6 - 0.8 %; GS-Jungbullen: 2.3 - 3.2 %; MS-Färsen: 0.4 %; Weidetier-Färsen: 1.6 %), Eicosatriensäure (Jungbullen: 3.9 - 6.6 %; Färsen: 6.0 - 11.5 %), Eicosapentaensäure (Jungbullen: 0.4 - 2.7 %; Färsen: 1.3 - 1.6 %) und Docosahexaensäure (Jungbullen: 1.3 - 3.0 %; Färsen: 4.9 - 7.1 %) wider. Die Weidetiere zeigen deutlich geringere Anteile an n-6-PUFA (20.0 %) als die MS-Färsen (29.8 - 27.5 %), wobei eine parallele Entwicklung bei den Gehalten an Linol-, Arachidon- und Eicosatriensäure gezeigt werden kann. Gleichzeitig steigen die Anteile der SFA auf 54.2 % (MS-Färsen: 44.1 - 46.6 %) und der α-Linolensäure auf 1.6 % (MS-Färsen: 0.4 %) an. Die Unterschiede zwischen den Fettsäuremustern der GS- und MS-Jungbullen erscheinen erneut abhängig von der Grundlage des Rauhfutters zu sein. So zeigen die GS-Tiere wieder erhöhte Anteile an n-3-PUFA (GS-Jungbullen: 7.1 - 8.5 %; MS-Jungbullen: 2.6 - 3.0 %) und geringere Anteile an n-6-PUFA (GS-Jungbullen: 22.5 - 24.7 %; MS-Jungbullen: 28.9 - 31.9 %), wobei der PUFA-Anteil insgesamt unverändert bleibt.

Sowohl MS-Jungbullen (15.4 - 19.3 %) als auch GS-Jungbullen (16.4 - 19.5 %) weisen im Vergleich zu den MS-Färsen (16.0 - 16.4 %) bzw. Weidetier-Färsen (16.7 %) jeweils einen höheren Anteil an MUFA auf. Der Anteil an SFA ist bei den GS-Jungbullen (48.4 - 50.0 %), bedingt durch einen niedrigeren Gehalt an Palmitinsäure (9.1 - 11.5 %), im Verhältnis zu den Weidetier-Färsen (SFA: 54.2 %; Palmitinsäure: 15.2 %) vergleichsweise niedrig. Dafür enthalten die männlichen Tiere deutlich mehr n-6-PUFA (22.5 - 24.7 %; Färsen: 20.0 %), wobei hier die Entwicklung der Gehalte an Linol- und Arachidonsäure auffällt, die den Rückgang im relativen Anteil der Eicosatriensäure mehr als ausgleichen. Bei den MS-Jungbullen ist die Entwicklung im Vergleich zu den jeweiligen Färsen anders. Hier werden bei den Jungbullen mehr SFA (47.1 - 49.1 %; Färsen: 44.1 - 46.6 %) aber weniger PUFA (31.7 - 34.8 %; Färsen: 36.6 - 38.7 %) bestimmt. Verursacht wird der relativ höhere Anteil der SFA bei den Jungbullen hauptsächlich durch eine größere Stearinsäure-Konzentration.

Der geringere PUFA-Gehalt rührt wiederum von deutlich niedrigeren Anteilen an Eicosapentaen- und Docosahexaensäure als Vertreter den n-3-PUFA her (Jungbullen: 0.4 - 0.7 % bzw. 1.3 - 1.6 %; Färsen: 1.3 - 1.5 % bzw. 6.7 - 7.1 %). Bei den n-6-PUFA ist im Vergleich zu den Färsen ein sehr starker Anstieg im relativen Gehalt der Linolsäure (Jungbullen: 13.9 - 16.9 %; Färsen: 7.1 - 7.4 %) festzustellen, wobei gleichzeitig die Anteile an Arachidonsäure geringfügig und Eicosatriensäure deutlich zurückgehen.

Wie bei den bereits oben diskutierten PL-Unterfraktionen der Leber weist auch die PC-Fraktion einen sehr hohen PUFA-Anteil auf, der zu sehr guten PUFA/SFA-Quotienten führt. Allerdings ist erneut bei den MS-Jungbullen ein nicht optimales Verhältnis der n-6- zu den n-3-PUFA zu erkennen (10.6 - 12.1), während bei allen anderen Fütterungsgruppen die Empfehlung eines Verhältnisses von kleiner vier erfüllt wird (GS-Tiere: 2.7 - 3.5; Weidetiere: 2.4; MS-Färsen: 3.1 - 3.6).

Das Fettsäuremuster der Leber-CE der Jungbullen unterscheidet sich stark von dem der Färsen. Der Anteil der SFA ist bei den Jungbullen deutlich höher (54.5 bis 63.3 %) als bei den Färsen (39.1 bis 46.3 %), der MUFA-Anteil (20.1 bis 25.7 %) ist entsprechend gegenüber dem den Färsen (29.6 bis 32.3 %) erniedrigt. Ebenso verhält es sich tendenziell mit den PUFA (Jungbullen: 15.1 bis 22.0 %; Färsen: 23.4 bis 27.2 %). Zwar dominieren in den Fettsäuremustern der Färsen die gleichen FA (Palmitin-, Stearin-, Öl- und Linolsäure), wobei die anteiligen Verhältnisse zueinander aber im Vergleich zu den Jungbullen vollkommen verschieden sind. Besonders die Öl- und die Linolsäure sind bei den Jungbullen (13.8 - 19.9 % bzw. 7.6 - 14.3 %) im Vergleich zu den Färsen (23.6 - 26.4 % bzw. 9.9 - 16.5 %) in Relation zu den beiden SFA, Palmitin- und Stearinsäure (Jungbullen: 19.8 - 25.1 % bzw. 27.4 - 33.3 %; Färsen: 15.9 - 19.3 % bzw. 19.7 - 24.0 %), deutlich unterrepräsentiert, was dazu führt, dass bei den Färsen die Öl-, bei den Jungbullen jedoch die Stearinsäure dominiert.

Deutliche Unterschiede in den Fettsäurespektren zeigen sich auch beim Vergleich der Ergebnisse für die Weidetiere und die MS-Färsen. Die Weidetiere weisen geringere Konzentrationen an Linolsäure aber höhere Gehalte an α-Linolensäure und an SFA (hauptsächlich Palmitin- und Stearinsäure) auf. Erstaunlicherweise ist auch die Konzentration der Arachidonsäure mit 6.3 % gegenüber den MS-Färsen (2.9 - 3.2 %) angestiegen, wobei normalerweise ein Rückgang der n-6-PUFA bei Weide und/oder GS-Fütterung beobachtet werden kann. In diesem Zusammenhang muss erneut auf die natürliche Schwankung der Fettsäurezusammensetzung verwiesen werden (Variationskoeffizient: 88 %), wobei der Medianwert für den Gehalt an Arachidonsäure in den Leber-CE der Weidetiere mit 4.6 % deutlich niedriger ausfällt. Weiterhin sind auch analytisch bedingte Schwankungen (Streuung der einzelnen Messwerte), die auf den geringen Anteil der CE-Fraktion der Leberlipide zurückzuführen sind, und Unterschiede, die durch unterschiedliche Fettgehalte bedingt sind, nicht auszuschließen. Zwischen den MS- und den GS-Jungbullen treten die bereits mehrfach diskutierten Veränderungen bei den PUFA zu Tage. Gegenüber den CE in den Lebern der GS-Jungbullen sind in der gleichen Fraktion des Lebergewebes von MS-Tieren sowohl der Gehalt an Arachidonsäure (MS: 1.7 - 3.9 %; GS: 1.7 - 2.2 %)

als auch der Anteil der Linolsäure (MS: 11.5 - 14.3 %; GS: 7.6 - 11.7 %) erhöht. Umgekehrt verhält sich der Anteil der α-Linolensäure (GS: 2.2 - 4.0 %; MS: 0.9 - 1.1 %). Diese Ergebnisse spiegeln die mehrfach erwähnte Verteilung der n-6- bzw. n-3-PUFA in der Rauhfuttergrundlage wider.

Die auf Basis von GS gemästeten Jungbullen aber auch die Weidetiere weisen in der Fraktion der Leber-CE ein gutes Verhältnis der PUFA-Klassen (n-6- zu n-3-PUFA) auf (GS 2.9 - 3.6; Weide 5.9), welches bei den MS-Tieren mit Quotienten von 9.7 bis 18.9 deutlich von der Empfehlung von kleiner vier abweicht (WOOD und ENSER, 1997). Ein der Empfehlung entsprechendes Verhältnis von PUFA zu SFA wiederum wird nur von den Färsen (Fütterungsversuch I) erfüllt. Aufgrund der anteilig geringen Bedeutung der Leber-CE sollten die eben erwähnten Werte jedoch nicht überbewertet werden.

Die Fettsäurespektren für die TG der Leber unterscheiden sich zwischen Jungbullen und Färsen, die jeweils vergleichbares Rauhfutter erhielten, nur gering. Den größten Anteil der TG bestimmen die SFA (GS: 49.9 - 53.3 %; Weide: 50.7 %; MS: 41.9 - 51.7 %) vor den MUFA (GS: 27.7 - 30.9 %; Weide: 21.4 %; MS: 31.7 - 36.2 %) und den PUFA (GS: 17.5 - 19.5 %; Weide: 26.6 %; MS: 13.0 - 22.0 %). Tendenziell enthalten die MS-Tiere im Vergleich zu den GS- bzw. Weidetieren höhere Anteile an MUFA auf Kosten der PUFA. Besonders deutlich werden die Unterschiede beim Vergleich der Auswirkung der beiden verschiedenen Rauhfuttergrundlagen. Hier zeigen sich besonders bei den Weidetieren bzw. den GS-Jungbullen bezüglich des Anteils an n-3-PUFA größere Werte als bei den entsprechenden MS-Tieren (GS/Weide: 3.4 - 7.1 %; MS: 1.2 - 3.8 %). Der Effekt der Fettsäurezusammensetzung des Rauhfutters auf die n-6-PUFA ist aufgrund der großen Schwankungsbreite (12.0 - 21.4 %) nicht eindeutig. Parallel zu den MUFA und den n-3-PUFA verhalten sich deren mengenmäßige Hauptvertreter Ölsäure (GS-Jungbullen: 21.9 - 25.9 %; Weidetiere: 19.2 %; MS-Jungbullen: 27.3 - 30.9 %; MS-Färsen: 25.9 %) und α-Linolensäure (GS-Jungbullen: 2.4 - 3.4 %; Weidetiere: 3.8 %; MS-Jungbullen: 0.7 - 0.9 %; MS-Färsen: 0.6 %).

Wie auch die Fraktion der Leber-CE besitzt die Fraktion der TG in der Leber einen geringen Anteil. Die ernährungsphysiologische Qualität der Fettsäurezusammensetzung ist bezüglich des Verhältnisses der n-6-PUFA zu den n-3-PUFA bei den GS-Tieren (2.5 - 4.1) und den Weidetieren (3.4) als gut zu beurteilen. Die Empfehlung von kleiner vier wird auch von der Fraktion der TG in den Lebern von MS-Färsen nur geringfügig überschritten (4.7 - 5.0). Bei den MS-Jungbullen liegt das Verhältnis der n-6- zu den n-3-PUFA mit 6.7 - 16.1 deutlich außerhalb der Empfehlung von WOOD und ENSER (1997). Der Anteil der PUFA in Relation zu den SFA befindet sich bei allen Fütterungsgruppen knapp über bzw. knapp unter dem empfohlenen Quotienten von 0.45.

Ergebnisse über Untersuchungen von bovinen Plasmalipiden sind nur einige publiziert. Die Zusammensetzung dieser Lipide unterliegt stoffwechsel- und transportbedingt starken Schwankungen, so dass die Werte nicht besonders aussagekräftig sind.

Plasma-Fraktion der CE

Blutplasma und -serum unterliegen in ihrer Zusammensetzung kurzfristigen Veränderungen. Die Variabilität zeigt sich in den Gehalten der Antioxidantien (siehe Kapitel 6.2.1 und 6.4.1) und in der Zusammensetzung der Plasmalipide.

HECKER et al. (1975) präsentierten Daten über die Fettsäurezusammensetzung von Rinderplasma. Dabei wurde aber nicht wie bei den eigenen Untersuchungen zwischen den verschiedenen Fettklassen unterschieden, so dass ein Vergleich mit diesen Daten nicht möglich ist. Die Lipide des Plasmas bestehen zu jeweils 20 bis 25 % aus Stearin-, Palmitin-, Öl- und Linolsäure, während die Anteile der übrigen FA jeweils kleiner 3 % sind. TIMM (2000) sah diese Ergebnisse als ein Mischresultat aus den Fettsäuremustern der TG und PL an und maß den CE dementsprechend nur einen untergeordneten Einfluss bei. Verschiedene analytische Methoden und/oder veränderte Fütterungsstrategien könnten ebenfalls zu Unterschieden geführt haben.

Bei dem ersten Fütterungsversuch, den TIMM (2000) beschreibt (Dosis- und Dauerabhängigkeit der Anreicherung des Futters mit α-Tocopherol), ergibt sich für die Fettsäurezusammensetzung der Plasma-CE ein mit den eigenen Ergebnissen vergleichbares Bild. Mit einem Anteil von 55.5 % dominierte die Linolsäure in jenem Fütterungsversuch. Die MS-Tiere der beiden eigenen Fütterungsversuche weisen mit 45.2 bis 53.7 % ähnlich hohe Linolsäureanteile auf, wobei die Anteile dieser FA sowohl bei den GS-Tieren (36.0 - 40.0 %) als auch bei den Weidetieren (38.3 %) deutlich niedriger waren. Mit Anteilen zwischen 8.7 und 14.7 % tragen Stearin-, Palmitin- und Ölsäure zum Fettsäuremuster bei. Auch diese Anteile liegen in vergleichbarer Größenordnung wie die von TIMM (2000), wobei geringfügige Unterschiede auch auf die veränderte Lipidklassen-Fraktionierung zurückzuführen sein können. Auffallend ist zudem, dass die Summe der von TIMM (2000) angegebenen einzelnen FA aber auch die daraus ermittelten Summenparameter teilweise nur 85 % ergeben, so dass die SFA-, MUFA- und PUFA-Anteile der eigenen Fütterungsversuche nicht mit diesen Ergebnissen vergleichbar sind. Wesentlich auffälligere Unterschiede zeigen sich beim Vergleich der Ergebnisse der beiden eigenen Fütterungsversuche mit dem Langzeitfütterungsversuch mit Jungbullen von TIMM (2000). Die dort ermittelten Anteile der Linolsäure (durchschnittlich 65.3 %) führten zu einem Anteil der PUFA an den gesamten FA der Plasma-CE von über 73 %. Entsprechend niedriger fiel der Gehalt an SFA bzw. MUFA (je 12 %) aus. Die Diskrepanz zu den Ergebnissen des Ochsen-Fütterungsversuches (MS, MS + Weide, Weide) von TIMM (2000) sind noch einschneidender. Hier erhielt TIMM (2000) für die CE im Plasma der Weidetier-Ochsen PUFA-Gehalte von fast 80 % bzw. knapp 68 % für die MS- und gemischt gemästeten Ochsen. Zwar kann bei den Weidetier-Färsen des Fütterungsversuches I ebenfalls ein Anstieg der PUFA im Vergleich zu den MS-Tieren beobachtet werden, dieser nimmt aber geringere Ausmaße an (MS: 58.7 - 64.4 %; Weide: 68.0 %). Konzentrationen an PUFA in der von TIMM (2000) angegebenen Größe wurden bisher in keinem Gewebe oder einer anderen Lipidfraktion nachgewiesen. In Humanplasma konnten FRITSCHE et al. (1997) 65 % PUFA, 13 % SFA und 22 % MUFA bestimmen. Diese Ergebnisse sind aufgrund der unterschiedlichen Ernährungsweise von Mensch

und Rind zwar nicht direkt vergleichbar, zeigen aber, dass die erhaltenen Ergebnisse zumindest tendenziell richtig zu sein scheinen. Der von TIMM (2000) im erwähnten Ochsenfütterungsversuch festgestellte enorme Anstieg des Gehaltes an α-Linolensäure bei den Weidetieren kann anhand der Ergebnisse für die Weidetier-Färsen bestätigt werden.

Zusätzlich erscheint ein Vergleich der Ergebnisse aus den beiden eigenen Fütterungsversuchen untereinander sinnvoll. Verglichen mit der Fraktion der Plasma-CE der Weidetier-Färsen weisen die GS-Jungbullen deutlich höhere Gehalte an MUFA (Weide: 10.2 %; GS: 12.2 - 15.7 %) und SFA (Weide: 21.8 %; GS: 24.1 - 27.2 %) auf. Die Unterschiede zwischen den MS-Tieren beider Fütterungsversuche sind nicht derart deutlich ausgeprägt (MUFA Jungbullen: 11.0 - 15.3 %; MUFA Färsen: 12.3 - 14.1 %; SFA Jungbullen: 25.9 - 27.7 %; SFA Färsen: 23.3 - 27.3 %). Innerhalb der SFA liegt die Stearinsäure sowohl bei den GS- als auch bei den MS-Jungbullen in der Konzentration höher als die bei den Färsen. Während bei den MS-Jungbullen der MUFA-Anteil gleich ist wie der der MS-Färsen, wird erkennbar, dass die GS-Jungbullen deutlich geringere Mengen MUFA in der CE-Fraktion des Plasmas enthalten. Etwas anders verhält sich der Anteil der PUFA. Auch hier sind deutlich geringere Mengen in der von den GS-Jungbullen stammenden Fraktion im Vergleich zu den Weidetieren vorhanden, wobei auch die MS-Jungbullen tendenziell weniger PUFA enthalten als die MS-Färsen. Für die Abnahme der PUFA-Anteile bei den MS- und den GS-Jungbullen sind unterschiedliche Ursachen zu diskutieren. Die MS-Tiere enthalten weniger n-3-PUFA (GS: 18.0 - 20.6 %; MS: 3.9 - 4.9 %), bedingt durch einen ebenfalls geringeren Anteil an α-Linolensäure. Der α-Linolensäure-Gehalt in den CE spiegelt in gewissen Grenzen den Gehalt dieser FA in der Rauhfuttergrundlage wider (Weide > GS >> MS). Bedingt durch geringere Anteile an Linol- und Arachidonsäure enthält die Fraktion der Plasma-CE bei den MS-Jungbullen insgesamt geringere Gehalte an n-6-PUFA als die der MS-Färsen.

Plasma-Fraktion der TG

Ein Vergleich der Ergebnisse zur Fettsäurezusammensetzung der Plasma-TG für die Fütterungsversuche I und II zeigt deutliche Unterschiede auf. Während bei den Färsen das Fettsäuremuster aus 53.2 bis 67.2 % aus SFA, 20.8 bis 28.6 % aus MUFA und 12.0 bis 18.2 % aus PUFA besteht, setzen sich die Fettsäurespektren bei den Jungbullen zu 33.5 bis 41.2 % aus SFA, zu 17.9 bis 28.9 % aus MUFA und zu 37.3 bis 43.3 % aus PUFA zusammen. Diesen Ergebnissen stehen die Ergebnisse aus den drei von TIMM (2000) bearbeiteten Fütterungsversuchen entgegen, die zu SFA-Anteilen von 33.1 bis 63.6 %, MUFA-Anteilen von 21.9 bis 29.5 % und PUFA-Anteilen von 6.0 bis 20.6 % führten. Die zum Teil sehr großen Unterschiede zwischen den drei Fütterungsversuchen konnte TIMM (2000) nicht erklären, da lagerungsbedingte Unterschiede (Tiefkühllagerung) nicht nur in der TG-Fraktion sondern auch in den anderen Fettfraktionen des Plasmas auftreten müssten. Zwischen den von TIMM (2000) untersuchten Fütterungsversuchen mit Jungbullen und dem Fütterungsversuch II bestehen außerdem hinsichtlich der Rinderrasse, der Fütterung und dem

Schlachtgewicht kaum Unterschiede. Erneut fällt bei den Ergebnissen von TIMM (2000) auf, dass weder die Summe der Fettsäureanteile noch die Summe aus SFA, MUFA und PUFA 100 % ergibt. Insbesondere bei dem ersten beschriebenen Fütterungsversuch liegt die Summe zwischen 73.9 und 88.4%.

Sowohl die Unterschiede zwischen Fütterungsversuch I und Fütterungsversuch II als auch die Unterschiede zu den Ergebnissen von TIMM (2000) sind vermutlich auf analytische Schwierigkeiten bei der Trennung von CE und TG mittels SPE zurückzuführen. Die hohen PUFA-Anteile bei den TG im Plasma der Jungbullen lassen den Schluss zu, dass hier ein gewisser Anteil an CE zusammen mit den TG der Fettsäureanalytik gleichzeitig zugeführt wurde. Die begleitenden DC-Untersuchungen zur Reinheit der einzelnen Lipidklassen bestätigten sowohl bei den Jungbullen als auch bei den Färsen die Anwesenheit eines mehr oder weniger geringen Anteils an CE in der TG-Fraktion. Dieser Anteil scheint für die TG-Fraktion der Jungbullen allerdings deutlich größer als bei den Färsen gewesen zu sein. Da für die Trennung in die Lipidklassen bei beiden Fütterungsversuchen die gleiche stationäre Phase bei der SPE Verwendung fand, wurde bei der Analytik stets eine vergleichbare Reinheit vorausgesetzt. Da die verwendeten Kartuschen aber zusätzlich von verschiedenen Herstellungs-Chargen stammten, scheint hier die Hauptursache zu liegen, die zu den beobachteten Unterschieden geführt hat. Innerhalb der beiden Fütterungsversuche sind die Ergebnisse wiederum als homogen zu betrachten.

Auf die Reinheit der CE-Fraktion und die Fraktion der PL hat dieses Trennproblem keine Auswirkungen, da deren Abtrennung in allen Fällen bei den eigenen Untersuchungen gewährleistet bleibt.

Plasma-Fraktion der PL

Bisherige Untersuchungen zeigen, dass die Plasma-PL große Anteile an Stearinsäure (22.4 - 30.3 %), Linolsäure (13.9 - 26.1 %), Ölsäure (10.7 - 16.0 %) und Palmitinsäure (11.2 - 14.9 %) enthalten (TIMM, 2000). Diese Ergebnisse sind abgesehen von geringen Verschiebungen innerhalb des Fettsäurespektrums fast deckungsgleich mit den Ergebnissen der beiden eigenen Fütterungsversuche. Die Plasma-PL bei TIMM (2000) bestehen aus 42.0 bis 44.2 % SFA, 13.0 bis 18.2 % MUFA und 34.2 bis 39.9 % PUFA. Die Weidefütterung der Ochsen führte im Vergleich zur MS-Fütterung bei den Ochsen zu signifikant höheren SFA- und PUFA-Gehalten und einem Rückgang des MUFA-Anteils. Die Weidetier-Färsen bzw. die MS-Färsen zeigen diese Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung allerdings nicht. Eindeutig ist sowohl bei TIMM (2000) als auch bei den eigenen Untersuchungen ein Anstieg des Anteils an α-Linolensäure in den Plasma-PL der Weide- und GS-Tiere im Vergleich zu den MS-Tieren feststellbar (GS/Weide: 3.9 - 5.4 %; MS: 0.5 - 1.2 %).

FRITSCHE et al. (1997) bestimmten in den PL des Humanplasmas eine Fettsäurezusammensetzung, die zusammengefasst in 44 % SFA, 17 % MUFA und 40 % PUFA resultierte. Obwohl die Ergebnisse kaum von den Ergebnissen für die PL des Rinderplasmas abweichen, muss eine Vergleichbarkeit zwischen den verschiedenen Spezies nicht unmittelbar gegeben sein. Die Plasma-PL der Jungbullen unterscheiden

sich hinsichtlich ihrer Fettsäurezusammensetzung gegenüber den Färsen nur geringfügig. Sowohl bei den GS-Jungbullen im Vergleich zu den Weidetieren als auch bei den MS-Jungbullen verglichen mit den MS-Färsen werden geringere Mengen SFA (GS-Jungbullen: 43.6 - 44.3 %; Weidetier-Färsen: 49.1 %; MS-Jungbullen: 42.0 - 43.9 %; MS-Färsen: 47.0 - 48.6 %) aber leicht erhöhte Anteile an MUFA (GS-Jungbullen: 15.7 - 20.0 %; Weidetier-Färsen: 16.9 %; MS-Jungbullen: 19.7 - 22.9 %; MS-Färsen: 17.0 - 18.5 %) und PUFA (GS-Jungbullen: 36.6 - 41.2 %; Weidetier-Färsen: 34.0 %; MS-Jungbullen: 34.2 - 36.4 %; MS-Färsen: 32.9 - 36.1 %) bestimmt. Die geringeren SFA-Gehalte sind auf kleinere Anteile an Palmitinsäure zurückzuführen, bei den GS-Tieren nimmt zusätzlich auch die Stearinsäure-Konzentration ab. Unterschiedliche Ursachen finden sich im PUFA-Gehalt der Plasma-PL, die bei den GS-Jungbullen mehr Linolsäure enthalten, was zu einem erhöhten n-6-PUFA-Anteil verglichen mit den Weidetieren führt (GS: 20.5 - 24.0 %; Weide: 17.2 %). Auch im Plasma der MS-Jungbullen ist der Anteil der Linolsäure im Vergleich mit den entsprechenden Färsen erhöht (Jungbullen: 20.7 - 25.3 %; Färsen: 18.2 - 22.0 %), allerdings wird diese kompensiert durch die Abnahme des Arachidonsäure-Gehaltes (Jungbullen: 3.8 - 4.4 %; Färsen: 5.7 - 6.0 %).

Tendenziell weisen die MS-Jungbullen einen höheren Anteil an MUFA und einen geringeren PUFA-Anteil als die Plasma-PL der GS-Jungbullen auf. Hauptsächlich zeigt sich der Unterschied zwischen der Fettsäurezusammensetzung der Plasma-PL zwischen den beiden verschiedenen Rauhfutterarten in den Anteilen der n-3- und n-6-PUFA, die wie bei den anderen bereits beschriebenen Fraktionen erhöhte Gehalte an n-3-PUFA bei den GS-Tieren (GS: 9.0 - 10.1 %; MS: 2.9 - 5.2 %) und erhöhte Konzentrationen an n-6-PUFA bei den MS-Tieren (GS: 27.0 - 30.5 %; MS: 28.0 - 32.9 %) haben. Eine entsprechende Entwicklung kann auch bei der Fettsäurezusammensetzung hinsichtlich der PUFA in den Plasma-PL der Färsen festgestellt werden.

Die Beurteilung der Fettsäurezusammensetzung aus ernährungsphysiologischer Sicht ist nicht sinnvoll, da Plasma allgemein nicht als Lebensmittel oder Zutat in Lebensmitteln Verwendung findet. Jedoch stellen die Quotienten aus n-6- und n-3-PUFA bzw. PUFA und SFA auch hier sehr gute Indikatoren für die fütterungsbedingten Veränderungen (n-6-/n-3-PUFA) und die mögliche Anfälligkeit für die oxidative Schädigung der FA dar. Mit Ausnahme der Plasma-TG sind bei den Hauptlipidklassen eindeutige Unterschiede zu erkennen, die Rückschlüsse auf die Grundlage des Rauhfutters ermöglichen. Der hohe PUFA-Anteil in den CE bedingt einen hohen PUFA/SFA-Quotienten von 2.05 bis 3.31. Bei den Plasma-PL ergeben sich aufgrund ebenfalls hoher PUFA-Gehalte für dieses Verhältnis Werte zwischen 0.69 und 0.93. Eine klare Abgrenzung der Tiere, die als Rauhfutter MS erhielten, von den GS- bzw. Weidetieren ist anhand der n-6-/n-3-PUFA-Verhältnisse sowohl bei den CE (GS: 2.1 - 2.3; Weide: 1.5; MS: 11.3 - 18.3) als auch den PL (GS: 3.0 - 3.3; Weide: 3.2 MS: 5.4 - 11.8) möglich. Für die Fraktion der TG im Plasma sind derartige Aussagen aus den bereits erwähnten Gründen nicht möglich.

Nierenfett-Gesamtlipide

Bereits die Konsistenz des Nierenfettes lässt erahnen, dass die sich dahinter verbergende Fettsäurezusammensetzung sich von den bisherigen Fettfraktionen unterscheiden wird. Wie auch bei TIMM (2000) schwanken die Werte nur in kleinen Grenzen. Der Anteil der PUFA ist mit 1.6 bis 2.9 % (TIMM (2000): 1.1 - 2.7 %) vernachlässigbar. Größtenteils besteht das Nierenfett aus SFA (59.6 - 67.0 %; TIMM (2000): 59.3 - 63.2 %) und MUFA (30.8 - 38.8 %; TIMM (2000): 31.2 - 36.7 %). Etwa 90 % der FA umfassen Stearin-, Öl- und Palmitinsäure. Der verbleibende Anteil besteht aus Myristinsäure und anderen FA mit jeweiligen Anteilen kleiner 3 %. FA mit einer Kettenlänge von mehr als 18 Kohlenstoffatomen sind im Nierenfett nicht nachweisbar.

Außer von TIMM (2000) sind in der Literatur keine weiteren Untersuchungen bezüglich der Fettsäurezusammensetzung von Nierenfett von Rindern bekannt. Die Funktion des Nierenfettes (Isolierung, Energiespeicher und mechanischer Schutz) ließen TIMM (2000) vermuten, dass die Fettsäurezusammensetzung von Auflagenfett, welches eine vergleichbare Funktion ausübt, mit der des Nierenfettes übereinstimmen sollte.

Das subkutane Fettgewebe des Rindes setzt sich zusammen aus 39 % SFA, 58 % MUFA und 3 % PUFA (HECKER et al., 1975). Abgesehen von dem geringen PUFA-Anteil ist ein Vergleich mit der Zusammensetzung des Nierenfettes nicht möglich. Eventuell könnte eine erhöhte Δ9-Desaturase-Aktivität im Fettgewebe zu einem Anstieg des Gehaltes an Ölsäure bzw. des MUFA-Anteils geführt haben (BOYLSTON et al., 1995).

FLACHOWSKY et al. (1994) berichteten, dass die Fettsäurezusammensetzung von Auflagenfett weitgehend vergleichbar mit den Fettsäurespektren des intramuskulären Fettgewebes ist, welches sich deutlich vom Nierenfett unterscheidet.

Das Nierenfett der Jungbullen ist prinzipiell mit dem der Färsen vergleichbar zusammengesetzt. Es zeichnen sich nur geringfügige Unterschiede ab. Der Anteil an PUFA ist bei den männlichen Tieren (2.1 - 2.9 %; Färsen: 1.6 - 2.2 %) aufgrund eines geringfügigen Anstiegs der n-6-PUFA (Jungbullen: 1.7 - 2.0 %; Färsen: 1.1 - 1.5 %) leicht erhöht, wobei dieser Umstand bei den GS-Tieren durch einen geringeren n-3-PUFA-Anteil minimiert wird (GS-Jungbullen: 0.6 - 0.8 %; MS-Jungbullen: 0.3 %; MS-Färsen: 0.2 %; Weidetier-Färsen: 0.9 %). Unterschiedliche Tendenzen zeigen die SFA und die MUFA. Die GS-Tiere besitzen im Vergleich zu den Weidetieren geringfügig weniger SFA aber mehr MUFA, während die MS-Jungbullen verglichen mit den MS-Färsen mehr SFA und weniger MUFA aufweisen.

Das Nierenfett gehört ebenso wie das Blutplasma nicht zu den vom Menschen verzehrten Lebensmitteln bzw. Lebensmittelbestandteilen, so dass im Folgenden nicht der ernährungsphysiologische Wert der Fettsäurezusammensetzung im Vordergrund steht, sondern Aussagen, die sich aus den Verhältnissen von PUFA zu SFA bzw. n-6- zu n-3-PUFA ableiten lassen. Der absolut geringe Anteil der PUFA im Nierenfett führt zu ebenfalls kleinen PUFA/SFA-Quotienten für die GS-, MS- und

Weidetiere. Auch im Nierenfett der GS- und Weidetiere ist ein erhöhter Gehalt an n-3-PUFA gegenüber den MS-Tieren erkennbar, was sich durch unterschiedliche n-6-/n-3-PUFA-Verhältnisse verdeutlicht (GS: 2.2 - 3.2; Weide: 1.2; MS: 5.2 - 7.6).

Bei keiner der untersuchten Fettfraktionen konnte ein direkter Einfluss einer Futtersupplementierung mit antioxidativ wirksamen Substanzen auf die jeweilige Fettsäurespektren gezeigt werden. Vielmehr beeinflusst das Rauhfutter das Fettsäuremuster in hohem Ausmaße. Eine Mast auf Basis von MS führt im Vergleich zu einer Mast auf Basis von GS in allen Fraktionen zu geringeren Anteilen an n-3-PUFA. Infolge dessen weisen die GS-Tiere ohne Ausnahme ernährungsphysiologisch stets bessere Verhältnisse von n-6- zu n-3-PUFA auf. In nahezu sämtlichen Fraktionen besitzen die Weidetiere ein optimales Verhältnis sowohl der Anteil an PUFA zu den SFA als auch der n-6- zu den n-3-PUFA, so dass der ernährungsphysiologische Wert dieses Fettes als hoch angesehen werden kann. Die beobachteten Veränderungen der Fettsäuremuster korrelieren mit der Fettsäurezusammensetzung der jeweiligen Rauhfuttergrundlage.

6.5.4 Antioxidative Kapazität

Die Messung der antioxidativen Wirksamkeit bzw. Kapazität in Form der TEAC-Werte beschränkte sich bis dato auf die Bestimmung dieses Parameters in Getränken (vor allem Wein und Tee), Extrakten aus Früchten und Gemüsen sowie selten in Blutplasma (FUKUMOTO und MAZZA, 2000; MILLER et al., 1993; CAMPOS und LISSI, 1996; MILLER und RICE-EVANS, 1997). Ein Vergleich der TEAC-Werte der Muskelextrakte mit Literaturdaten gestaltet sich deshalb schwierig. Die TEAC-Werte der Muskelextrakte und des Plasmas der verschiedenen Fütterungsversuche weisen nur geringfügige Unterschiede auf, so dass davon auszugehen ist, dass sowohl die Muskelextrakte als auch die Plasmaproben antioxidativ wirkende Substanzen enthalten, welche die fütterungsbedingten Unterschiede der Gehalte an α-Tocopherol und β-Carotin in ihrer Wirkung ausgleichen. Möglicherweise handelt es sich um mit dem Futter aufgenommene Flavonoide (BÖHM et al., 1998). Die TEAC-Werte schwanken im MLD um 0.3 mg/g und im Plasma zwischen 1.6 und 2.1 mmol/l. Tendenziell ist bei den Tieren des Fütterungsversuches I sowohl im Plasma als auch im Muskelgewebe der MS T-Tiere im Vergleich zu den MS K-Tieren ein paralleler Anstieg der TEAC-Werte mit dem Gehalt an α-Tocopherol feststellbar (MS K, MLD: 0.30 mg/g; MS T, MLD: 0.33 mg/g; MS K, Plasma: 1.9 mmol/l; MS T, Plasma: 2.0 mmol/l). Die antioxidative Kapazität im MLD-Extrakt und im Plasma der Weidetiere sollte aufgrund des noch höheren Gehaltes an α-Tocopherol wesentlich höher sein als die der MS T-Tiere. Beide Werte erweisen sich jedoch als niedriger, so dass eine direkte Korrelation des TEAC-Wertes mit der Konzentration an α-Tocopherol im Extrakt des Muskelgewebes bzw. im Plasma nicht feststellbar ist (MLD: 0.3 mg/g; Plasma: 1.9 mmol/l). Eine mögliche Erklärung hierfür kann die Anwesenheit prooxidativer Substanzen oder eine prooxidative Wirkung des α-Tocopherols im Plasma und in den Muskelextrakten sein. FUKUMOTO und MAZZA (2000) zeigten, dass fast alle phenolischen Verbindungen mit bekannter antioxidativer Wirkung (außer α-Tocopherol,

BHT und BHA) in niedrigen Konzentrationen (< 300 µM) eine prooxidative Wirkung besitzen. Dagegen steigt außer bei den bereits genannten Antioxidantien die antioxidative Wirksamkeit mit zunehmender Konzentration. Geringe Mengen mit dem Weidegras aufgenommene phenolische Verbindungen (Flavonoide) können ebenso wie β-Carotin aufgrund der prooxidativen Wirkung die Ursache für die verhältnismäßig geringen TEAC-Werte in dem Muskelgewebe-Extrakt und im Plasma der Weidetiere sein (ISLER und BRUBACHER, 1982).

Weder im Plasma noch in den Extrakten des MLD kann eine Korrelation zwischen den jeweiligen TEAC-Werten und den korrespondierenden Antioxidantien-Gehalten gezeigt werden. Die TEAC-Werte sind gegenüber den Gehalten an α-Tocopherol um einen Faktor von mindestens 1000 größer.

Eine Übertragung der *in vitro*-Ergebnisse auf den Status der antioxidativen Kapazität im lebenden Tier mag für die untersuchten Plasmaproben möglich sein. Die untersuchten Extrakte der Muskelproben geben nur einen Teil der *in vivo*-vorherrschenden antioxidativen Kapazität wieder, da durch die Aceton- und Ethanolzugabe zur Extraktion Proteine, unter anderem auch antioxidativ wirkende Enzyme (vergleiche Kapitel 2.3.4), denaturiert werden (KAMAL-ELDIN und APPELQVIST, 1996). Die Vielzahl zellulärer Quellen von freien Radikalen wird *in vitro* genauso wenig berücksichtigt wie die komplexe, ineinander verzahnte antioxidative Abwehr (MACHLIN und BENDICH, 1987). Synergismen zwischen phenolischen Substanzen und einigen Säuren (L-Ascorbin-, Citronen- und Phosphorsäure) sowie PL, einigen Aminosäuren und Melanoidinen, die auch während der weiteren Verarbeitung des Fleisches entstehen (Braten, Grillen), finden bei den durchgeführten Untersuchungen zur antioxidativen Kapazität in den Fleischextrakten nur begrenzt Berücksichtigung (ERIKSSON und NA, 1995). Unter Vernachlässigung der mit der Messung verbundenen Umstände muss zusätzlich bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden, dass die Wirkung von Antioxidantien neben der absoluten Menge auch von den Eigenschaften des umgebenden Mediums abhängt. In Emulsionen bzw. in reiner Lipidphase (Öl) unterscheiden sich die antioxidativen Wirkungen erheblich, was durch den besseren Kontakt mit Sauerstoff in Emulsionen erklärbar ist (HUANG et al., 1994).

Relativiert man die TEAC-Werte des Plasmas und der MLD-Extrakte um die entsprechenden Gehalte an α-Tocopherol wird deutlich, dass bei beiden Matrices die antioxidative Kapazität weitestgehend unabhängig von der Konzentration des α-Tocopherols ist. Bei den Färsen (siehe Abbildung 40) sind jeweils sehr hoch signifikante Unterschiede ($p < 0.001$) zwischen den Fütterungsgruppen bezüglich der relativen TEAC-Werte feststellbar.

Während die Futterzusammensetzung der Weidetiere sehr variabel ist, lassen die Ergebnisse der relativen TEAC-Werte im Plasma und in den Extrakten des MLD bei den MS K- und MS T-Tieren einen direkten Rückschluss auf den Einfluss einer Supplementierung des Futters mit α-Tocopherol zu. Die Unterschiede zwischen den TEAC-Werten der Fütterungsgruppen MS K und MS T (Fütterungsversuch I) beruhen nicht allein auf unterschiedlichen Gehalten an α-Tocopherol, da bei den MS T-Färsen

die um den Gehalt an α-Tocopherol normierten TEAC-Werte etwa nur ein Drittel der Werte der MS K-Tiere betragen. Diese Tatsache lässt trotz der bereits diskutierten Einschränkungen das Vorliegen gewisser Synergismen bzw. Antagonismen vermuten. Erklären ließen sich die Ergebnisse mit einer nicht proportional zur Konzentration der Antioxidantien bestehenden Wirksamkeit der Summe der in den Extrakten bzw. im Plasma enthaltenen Antioxidantien.

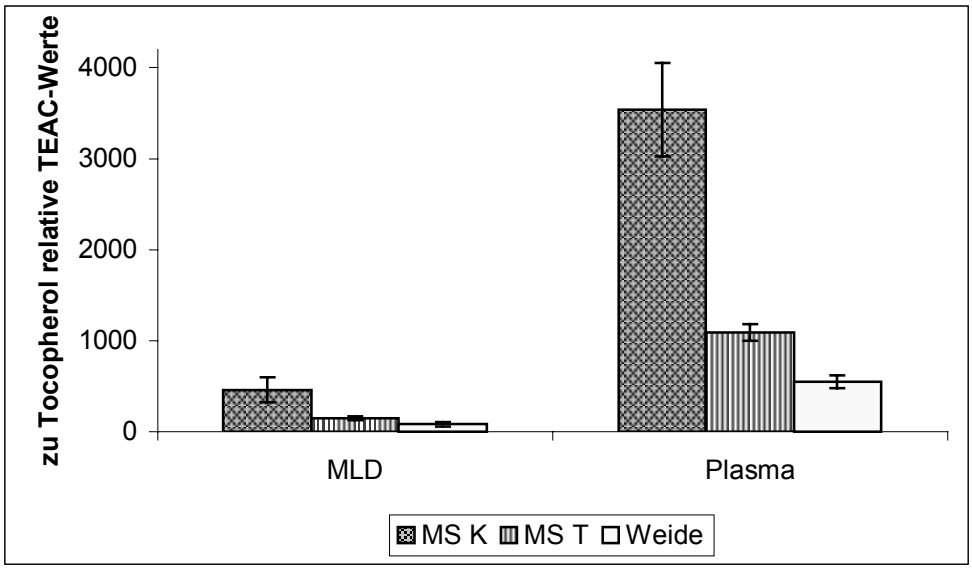


Abbildung 40: Mittelwerte und Standardabweichungen der relativen TEAC-Werte in Plasma und MLD von Färsen (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis)

Bei den Jungbullen fallen besonders der Unterschied der relativen TEAC-Werte im Plasma und in den Extrakten der MS K-, MS C- und MS Asc.-Tiere auf (siehe Abbildung 41). Diese liegen im Vergleich zu den relativen TEAC-Werten der MS T-Tiere und der GS-Tiere sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) höher. Dies bedeutet, dass *in vitro* die um den Gehalt an α-Tocopherol korrigierte antioxidative Kapazität im Plasma und in den MLD-Extrakten der MS-Tiere größer ist als die der GS-Tiere. Dabei sind die relativen TEAC-Werte der MS T-Jungbullen gleich groß wie die relativen TEAC-Werte der GS-Tiere. Bei letzteren ist sowohl im Plasma als auch in den Extrakten des MLD zwischen den vier GS-Fütterungsgruppen kein Unterschied erkennbar. Die antioxidative Kapazität in den Proben der GS-Tiere wird nicht wesentlich vom α-Tocopherol bestimmt. Es ist auch möglich, dass ein prooxidativer Effekt, eventuell hervorgerufen durch die hohen Gehalte an β-Carotin, bei diesen Proben überwiegt.

Die um den Gehalt an α-Tocopherol relativierten TEAC-Werte bei den MS-Jungbullen zeigen die gleiche Entwicklung wie die der MS-Färsen. Uneinheitlich und uneindeutig ist das Verhältnis der relativen TEAC-Werte bei den MS C- und MS Asc.-Tieren zu den Kontroll-Tieren. In den Extrakten des MLD sind die relativen TEAC-Werte der MS C- und MS Asc.-Tiere höher als die der MS K-Tiere, im Plasma ist das Verhältnis umgekehrt, wobei diese Unterschiede nicht in allen Fällen signifikant sind. In den Extrakten des MLD führt die Futtersupplementierung mit β-Carotin oder L-Ascorbinsäure folglich zu einer erhöhten oxidativen Stabilität, wohingegen im

Plasma besonders bei den MS C-Jungbullen eine prooxidative Wirkung in Folge der Aufnahme angereicherten Futters eintritt. Ein signifikanter Einfluss der L-Ascorbinsäure-Supplementierung des Futters auf die relativen TEAC-Werte des Plasmas und der MLD-Extrakte ist nicht erkennbar. Die unterschiedliche Wirkung, die in Folge der Ergänzung des Futters mit β-Carotin eintritt, beruht wahrscheinlich auf dem Einfluss der umgebenden Medien (HUANG et al., 1994). Eventuell sind die Unterschiede auch darin begründet, dass Eisen-Ionen in unterschiedlichem Umfang aus dem Hämo- bzw. dem Myoglobin freigesetzt werden, die wiederum einen oxidationsfördernden Effekt ausüben.

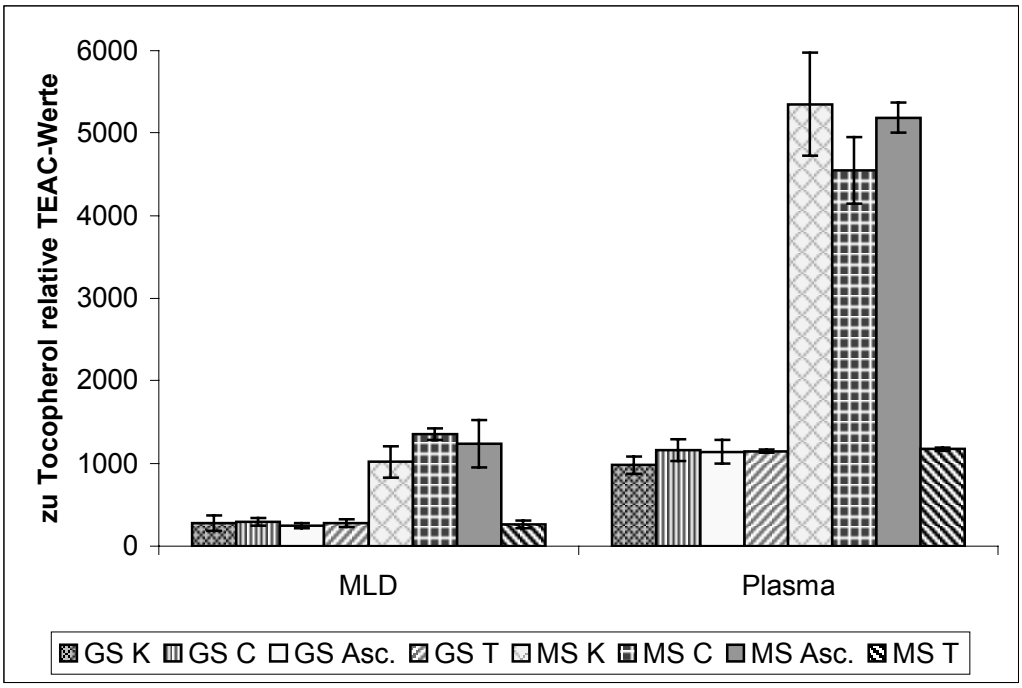


Abbildung 41: Mittelwerte und Standardabweichungen der relativen TEAC-Werte in Plasma und MLD von Jungbullen (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis)

Aufgrund der unterschiedlichen Methodik und der untypischen Matrix (Muskelextrakte) ist ein Vergleich mit Literaturdaten schwierig. (CASTELLINI et al., 1998) bestimmten in Blutplasma von Hasen, deren Futter mit 263 mg α-Tocopherol/kg supplementiert war, TEAC-Werte von 0.4 mmol/l. Die antioxidative Kapazität der Tiere, die supplementiertes Futter bekamen, erwies sich im Vergleich zu den TEAC-Werten im Plasma der Kontroll-Ttiere (Gehalt an α-Tocopherol im Futter: 67 mg/kg) als hoch signifikant ($p < 0.01$) höher. Ein Vergleich dieser Werte mit den im Blutplasma der beiden Fütterungsversuche bestimmten TEAC-Werte ist nur eingeschränkt möglich. Neben methodischen Unterschieden, verwendet wurde die ursprüngliche Methode von MILLER et al. (1993), sind auch weitere fütterungsbedingte und phylogenetische Unterschiede zu berücksichtigen. Hierin sind wahrscheinlich auch die deutlichen Unterschiede im Vergleich zu den im Blutplasma der Rinder gezeigten TEAC-Werten (1.9 - 2.0 mmol/l) begründet.

In Blutplasma-Proben von gesunden Kleinkindern stellten RICE-EVANS und MILLER (1994) TEAC-Werte von 1.2 bis 1.5 mmol/l fest. MILLER et al. (1993) bestimmten ebenfalls im Blutserum von Babies TEAC-Werte zwischen 1.2 und 1.56 mmol/l. Damit liegen die TEAC-Werte im Plasma der Rinder (1.9 - 2.0 mmol/l) etwas über denen des Humanplasmas, wobei dennoch eine Vergleichbarkeit der Werte gewährleistet ist.

Wie oben beschrieben fällt eine Aussage bezüglich des Auftretens von Synergismen besonders in den Extrakten der Muskelproben schwer, da die Reaktionskaskade aufgrund der zerstörten zellulären Struktur behindert ist. Zu erwarten wäre eine erhöhte antioxidative Wirksamkeit bei den GS Asc.-Jungbullen, die einen hohen Gehalt an α-Tocopherol besitzen und zusätzlich L-Ascorbinsäure erhielten, wobei α-Tocopherol und L-Ascorbinsäure aufgrund der zyklischen Regeneration eine synergistische Wirkung aufweisen. Die Regeneration des membrangebundenen α-Tocopherols findet in umfangreichem Maße durch im Zytosol gelöste L-Ascorbinsäure statt. Dieser Vorgang kann bei dem gewählten *in vitro*-Test nicht nachgestellt werden. DOBA et al. (1985) verglichen die Wirkung von α-Tocopherol, Trolox und Vitamin C in multilamellaren Liposomen (*in vitro*) anhand der Sauerstoff-Aufnahme während der Oxidation und stellten dabei für die Kombinationen Trolox/ L-Ascorbinsäure (29 nmol/ 107 nmol) eine höhere oxidative Stabilität fest als für die Kombination α-Tocopherol/L-Ascorbinsäure (21 nmol/107 nmol). Trotz der geringfügig unterschiedlichen Konzentrationen vermuten die genannten Autoren als Hauptgrund für diesen Unterschied, dass die Regeneration des wasserlöslichen Trolox durch die ebenfalls wasserlösliche L-Ascorbinsäure schneller und in größerem Umfang stattfindet als die des sich in der Fettphase befindenden α-Tocopherols.

6.5.5 MDA-Gehalte

Die MDA-Gehalte sowohl im Plasma als auch in den Trichloressigsäure-Extrakten des MLD unterliegen großen Schwankungen. Darum sind bei den GS-Tieren weder im MLD (0.2 bis 0.3 µg MDA/g) noch im Plasma (1.6 bis 1.8 µmol MDA/l) signifikante Unterschiede feststellbar, die auf eine besondere Antioxidantienzufuhr zurückzuführen sind. Tendenziell ist zwar der MDA-Gehalt im MLD der Jungbullen, die mit β-Carotin angereichertem Futter gemästet wurden, gegenüber den anderen Tieren, die GS als Rauhfutter erhielten, erniedrigt, ein signifikant erhöhter antioxidativer Schutz ist hiermit aber nicht belegbar. Im Plasma erwiesen sich gerade jene Proben, die von Tieren der GS C-Gruppe stammten, als mit der höchsten MDA-Konzentration belastet, wobei auch in diesem Fall eine Signifikanz nicht besteht. Bei den auf Basis der MS gemästeten Jungbullen zeigt sich ein signifikanter Unterschied im MLD und im Plasma (MS K $\leftrightarrow$ MS T), der allerdings gegenläufig ist. Während im MLD ein signifikant geringerer MDA-Gehalt in Folge der Ergänzung des Futters mit α-Tocopherol nachweisbar ist, der aufgrund der antioxidativen Schutzwirkung erwartet wurde (MS T: 0.2 µg/g; MS K: 0.3 µg/g), erweist sich die Konzentration an MDA im Plasma (1.7 µmol/l) als signifikant höher als bei den Kontroll-Tieren (1.4 µmol/l). Im Plasma der Jungbullen, deren Futter mit α-Tocopherol supplementiert war, scheint

folglich aufgrund der unterschiedlichen Bindungsform (Lipoproteinstuktur) im Vergleich zum Muskelgewebe (Membranstruktur) eine prooxidative Wirkung zu überwiegen. Nicht auf natürliche Schwankungen zurückzuführende Unterschiede aufgrund der verschiedenen Rauhfuttergrundlagen sind nicht erkennbar.

Bei den Färsen sind wie bei den MS-Jungbullen im MLD der Tiere, die erhöhte Mengen α-Tocopherol erhielten, geringere MDA-Konzentrationen festgestellt worden, die einen Schutz vor Oxidation durch den erhöhten Gehalt an α-Tocopherol begründen. Die bei den Jungbullen beschriebene gegenläufige Entwicklung der MDA-Gehalte im Plasma kann anhand der Ergebnisse für die MS-Färsen nicht bestätigt werden. Tendenziell erweist sich die MDA-Konzentration im Plasma der MS T-Tiere gegenüber dem MDA-Gehalt im Plasma der MS K-Tiere erniedrigt. Die Weidefütterung führt wiederum zu sich uneinheitlich entwickelnden MDA-Gehalten im MLD bzw. im Plasma. Im MLD ist ein im Vergleich zu den MS K-Tieren signifikant ($p < 0.05$) niedrigerer MDA-Gehalt bestimmt worden (MS K: 0.3 µg/g; Weide: 0.2 µg/g), während im Plasma der Weidetiere signifikant ($p < 0.05$) höhere MDA-Gehalte vorhanden sind (Weide: 2.0 µmol/l; MS K: 1.5 µmol/l).

Unter Berücksichtigung der teilweise großen Schwankungsbreite der Einzelwerte weisen die Ergebnisse der Färsen und Jungbullen nur geringe Unterschiede auf, die möglicherweise in Zusammenhang mit unterschiedlichen Fettgehalten vor allem im Muskelgewebe stehen. Besonders auffallend sind in diesem Zusammenhang die niedrigeren MDA-Gehalte im MLD der Weidetiere bei gleichzeitig leicht erhöhten Konzentrationen im Plasma im Vergleich zu den GS-Jungbullen und die niedrigeren MDA-Konzentrationen im Plasma der MS T-Färsen verglichen mit denen der MS T-Jungbullen.

In den meisten Fällen wird bei den in der Literatur beschriebenen Untersuchungen nicht MDA sondern TBARS bestimmt. Ein Vergleich ist aufgrund der unspezifischen Bestimmung der TBARS nur eingeschränkt möglich. Außerdem gestaltet sich der Vergleich mit Literaturdaten deshalb schwierig, da MDA bzw. TBARS meistens über einen längeren Zeitraum gemessen werden und die Entwicklung des MDA-Gehaltes in Geweben von Tieren mit höheren Gehalten an Antioxidantien mit denen Kontroll-Tiere oder anderer Tiere mit geringeren Gehalten antioxidativ wirksamer Bestandteile verglichen wird. Die MDA-Konzentration ist in diesen Fällen als Nachweis der antioxidativen Wirksamkeit anzusehen. In den Proben des Fütterungsversuches galt es lediglich zu zeigen, ob ein durch Futtersupplemente bedingter Effekt auf den MDA-Gehalt zum Zeitpunkt der Untersuchung (noch) nachweisbar ist. Die Veränderung des MDA-Gehaltes während der Lagerung in den verschiedenen Proben der Tiere wurde weder am Anfang (nach der Reifung, vor der Verpackung) noch zwischenzeitlich untersucht, so dass hierüber für die Proben des Tierfütterungsversuches keine Aussagen getroffen werden können. Die lagerungsabhängige Entwicklung der MDA-Konzentration im Fleisch wird ausführlich in Kapitel 8 beschrieben und diskutiert.

MITSUMOTO et al. (1991a) bestimmten den MDA-Gehalt in Rinderhackfleisch aus reinem MLD von sechs Ochsen (Kreuzung), die mit Mais und MS gefüttert wurden.

Zur Deckung des physiolgischen Bedarfs enthielt das Futter ein Vitamin- und Mineralstoff-Supplement. Der durchschnittliche Gehalt an α-Tocopherol im Muskelgewebe betrug 4.3 mg/kg. Bei der Herstellung des Hackfleisches wurden 6 mg *RRR*-α-Tocopherol, 500 mg Natriumascorbat oder eine Kombination dieser beiden Zusätze pro kg gehacktem Fleisch zugesetzt. Alle Proben enthielten zusätzlich 30 mg/kg Chlortetracyclin, welches als Antibiotikum das mikrobielle Wachstum hemmen sollte. Die Hackfleischproben wurden in einheitlicher Form in PVC-Folien verpackt und mit kaltem Fluoreszenzlicht bestrahlt. Einen Tag nach Herstellung betrugen die MDA-Gehalte in den Kontrollproben 1.2 µg/g, in den mit *RRR*-α-Tocopherol behandelten Proben 0.5 µg/g, in den mit Natriumascorbat versetzten Proben 0.2 µg/g und in den mit *RRR*-α-Tocopherol und Natriumascorbat behandelten Proben 0.1 µg/g. Diese Werte lassen die im Fütterungsversuch ermittelten MDA-Gehalte des MLD realistisch erscheinen. Die TBARS-Werte waren bei den Proben mit dem Kombinationspräparat über sieben Tage lang konstant und signifikant ($p < 0.05$) geringer als bei den Proben, die nur eines der beiden Antioxidantien enthielten, wobei auch die zuletzt erwähnten Proben im Vergleich zu den Kontrollproben signifikant geringere TBARS-Konzentrationen zeigten.

In gehacktem Büffelfleisch, das zu nicht genau spezifizierten Anteilen aus MST, *musculus semimembranosus*, *musculus biceps femoris* und *musculus quadriceps* hergestellt wurde, bestimmten SAHOO und ANJANEYULU (1997a) in Abhängigkeit zugesetzten α-Tocopherylacetates mittlere MDA-Konzentrationen von 0.3 bis 0.4 µg/g, wobei die mit α-Tocopherylacetat behandelten Proben geringere MDA-Konzentrationen aufwiesen als die nicht behandelten Kontrollproben. Bei einem Gehalt an α-Tocopherylacetat von 10 mg/kg wurde das Wirkungsmaximum erreicht. Höhere Konzentrationen bewirkten einen prooxidativen Effekt. Die von SAHOO und ANJANEYULU (1997a) bestimmten MDA-Gehalte liegen innerhalb der Schwankungsbreite der MDA-Konzentrationen der eigenen Fütterungsversuche, wobei bei MITSUMOTO et al. (1991a) und SAHOO und ANJANEYULU (1997a) die Antioxidantien nicht als Futtersupplemente, sondern unmittelbar vor bzw. während der Verarbeitung des Fleisches zugesetzt wurden.

Die TBARS-Werte in frischen Rindfleischprodukten erwiesen sich auch bei EIKELENBOOM et al. (2000) bei Verwendung des Fleisches von Ochsen, deren Futter mit α-Tocopherol angereichert war, niedriger als bei Verarbeitung von Fleisch der Tiere, die mit unsupplementiertem Futter gemästet wurden.

Gewolftes Rindfleisch diente auch LEE und LILLARD (1997) als Matrix für ihre Untersuchungen zur Beeinflussung der oxidativen Stabilität durch antioxidative Zusätze. Diese bestanden aus 200 oder 400 mg/kg β-Carotin, 200 ppm sprühgetrockneter gemischter Tocopherole oder jeweils 200 mg/kg dieser sprühgetrockneten Tocopherole und 200 mg/kg β-Carotin. Die standardisiert geformten Fleischkörper wurden unter gleichen Bedingungen bei 120 °C gebacken und anschließend bei 4 °C fünf Tage gelagert. Über diesen Zeitraum wurde der Gehalt an TBARS und Hexanal verfolgt. β-Carotin zeigte keinen antioxidativen Effekt. Die Proben mit der Mischung aus Tocopherolen und β-Carotin zeigten nach zwei Tagen sowohl niedrigere Gehalte an

TBARS als auch an Hexanal als die Proben denen nur Tocopherole beigemengt wurden. Nach fünf Tagen zeigte sich ein entgegengesetzter Trend. Die Proben mit dem Tocopherolzusatz enthielten signifikant geringere Konzentrationen an TBARS und Hexanal als die Proben mit dem Gemisch aus Tocopherolen und β-Carotin, wobei die Gehalte der Markersubstanzen in beiden Fällen signifikant geringer waren als bei den Kontrollproben. Eine Erklärung dieser Entwicklung ist schwierig. Möglicherweise hemmt β-Carotin zunächst den autokatalytischen Autoxidationsprozess, bis schließlich der prooxidative Effekt des β-Carotins überwiegt.

Nicht einheitlich waren die Ergebnisse von RUIZ et al. (1999), die Hühnern verschiedene Mengen an β-Carotin (15 und 50 mg/kg Futter) in Kombination mit unterschiedlichen Fettquellen (jeweils 6 % Sonnenblumenöl oder Rindertalg) verabreichten. Die Kombination der geringeren Dosis β-Carotin mit Sonnenblumenöl führte zu einer Verringerung der TBARS im Muskelgewebe, während eine Menge von 50 mg β-Carotin/kg Futter zusammen mit 6 % Talg zu einem Anstieg der TBARS-Werte führte. Als Grund für diese uneinheitliche Wirkung des β-Carotins wird einerseits die konzentrationsabhängige Wirkungsweise als Anti- bzw. Prooxidans angesehen, andererseits sollte die Löslichkeit des β-Carotins in den verschiedenen Fetten als Ursache dienen, wobei im Öl eine sofortige Lösung eintritt und der Kontakt zum umgebenden Sauerstoff minimiert wird. Beim Talg, welcher bei Raumtemperatur fest ist, ist dieser unmittelbare Lösungsvorgang gehemmt, so dass die eigentliche Ursache für die Unterschiede in diesem Fütterungsversuch in der oxidativen Vorschädigung des β-Carotins zu finden sein könnte.

In Fleisch von Hasen (unsupplementiertes Futter: 67 mg α-Tocopherol/kg Futter, supplementiertes Futter: 263 mg α-Tocopherol/kg Futter) wurden in rohem Zustand 1.34 bzw. 0.71 µmol MDA/kg nachgewiesen. Nach dem Garvorgang betrug der Gehalt an MDA im Fleisch 9.33 bzw. 3.45 µmol/kg (CASTELLINI et al., 1998). In beiden Fällen bestand im Gegensatz zu den eigenen Fütterungsversuchen an Rindern ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den MDA-Gehalten der Tiere. Jedoch darf bei diesem Vergleich nicht außer Acht gelassen werden, dass sich die Ernährungsweise eines Hasen deutlich von dem eines Rindes unterscheidet. Diese Ergebnisse belegen, dass ein Vergleich mit anderen Literaturdaten nur begrenzt möglich ist.

Neben den bisher beschriebenen und diskutierten chemisch-physikalischen Parametern lässt sich ein Wirkungsnachweis einer Supplementierung des Futters mit Antioxidantien auch über physikalische und/oder sensorische Parameter führen. In vielen Fällen dient die Farbstabilität oder der Tropfverlust als Indiz für eine auf Futtersupplemente zurückzuführende Wirkung.

Ein Vergleich zu vielen in der Literatur beschriebenen Ergebnissen mit denen der eigenen Fütterungsversuche ist nicht direkt möglich, weil eine Futtersupplementierung mit Antioxidantien während der Mast eine andere Wirkung bedingt als ein Zusatz einer vergleichbaren Menge an Antioxidans post mortem. Eine *in vivo*-Anreicherung lässt ein mit dem Futter aufgenommenes antioxidatives Agens gezielt an den Wirkungsort, die Membranen, gelangen (BURTON et al., 1993). MITSUMOTO et al.

(1993) zeigten, dass die Farbstabilität bei einer äquivalenten exogenen Zufuhr von α-Tocopherol geringer ist als bei Rindfleisch von Tieren, deren Gehalt an α-Tocopherol im Gewebe aufgrund einer erhöhten Aufnahme mit dem Futter erzielt wurde.

Je nach Erfahrung der Sensorik-Prüfer ist bei TBARS-Werten zwischen 0.5 und 2.0 µg/g ein ausgeprägtes Oxidationsfehlaroma im Fleisch wahrnehmbar (GRAY et al., 1996). Etwas geringere Konzentrationen (0.3 bis 1.0 µg/g) für die Wahrnehmung eines Oxidationsgeruches geben FERNANDEZ et al. (1997) an.

MONAHAN et al. (1994) stellten in Fleischproben von Schweinen, deren Futter mit Vitamin E ergänzt wurde, eine geringere Empfindlichkeit gegenüber der Eisen(II)-chlorid-induzierten Lipidoxidation und eine sich als stabiler erweisende Membranfluidität fest.

α-Tocopherol-Supplemente im Futter führen bei Tieren (Schweine und Rinder) zu erhöhten Gehalten an α-Tocopherol in den Geweben. Als ausreichend für den Erhalt bzw. die Verbesserung von Farb- und Lipidstabilität wird von FAUSTMAN et al. (1989) und ARNOLD et al. (1993a) eine Menge von 3.0 bis 4.0 mg α-Tocopherol/kg je nach Muskeltyp angegeben. Außerdem führt eine Futtersupplementierung mit α-Tocopherol zu geringeren Gehalten an Cholesterol-Oxidationsprodukten und erniedrigt den Tropfverlust des Fleisches während und nach der Reifung (MORRISSEY et al., 1994).

Eine Supplementierung des verwendeten Futters sowohl mit *RRR*- als auch mit *all-rac*-α-Tocopherol verringert die Lipidoxidation. Es werden weniger TBARS und Cholesterol-Oxidationsprodukte gebildet, und die Fleischoberfläche erscheint über einen längeren Zeitraum rot. β-Carotin zeigte bei diesen Untersuchungen keine Wirkung (GRAY et al., 1996; MORRISSEY et al., 1998).

Zu den vielfach diskutierten Wirkungen einer Futtersupplementierung mit Antioxidantien sind auch auftretende Synergismen zu zählen. BREKKE et al. (1975) und TIMM (2000) konnten in Geflügel bzw. in zu Salami verarbeitetem Schweinefleisch Unterschiede in den Peroxidzahlen zwischen *in vivo* und *in vitro* mit α-Tocopherol bzw. Rosmarinextrakten angereicherten Proben feststellen. Bei vergleichbaren α-Tocopherol-Gehalten wurde bei den Tieren, die die Antioxidantien mit dem Futter aufnahmen, mit 0.26 meq/kg eine deutlich geringere Peroxidzahl gemessen als bei den Proben, denen entsprechende Mengen an Antioxidantien nachträglich (vor der Verarbeitung) zugegeben wurden (0.58 meq/kg) (BREKKE et al., 1975). Post mortem zugesetzt liefert eine Kombination von α-Tocopherol und L-Ascorbylpalmitat (jeweils 200 mg/kg) in gekochtem Truthahnbrät signifikant geringere TBARS-Werte als die einzelnen Antioxidantien (BRUUN-JENSEN et al., 1994). Werden bei der Herstellung von gekochtem Truthahnbrät verschiedene Mengen natürlicher Tocopherole (50 bis 150 mg/kg), L-Ascorbylpalmitat (100 bis 300 mg/kg) bzw. 42.5 bis 127.5 mg/kg L-Ascorbinsäure einzeln oder in verschiedenen Kombinationen eingesetzt, so können in Abhängigkeit der Lagerungsbedingungen unterschiedliche Oxidationsstabilitäten erzielt werden. BRUUN-JENSEN et al. (1996) beobachteten die Gehalte an TBARS bei Lagerung bei 5 °C über neun Tage. Die Sauerstoffanteile in den Verpackungen betrugen entweder 21 oder 1 %. Ein hoher Sauerstoffpartialdruck führte im

Vergleich zu einem geringeren Partialdruck stets zu einer vermehrten Bildung von TBARS. Bei den Truthahnproben, denen L-Ascorbinsäure zugesetzt worden war, zeigte sich bei einem hohen Sauerstoffanteil in der Packung ein prooxidativer Effekt, da dort höhere TBARS-Werte festgestellt wurden als in den Kontrollproben. Dagegen waren die TBARS-Gehalte in den L-ascorbinsäurehaltigen Fleischproben bei niedrigem Sauerstoffpartialdurck nicht signifikant unterschiedlich zu denen der Kontrollproben. L-Ascorbylpalmitat und die Tocopherole zeigten keine vom Sauerstoffpartialdruck abhängige Wirkung. Auch in diesen Experimenten wurde eine synergistische Wirkung zwischen L-Ascorbylpalmitat und den Tocopherolen aufgezeigt, die sich sowohl chemisch (TBARS) als auch sensorisch (geringeres „warmed-over-flavour“) äußerte. Ähnliche Untersuchungen wurden auch an Rattenleber-Mikrosomen und an gegartem Schweinehackfleisch durchgeführt (LEUNG et al., 1981; SHAHIDI et al., 1993)

LOPEZ-BOTE et al. (1998) verglichen den Einfluß einer *in vivo*-Supplementierung von Hühnerfutter mit Rosmarin- oder Salbei-Extrakt (jeweils 500 mg/kg Futter) mit dem Effekt einer Futtersupplementierung mit 200 mg α-Tocopherylacetat/kg Futter. In den Gewebeproben der Tiere, deren Futter mit Kräuter-Extrakten angereichert war, wurden bei kühler Lagerung innerhalb von sechs Tagen jeweils niedrigere TBARS-Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen. Die Supplementierung des Futters mit α-Tocopherylacetat erwies sich im Verlauf der Lagerung des Fleisches in gefrorenem Zustand (vier Monate) als effektiver, wobei auch die Proben der Hühner, deren Futter mit den Kräuter-Extrakten supplementiert wurde, niedrigere TBARS-Werte nach vier Monaten (-20°C) aufwiesen als die Kontroll-Tiere.

WONG et al. (1995) versetzten kommerziell erhältliches Rinderhackfleich mit Wasser und 30 mg einer unterschiedlich konzentrierten Lösung von Antioxidantien (*all-rac*-α-Tocopherol, Rosmarin- und Salbeiextrakt). Die Proben wurden gekocht und deren Gehalt an TBARS und MDA über einen Lagerungszeitraum von fünf Tagen (gekühlt) analysiert. Vergleichbare Entwicklungen konnten in allen Proben festgestellt werden. Synergistische Wirkungen zwischen den Antioxidantien wurden nicht beobachtet.

Die beschriebenen Ergebnisse lassen vermuten, dass mit der Aufnahme von Wildkräutern die in diesen enthaltenen antioxidativ wirksamen Substanzen einen zusätzlichen Schutz des Fleisches vor oxidativer Schädigung bewirken. Vor dem Hintergrund einer Verbrauchererwartung, die vermehrt auf ökologische und naturnahe Produktion von Lebensmitteln abzielt, stellt auch diese Art der Zufuhr natürlicher Antioxidantien trotz der teilweise widersprüchlichen Ergebnisse (WONG et al., 1995) einen interessanten Ansatz zur Produktion von vor Oxidation geschützten Fleisches dar.

Vergleichbare Literaturdaten über die MDA-Konzentrationen im Plasma von Rindern sind nicht bekannt. Als Vergleichswerte dienen aus diesem Grund MDA-Gehalte im Blutplasma verschiedener anderer Tiere und des Humanplasmas.

BEHRENS und MADÈRE (1991a) verglichen die MDA-Konzentrationen im Plasma von Ratten, die supplementiertes Futter (entweder mit 50 oder 250 IE *all-rac*-α-Tocopherylacetat/kg Futter angereichert) erhielten, mit der Konzentration an MDA im Plasma

der Kontroll-Tiere. Dabei erwiesen sich die PUFA im Blutplasma der Tiere, deren Futter mit α-Tocopherylacetat supplementiert war, als sehr stabil, so dass MDA weder in Folge der niedrigen noch der hoch dosierten Futtersupplementierung nachweisbar war. Die Kontroll-Tiere wiesen einen MDA-Gehalt von 3.0 ± 0.6 µmol/l auf, die somit vergleichbar mit den Werten von FUKUNAGA et al. (1995) waren. Letztere bestimmten den Gehalt an TBARS in Rattenplasma von Tieren eines ähnlichen Fütterungsversuches mit 1.5 bis 4.0 µmol/l. Diese Werte sind gegenüber den Werten der eigenen Versuche erhöht. Im Gegensatz zu den Daten von BEHRENS und MADÈRE (1991a) können bei den eigenen Experimenten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Männliche Nichtraucher, die täglich 60, 200, 400, 800 bzw. 1200 IE *all-rac*-α-Tocopherol erhielten, wiesen nach acht Wochen signifikant erhöhte Plasma-α-Tocopherol-Gehalte auf. Nahrungsbedingte Unterschiede in den Gehalten an β-Carotin wurden nicht festgestellt. Mit Ausnahme der Tagesration von 200 IE (erhöhte Konzentration an Linolsäure) traten keine Veränderungen im Profil der Fettsäuren auf. Bei Aufnahme bis zu 200 IE täglich konnten von JIALAL et al. (1995) keine signifikanten Unterschiede in den Gehalten an TBARS und der Länge der lag-Phase bis zur Entstehung konjugierter Diene bei der Kupfer-induzierten LDL-Oxidation festgestellt werden. Eine vermehrte Aufnahme von *all-rac*-α-Tocopherol führte zu mindestens signifikant verringerten TBARS-Gehalten und eine ebenfalls mindestens signifikant verlängerten lag-Phase der Entstehung konjugierter Diene. Obwohl eine Dosisabhängigkeit im Rahmen der eigenen Fütterungsversuche nicht untersucht wurde, weichen auch die Ergebnisse von JIALAL et al. (1995) deutlich von den eigenen Ergebnissen ab.

JIALAL und GRUNDY (1992) zeigten an 24 männlichen Nichtrauchern die Langzeitwirkung einer Nahrungssupplementierung mit α-Tocopherol. Im Vergleich zur Kontrollgruppe, die lediglich Sojaöl (= Placebo) erhielt, konnte bei einer Tagesdosis von 800 IE *all-rac*-α-Tocopherol (in Sojaöl) bereits nach sechs Wochen ein starker Anstieg des α-Tocopherol-Gehaltes im Plasma gezeigt werden. Der Gehalt an β-Carotin war bei den Versuchspersonen, die α-Tocopherol erhielten, im Vergleich zur Placebogruppe signifikant erhöht. Im Verlauf des Beobachtungszeitraumes von drei Monaten konnte nach sechs Wochen ein sehr hoch signifikanter und nach zwölf Wochen noch ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Gehalten an TBARS und der Länge der lag-Phase bei der Kupfer-induzierten LDL-Oxidation nachgewiesen werden. Es bestand eine negative Korrelation zwischen TBARS und den bezüglich des Lipidgehaltes korrigierten Gehalten an α-Tocopherol im Plasma, die im Rahmen der eigenen Untersuchungen an Rinderplasma nicht bestätigt werden kann.

Eine vergleichende Untersuchung mit Nahrungsergänzungen von L-Ascorbinsäure, β-Carotin und *all-rac*-α-Tocopherol an acht gesunden Menschen im Alter von 26 bis 65 Jahren von REAVEN et al. (1993) zeigte zunächst bei allen Versuchspersonen ansteigende Gehalte an TBARS, die nach wenigen Tagen auf den ursprünglichen Wert zurückgingen. Die Supplementierung bestand in diesem Versuch aus jeweils zwei Tagesrationen von je 30 mg β-Carotin, 800 mg *all-rac*-α-Tocopherol bzw. 1 g L-Ascorbinsäure. Während im Blutplasma der Versuchspersonen, deren Nahrung mit

α-Tocopherol bzw. L-Ascorbinsäure angereichert wurde, die Kupfer-induzierte LDL-Oxidation signifikant verzögert wurde, konnte erneut ein vor Oxidation schützender Effekt des β-Carotins nicht gezeigt werden.

Bedingt durch verschiedene Messmethoden hinsichtlich der Spezifität ergeben sich für die MDA-Gehalte bzw. die TBARS im Humanplasma Werte von 0.03 bis 0.8 µmol/l (TATUM et al., 1990; YEO et al., 1994). Die am häufigsten angewendete Methode zur Bestimmung des MDA ist die photometrische Bestimmung als TBARS, die grundsätzlich höhere Werte liefert als die spezifische Bestimmung des MDA. Bei einem TBARS-Wert von 0.6 µmol/l betrug der Gehalt an MDA 0.2 µmol/l (RAULI et al., 1998). Dieser Wert bestätigt die Ergebnisse von LEPAGE et al. (1991) und SUTTNAR et al. (1997), die im Plasma gesunder Menschen einen Gehalt an MDA von 0.1 µmol/l bzw. 0.34 ± 0.3 µmol/l bestimmten.

Höhere Werte stellten RICHARD et al. (1992) sowie WASOWICZ et al. (1993) fest. Die Bestimmung der TBARS im Plasma gesunder Menschen ergab MDA-Konzentrationen von 2.4 bis 2.6 µmol/l bzw. 1.0 ± 0.2 µmol/l. Besonders hohe Gehalte wiesen Patienten mit chronischen Nierenfehlern (Dialyse-Patienten), Phenylketonurie, Diabetes, Leberzirrhose und HIV auf.

Gegenüber den MDA-Gehalten im Humanplasma sind die Konzentrationen an MDA im Plasma der untersuchten Rinder deutlich erhöht. Die Ergebnisse der beschriebenen Rattenfütterungsversuche zeigen aber, dass auch zwischen den Gehalten an MDA im Human- und Rattenplasma große Unterschiede bestehen, so dass auch zwischen den Gehalten an MDA im Humanplasma und dem Rinderplasma Unterschiede im beobachteten Ausmaße möglich sind.

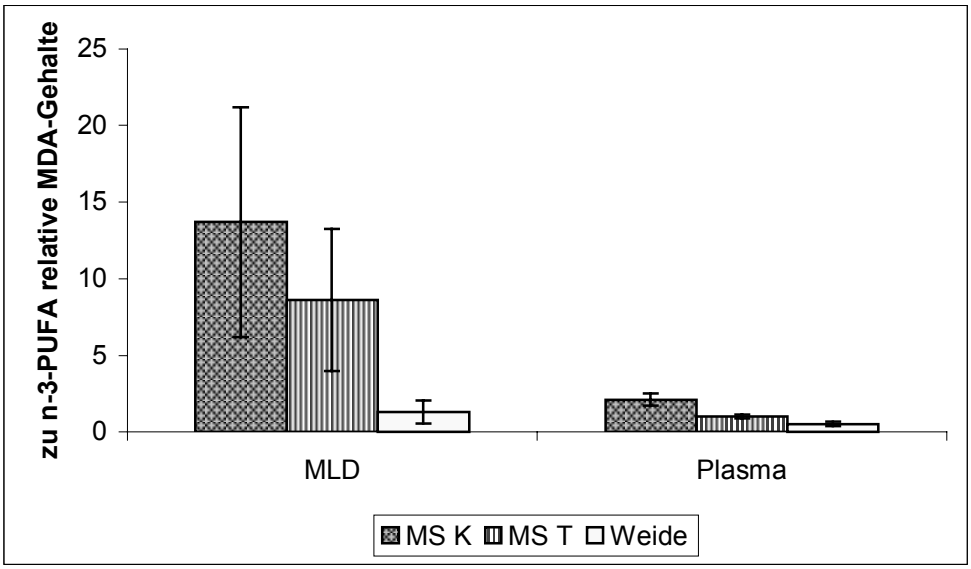


Abbildung 42: Mittelwerte und Standardabweichungen der relativen MDA-Gehalte in Plasma und MLD von Färsen (MS K, MS T bzw. Weide: siehe Abkürzungsverzeichnis)

MDA stellt ein Abbauprodukt der PUFA (drei oder mehr Doppelbindungen) dar. Aus diesem Grund ist es sinnvoll, den Gehalt an MDA relativ zum Gehalt der PUFA darzustellen. Im Wesentlichen wird das Fettsäurespektrum im Hinblick auf FA mit

mindestens drei Doppelbindungen von n-3-PUFA beherrscht, so dass der Gehalt im Folgenden bezüglich des Anteils an n-3-PUFA in den PL dargestellt wird.

Bei ihren Untersuchungen an Humanplasma stellten HOVING et al. (1992) einen mittleren Gehalt an MDA von 1.2 ± 0.2 µmol/l fest. Bei den dort dargestellten Daten besteht eine Korrelation zwischen MDA-Gehalt, Cholesterol-Konzentration, TG und besonders deutlich zum Gehalt an FA mit mehr als drei Doppelbindungen (Korrelationskoeffizient r = 0.923), wobei die PUFA nicht wie bei den eigenen Ergebnissen nach n-3-PUFA differenziert werden. Die Darstellung des relativen Gehaltes an Oxidationsmarkern bezogen auf den Gehalt seiner Edukte wird nicht nur für MDA und FA mit mehr als drei Doppelbindungen durchgeführt, sondern auch für den Gehalt an Isoprostanen relativ zur Arachidonsäure-Konzentration (GOPAUL et al., 2000).

Im MLD und im Plasma der Färsen sinkt der relative Gehalt an MDA von der Fütterungsgruppe MS K über Fütterungsgruppe MS T zu den Tieren der Weidefütterungsgruppe (siehe Abbildung 42). Im Gegensatz zum Unterschied zwischen den relativen MDA-Konzentrationen im MLD der MS K- und MS T-Tiere ist allerdings der Unterschied zwischen den MS K- und Weidetieren (sowohl im MLD als auch im Plasma) sehr hoch signifikant ($p < 0.001$). Die in diesem Fütterungsversuch erhaltenen Ergebnisse bestätigen, dass durch das α-Tocopherol bzw. weiterer mit dem Futter aufgenommener Antioxidantien eine gewisse Schutzwirkung erzielt werden kann.

Zwischen den Fütterungsgruppen GS und MS zeigt sich bei den Jungbullen ein deutlicher Unterschied in den relativen Gehalten an MDA (siehe Abbildung 43). Bei den GS-Jungbullen ist der zu den n-3-PUFA relative Gehalt an MDA sowohl im Plasma als auch im MLD stets niedriger als bei den MS-Jungbullen.

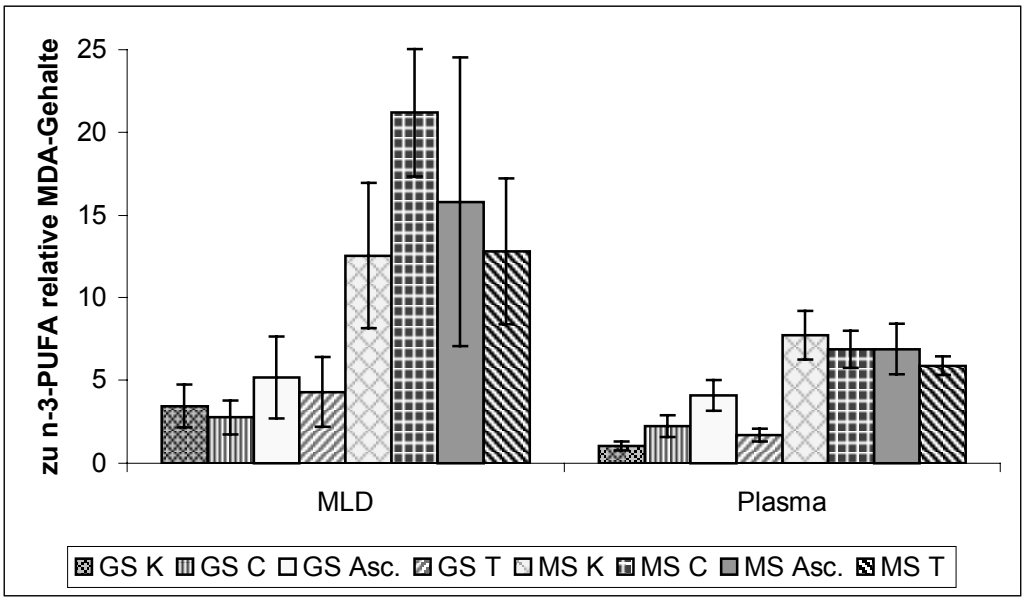


Abbildung 43: Mittelwerte und Standardabweichungen der relativen MDA-Gehalte in Plasma und MLD von Jungbullen (GS K, GS C, GS Asc., GS T, MS K, MS C, MS Asc. bzw. MS T: siehe Abkürzungsverzeichnis)

Innerhalb der beiden sich in der Art des Rauhfutters unterscheidenden Gruppen ist die Entwicklung der relativen MDA-Gehalte nicht so eindeutig wie bei den Färsen.

Die Fütterung auf Basis der GS bewirkt, dass bei gleichzeitiger Supplementierung des Futters mit L-Ascorbinsäure der relative MDA-Gehalt im Plasma und im Muskel tendenziell am höchsten ist. Der vielfach beschriebene Synergismus des Vitamin C zusammen mit Vitamin E kann im Rahmen dieses Fütterungsversuches nicht bestätigt werden. Vielmehr überwiegt ein prooxidativer Effekt. Im Plasma erweist sich zusätzlich der relative MDA-Gehalt in den Tieren der Fütterungsgruppe GS C gegenüber der Kontrollgruppe (GS K) als erhöht. Obgleich kein signifikant erhöhter Gehalt an β-Carotin im Plasma der GS C-Tiere feststellbar ist, zeigen die Ergebnisse, dass eine prooxidative Wirkung vorliegen muss. Zwischen den relativen MDA-Gehalten der anderen GS-Fütterungsgruppen bestehen weder im Plasma noch im MLD signifikante Unterschiede. Die Futtersupplementierung bewirkt bei den Jungbullen, die als Rauhfutter MS erhielten, im Plasma einen ähnlichen Verlauf der MDA-Konzentrationen wie bei den Färsen. Die relativen MDA-Gehalte nehmen von den MS K-Tieren ausgehend über die Tiere der Gruppen MS C und MS Asc. zu den Tieren der Fütterungsgruppe MS T ab, so dass zwischen den Gehalten im Plasma der MS K- und MS T-Tiere ein signifikanter ($p < 0.05$) Unterschied besteht. Im MLD liegt kein signifikanter Unterschied der relativen MDA-Konzentrationen zwischen den Tieren der Fütterungsgruppen MS K und MS T vor. Eine geringere oxidative Schädigung in Folge der Supplementierung des Futters mit α-Tocopherol kann anhand der Ergebnisse für die MS-Jungbullen nicht bestätigt werden. Bei den relativen Gehalten an MDA fällt im MLD der GS-Jungbullen der im Vergleich zu den Werten der Kontroll-Tiere deutlich höhere Gehalt im Muskelgewebe der GS C-Tiere auf, wobei dieser noch höher ist als der ebenfalls erhöhte Gehalt bei den GS Asc.-Jungbullen. In beiden Fällen ist die oxidative Schädigung größer als bei den Kontroll-Tieren, so dass die Futtersupplemente keinen antioxidativen, sondern einen prooxidativen Effekt im Muskelgewebe bewirkt haben. Im Vergleich zu den relativen MDA-Gehalten der Färsen besitzen die männlichen Tiere im Plasma etwas höhere Werte. Dieser geschlechtsspezifische Unterschied tritt beim Muskelgewebe dagegen nicht auf.

Es wird auch einigen CLA-Isomeren eine antioxidative Wirkung zugesprochen. Vergleichend untersuchten LEUNG und LIU (2000) die antioxidative Wirksamkeit der beiden häufigsten CLA-Isomere (c9t11 und t10c12). In Konzentrationen von 2 bis 200 µmol/l wirkte das t10c12-Isomer antioxidativ, wobei diese Wirkung stärker ausgeprägt war als beim c9t11-Isomer und beim α-Tocopherol (2 bis 20 µmol/l). Das c9t11-Isomer der Linolsäure besaß in geringen Konzentrationen (2 bis 20 µmol/l) eine schwach antioxidative Wirksamkeit, während in Konzentrationen ab 200 µmol/l eine prooxidative Wirkung überwog. LEUNG und LIU (2000) erklärten mit dieser konzentrationsabhängigen Wirkungsweise die Diskrepanz ihrer Ergebnisse zu denen anderer Arbeiten.

Die Wirkung der Antioxidantien ist abhängig von Sauerstoffpartialdruck, der Struktur des Antioxidans, des umgebenden Mediums aber auch von der Art des Substrates. *In vitro* untersuchten OGATA et al. (1996) die Wirkung verschiedener Antioxidantien (α-Tocopherol, BHT, β-Carotin) in verschiedenen Konzentrationen (0 bis 15 µmol/l) unter Einsatz verschiedener Substrate (unterschiedliche n-3-PUFA). Die Oxidation

wurde mit Eisen(II)chlorid/Wasserstoffperoxid (Fenton-System) durchgeführt. Bereits in Konzentrationen von 5 µmol/l führten BHT und α-Tocopherol zu einer verminderten Bildung von MDA, während β-Carotin in diesem Test bei allen Konzentrationen und Substraten ohne Wirkung blieb. α-Tocopherol und BHT zeigten bei den unterschiedlichen FA substratspezifische Wirkungen. Während α-Tocopherol die Oxidation der Eicosapentaensäure nicht zu verhindern mag, ist BHT sehr wohl dazu in der Lage. Gegenüber der Docosahexaensäure war die Wirkung des α-Tocopherols im Vergleich zu der von BHT deutlich geringer.

Die antioxidative Kapazität und der MDA-Gehalt werden nicht direkt von der Menge des aufgenommenen α-Tocopherols beeinflusst. Eine Korrelation der Parameter TEAC-Wert, MDA-Gehalt und Konzentration an α-Tocopherol konnte nicht belegt werden. Widersprüchliche Ergebnisse sind eventuell auf nicht ausreichende Konzentrationen antioxidativ wirkender Substanzen zurückzuführen. FAUSTMAN et al. (1989) und ARNOLD et al. (1993a) weisen hierfür einen Gehalt an α-Tocopherol von 3 bis 4 mg/kg Fleisch aus. Die Beziehung zwischen MDA-Gehalt und Konzentration an α-Tocopherol ist nach ARNOLD et al. (1993b) abhängig von der Konzentration des α-Tocopherols, aber nicht linear.

Die gleichzeitig mit dem Weidefutter oder der GS aufgenommenen im Vergleich zur MS hohen Mengen an α-Tocopherol bedingen nicht gleichzeitig eine unbedingte Erhöhung der oxidativen Stabilität. Der Gehalt an α-Tocopherol kann deshalb nicht als Indikator hierfür gewertet werden, da auch weitere Veränderungen mit der Aufnahme verschiedener Rauhfutterarten einhergehen (Aufnahme eventuell prooxidativer Substanzen, Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung besonders innerhalb der PL) (LARICK und TURNER, 1989).

7 Verteilung der Stereoisomere des α-Tocopherols

Bei diversen Säugetieren (Ratten, Affen und Menschen) ist eine Biodiskriminierung einzelner Stereoisomere des α-Tocopherols nachgewiesen worden. Diese wird auf eine besonders hohe Affinität des TBP gegenüber den 2*R*-Isomeren zurückgeführt. Ob und in welchem Ausmaß eine Isomeren-Diskriminierung bei Rindern ebenso beobachtet werden kann, stand im Vordergrund bei den im Folgenden beschriebenen und diskutierten Daten. Es gilt zu prüfen, ob eine eventuelle Biodiskriminierung geschlechtsspezifisch, also von weiteren Faktoren, abhängig ist. Für die Untersuchungen werden Muskelproben (MLD) aus den vorgenannten Fütterungsversuchen ausgewählt. Von den Jungbullen werden Proben der Kontrollgruppen und der Tiere, deren Futter mit *all-rac*-α-Tocopherylacetat angereichert war (jeweils MS und GS), analysiert, während die Proben der Färsen allesamt Aussagekraft besitzen. Von jeder Fütterungsgruppe werden zwischen neun und zwölf Proben ausgewählt und untersucht. Aus oben (Abschnitt 5.5) genannten Gründen wird auf eine quantitative Bestimmung aller acht Stereoisomere (2*S*-Isomere in Summe und die einzelnen 2*R*-Isomere) verzichtet, da Störsubstanzen mit dem Peak der 2*S*-Isomere koeluierten (siehe Abbildung 45).

7.1 Ergebnisse

Die Verteilung der 2*R*-Stereoisomere des α-Tocopherols ist in Abbildung 44 dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass im Muskelgewebe der Kontroll- und der Weidetiere fast ausschließlich (ca. 96 %) das *RRR*-Isomer bestimmt wurde, während die übrigen 2*R*-Isomere in Anteilen von 0.4 bis 2.1 % vorlagen.

Bei den MS T-Tieren beträgt der relative Gehalt des *RRR*-Isomers 38.1 (Jungbullen) bzw. 43.2 % (Färsen), der des *RSS*-Isomers 19.3 bzw. 22.0 %, der des *RRS*-Isomers 19.9 bzw. 21.1 % und der des *RSR*-Isomers 17.5 bzw. 18.8 % (siehe Tabelle 7). Außer bei dem *RRR*-Isomer sind die Anteile der 2*R*-Isomere im Muskelgewebe der Färsen stets geringer als im Muskel der Jungbullen. Der Unterschied ist signifikant ($p < 0.05$) für die *RRS*- und *RSR*-Isomere bzw. sehr hoch signifikant ($p < 0.001$) für die beiden anderen 2*R*-Isomere. Die GS T-Tiere weisen im untersuchten Muskelgewebe einen *RRR*-Isomeren-Anteil von 69.4 % auf. Entsprechend niedriger (8.7 bis 12.0 %) sind die relativen Gehalte der anderen 2*R*-Isomere. Weiterhin ergeben sich zwischen den Färsen und Jungbullen sehr hoch signifikante ($p < 0.001$) Unterschiede zwischen den relativen Konzentrationen aller vier 2*R*-Isomere zwischen den Weidetieren (Färsen) und GS T-Jungbullen. Zudem können hoch signifikante ($p < 0.01$) Differenzen in den Anteilen der *RSS*- bzw. *RRS*-Isomere zwischen den Fütterungsgruppen Weide (Färsen) und GS K (Jungbullen) aufgezeigt werden. Zwischen den Geschlechtern kann innerhalb der MS K-Fütterungsgruppen anhand der Verteilung der 2*R*-Stereoisomere des α-Tocopherols nicht unterschieden werden.

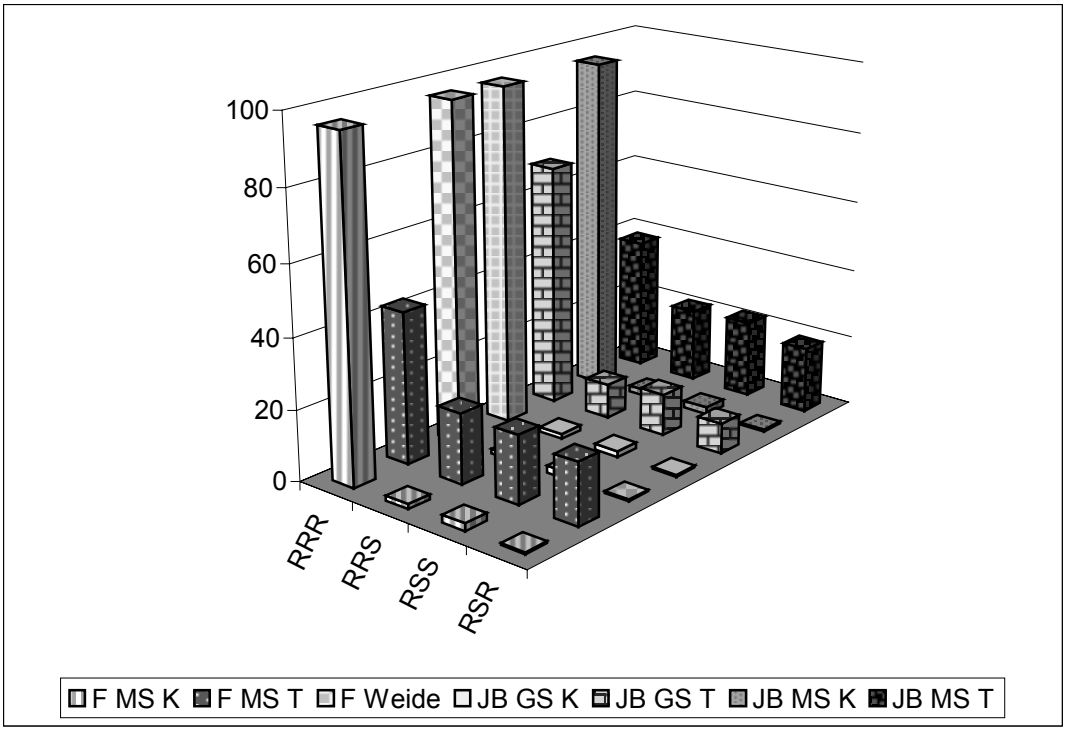


Abbildung 44: Prozentuale Verteilung der 2*R*-Isomere des α-Tocopherols im Muskelgewebe in Abhängigkeit von Geschlecht und Fütterungsgruppe

Stets sehr hoch signifikante ($p < 0.001$) Unterschiede in der Stereoisomerenverteilung des α-Tocopherols ergeben sich innerhalb der Färsen zwischen den Fütterungsgruppen MS K und MS T sowie zwischen MS T und Weide. Während sich die Anteile des *RSR*-Isomers zwischen den MS K- und Weidetieren statistisch nicht signifikant unterscheiden, kann für das *RSS*-Isomer immerhin ein signifikanter ($p < 0.05$) Unterschied festgestellt werden. Die Differenzen der relativen Gehalte an *RRS*- und *RRR*-Isomeren sind hoch signifikant ($p < 0.01$). Bei den Jungbullen ergeben sich sehr hoch signifikante ($p < 0.001$) Unterschiede in den Gehalten der vier 2*R*-Isomere zwischen den Fütterungsgruppen GS K und GS T, GS K und MS T, GS T und MS K, GS T und MS T sowie zwischen MS K und MS T. Die Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen MS K und GS K sind für die *RSS*-, *RRS*- bzw. *RRR*-Isomere nur signifikant ($p < 0.05$), während für den Anteil des *RSR*-Isomers kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden genannten Fütterungsgruppen festgestellt werden kann (Einzelwerte siehe Tab. A- 53).

Tabelle 7: Verteilung der 2*R*-Stereoisomere des α-Tocopherols [%]

	RSS	***RRS***	***RRR***	***RSR***
Färsen MS K	2.1	1.4	96.0	0.5
Färsen MS T	19.3	19.9	43.2	17.5
Färsen Weide	1.9	1.2	96.4	0.4
Jungbullen GS K	1.7	1.4	96.4	0.5
Jungbullen GS T	12.0	9.8	69.4	8.7
Jungbullen MS K	2.1	1.7	95.8	0.5
Jungbullen MS T	22.0	21.1	38.1	18.8

7.2 Diskussion

Die Ergebnisse zeigen deutliche Unterschiede in der Stereoisomerenverteilung im Muskelgewebe zwischen den Rindern, die einerseits mit *all-rac*-α-Tocopherylacetat supplementiertes Futter erhielten bzw. andererseits mit unsupplementiertem Futter gefüttert wurden. Stets sind die 2*R*-Isomere des α-Tocopherols stärker angereichert als die 2*S*-Isomere.

Die Supplementierung des Futters mit *all-rac*-α-Tocopherol (als Acetat) ist sowohl im MLD der MS- als auch der GS-Tiere nachweisbar. Gleichzeitig ist zusätzlich eine Anreicherung des *RRR*-Isomers feststellbar, die sich aus dem natürlichen Gehalt an *RRR*-α-Tocopherol des Rauhfutters ergibt. Diese relative Anreicherung des natürlich vorkommenden Isomers ist besonders bei den Jungbullen der Fütterungsgruppe GS T zu erkennen (69.4 % der gesamten 2*R*-Stereoisomere). Im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen kann, wie bereits erwähnt, ein geschlechtsspezifischer Unterschied zwischen den Färsen und Jungbullen der MS T-Gruppe festgestellt werden.

Zwischen den Anteilen der 2*R*-Isomere in den Proben der Tieren, die unangereichertes Futter erhielten, bestehen kaum Unterschiede. Jedoch sind die absoluten Gehalte an α-Tocopherol in den MLD-Proben zusätzliche Parameter, die einen Rückschluss auf die Rauhfutterquelle ermöglichen (siehe auch Kapitel 6.2.1 und 6.4.1). Die Gewebe der GS- und Weidetiere weisen (aufgrund der höheren Gehalte an α-Tocopherol in GS und frischem Wiedegras im Vergleich zur MS) mit Ausnahme der Gewebe der MS-T-Jungbullen stets höhere Konzentrationen an α-Tocopherol auf.

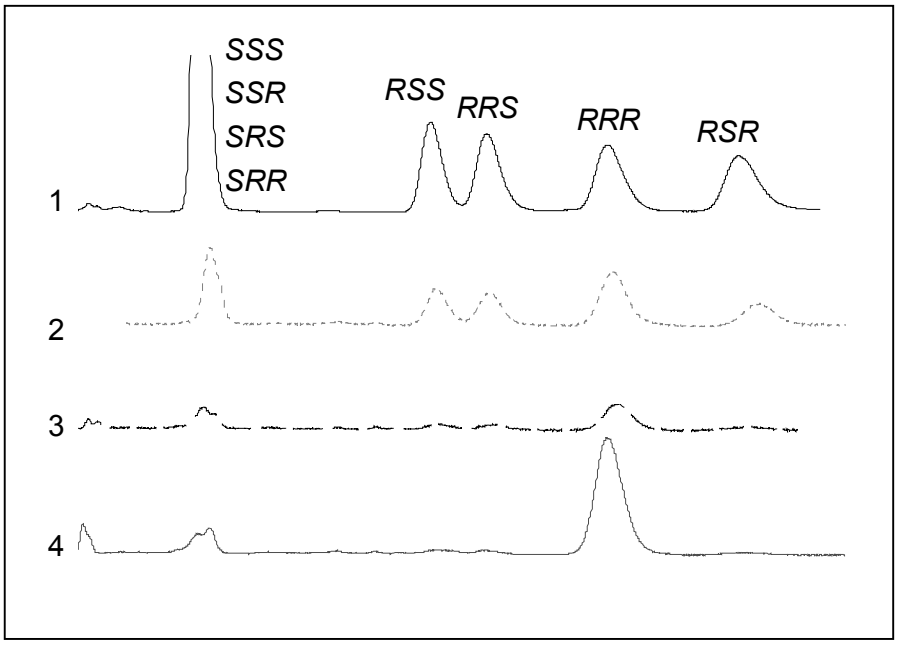


Abbildung 45: Überlagerte Ausschnitte von Chromatogrammen eines *all-rac*-α-Tocopherylmethylether-Standards (1), eines Extraktes aus dem MLD eines MS T-Tieres (2), eines Extraktes aus dem MLD eines MS K-Tieres (3) bzw. eines Extraktes aus dem MLD eines Weidetieres

Auch bei Rindern findet analog zu den zellulären Vorgängen bei Ratten, Affen und Menschen eine Biodiskriminierung der 2*S*-Stereoisomere von α-Tocopherol statt. Besonders auffällig wird diese Tatsache bei Betrachtung der in Tabelle 7 angegebenen Ergebnisse. Obwohl der Anteil der 2*S*-Isomere nicht quantitativ bestimmt wurde, lassen sich diese bei Betrachtung der Chromatogramme (Ausschnitte siehe Abbildung 45) zumindest abschätzen. So ist die Peakfläche der Summe aller 2*S*-Isomere ohne Berücksichtigung einer eventuellen Koelution von Störsubstanzen bei den MS T-Tieren etwa so groß wie die des *RRR*-Isomeren-Peaks. Die relativen Anteile der Stereoisomere betragen unter Einbeziehung dieses Anteils an 2*S*-Isomeren: 27.6 % (Summe der 2*S*-Isomere), 15.9 % (*RSS*), 15.3 % (*RRS*), 27.6 % (*RRR*) und 13.6 % (*RSR*). Selbst unter Vernachlässigung des Anteils der *RRR*-Isomere, der durch die Aufnahme des im Rauhfutter enthaltenen natürlichen α-Tocopherols erhöht ist, weichen diese Werte deutlich von den ohne Diskriminierung erwarteten Anteilen ab (Summe der 2*S*-Isomere: 50 %, *RSS*: 12.5 %, *RRS*: 12.5 %, *RRR*: 12.5 %, *RSR*: 12.5 %). Bei den MS T-Tieren ist der Anteil des *RRR*-Isomers etwa doppelt so hoch wie der der anderen 2*R*-Isomere. Der Anteil des *RRR*-Isomers beträgt bei den GS T-Jungbullen etwa das Sechs- bis Siebenfache der übrigen, einzelnen 2*R*-Isomere, wobei in sämtlichen Geweben der Anteil des *RSR*-Isomers am geringsten ist.

Bei den Kontroll- und den Weide-Tieren ist auch innerhalb der 2*R*-Stereoisomeren des α-Tocopherols das *RRR*-Isomer mit einem Anteil von annähernd 100 % dominierend. Geringe Anteile an *RSR*-, *RRS*- und *RSS*-Isomeren stellen Reste einer vorangegangenen bzw. parallelen Fütterung mit Kraftfutter dar, welches eine bestimmte Menge *all-rac*-α-Tocopherol besitzt. Anhand der anteiligen Verteilung der 2*R*-Stereoisomere des α-Tocopherols ist eine Futtersupplementierung mit *all-rac*-α-Tocopherol auch ohne Kenntnis des Anteils an 2*S*-Isomeren eindeutig nachweisbar.

Möglich ist über ähnliche Untersuchungen eine Überprüfung des Marktes mit „Ökorindfleisch“. Gemäß der Verordnung Nr. 1804/1999 des Rates der Europäischen Gemeinschaft zur Einbeziehung der tierischen Erzeugung in den Geltungsbereich der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel sollte Pflanzenfressern nach Verfügbarkeit ein Maximum an Weidegang gewährt werden. Als Zusatzstoffe in der Tierernährung lässt diese Verordnung neben einigen Spurenelementen auch Vitamine und Provitamine zu, wobei vorzugsweise von Rohstoffen stammende Vitamine beigemischt werden sollen, die in natürlicher Weise in Futtermitteln enthalten sind. Synthetische (auch „naturidentische“) Vitamine sind nur für Monogastriden zugelassen. Es ist bei derartigen Untersuchungen folglich zu erwarten, dass die Gewebe von Rindern aus „ökologischer“ Tierhaltung nur das *RRR*-Isomer von α-Tocopherol enthalten, während bei Tieren konventioneller Tierhaltung bedingt durch eine Zufütterung von Vitamin-Mischungen, die meist *all-rac*-α-Tocopherylacetat enthalten, erhöhte Mengen der 2*S*-Isomere sowie von *RSR*-, *RRS*- und *RSS*-Isomeren nachweisbar sein müssten.

Ein Vergleich mit in der Literatur angegebenen Werten erweist sich aufgrund unterschiedlicher Methoden und mangelnder Berichte über die Verteilung der Stereoisomere des α-Tocopherols in den Geweben von Rindern als schwierig. Evolutionsbedingt ist aber nicht mit Unterschieden in nennenswertem Umfang im Absorptionsverhalten zwischen Affen, Ratten, Menschen und Rindern zu rechnen, so dass vergleichende Studien zur weiteren Diskussion herangezogen werden.

Nicht nur die Zusammensetzung aus verschiedenen Isomeren ist dabei zu berücksichtigen, sondern auch die Art der Darreichungsform. An zwei bis zehn Jahre alten Rindern (Kreuzung aus „Charolais“ und „Hereford“) nahmen HIDIROGLOU et al. (1988) einen Fütterungsversuch vor. Sie gaben den Tieren neben Heu jeweils 1000 IE/Tag D-α-Tocopherol, D-α-Tocopherylacetat, DL-α-Tocopherol bzw. DL-α-Tocopherylacetat. Im Plasma wurden vor Beginn des Versuches 1.41 mg/l α-Tocopherol bestimmt. Bereits nach einem Tag wurde bei den Tieren, die D-α-Tocopherol erhielten, signifikant höhere Mengen an α-Tocopherol im Plasma bestimmt als bei den Tieren, die das natürliche Isomer in Acetat-Form als Futtersupplement erhielten. Noch geringere Mengen enthielten die Rinder, die das synthetische α-Tocopherol erhielten. Auch hier erwies sich die ungebundene Form als besser verfügbar als das DL-α-Tocopherylacetat. In der Leber wurden nach einer Supplementierung des Futters mit dem natürlichen Isomer mit 24.2 bis 27.0 mg/kg nach 28 Tagen signifikant höhere Konzentrationen an α-Tocopherol festgestellt als nach Fütterung mit dem *all-rac*-α-Tocopherol (15.7 bis 19.9 mg/kg). Signifikante Unterschiede in der Art der Darreichungsform (frei oder als Acetat) wurden nicht festgestellt. Im Muskelgewebe ergab sich nach 28 Tagen mit durchschnittlich 5.64 mg/kg kein signifikanter Unterschied zwischen dem natürlichen und dem synthetischen α-Tocopherol. Erklären lassen sich die Befunde mit einer Diskriminierung der L-Epimere bei der Absorption des α-Tocopherols, wobei im Vergleich zu den eigenen Untersuchungen insgesamt sehr hohe Gehalte an α-Tocopherol gemessen wurden. Bei Kühen („Holstein-Friesian“), die entweder eine Basis-Diät oder je 1000 IE *RRR*- bzw. *all-rac*-α-Tocopherylacetat pro Tag bis acht Wochen nach dem Kalben erhielten (zusätzlich Mais, kein Grünfutter), wurde im Plasma der Kontroll-Tiere 1.2 bis 3.2 mg/l α-Tocopherol gemessen. Bei den Tieren, deren Futter mit einem Isomer bzw. dem racemischen Gemisch der acht α-Tocopherylacetat-Stereoisomeren angereichert worden war, wurde ein signifikanter ($p < 0.05$) Anstieg in den Gehalten an Plasma-α-Tocopherol festgestellt (Futtersupplementierung mit *all-rac*-α-Tocopherylacetat: 1.4 bis 4.2 mg/l bzw. *RRR*-α-Tocopherylacetat als Futtersupplement: 2.1 bis 5.2 mg/l). Die Unterschiede erwiesen sich aber als nicht signifikant.

HIDIROGLOU et al. (1992) zeigten bei Lämmern, die äquivalente Mengen DL-α-Tocopherylacetat, D-α-Tocopherylacetat, DL-α-Tocopherylnicotinat, eine Mischung aus DL-α-Tocopherylnicotinat und D-α-Tocopheryl-polyethylenglycol-1000-succinat bzw. eine Mischung aus D-α-Tocopherol und D-α-Tocopheryl-polyethylenglycol-1000-succinat erhielten, eine besonders gute Verfügbarkeit der als Acetat verabreichten natürlichen Form des α-Tocopherols (bis 5.6 mg/l im Blutplasma). Auch bei diesen Tieren konnte ein Unterschied zwischen der Verfügbarkeit von DL- und D-α-Toco-

pherylacetat festgestellt werden. Die Einlagerung in die Gewebe ist also nicht nur abhängig von der absoluten Konfiguration des α-Tocopherols, sondern auch von dessen Verfügbarkeit, die durch Veresterung der phenolischen Gruppe beeinflusst wird.

Auf zellulärer Ebene finden bei Wiederkäuern wie beim Menschen sowie bei Ratten und Affen Diskriminierungen zwischen 2*R*- und 2*S*-Isomeren statt, wobei diese nicht bei der Absorption des α-Tocopherols, sondern erst später in der Leber auftreten (TRABER et al., 1990a, 1990b). Weitergehende Untersuchungen am Menschen mit deuterierten α-Tocopherol-Isomeren (*SRR*- und *RRR*-konfiguriert) zeigten, dass das TBP die 2*S*-Isomere beim Einbau in die nascierenden VLDL diskriminiert (TRABER et al., 1992). KIYOSE et al. (1995a) versuchten den Schritt der Stereoisomerendiskriminierung aufzuklären, indem sie Ratten einmalig oral je 100 mg *RRR*-α-Tocopherylacetat, *all-rac*-α-Tocopherylacetat bzw. 2-*ambo*-α-Tocopherylacetat verabreichten. Innerhalb von 24 Stunden nach Verabreichung konnte keine Veränderung des lymphatischen Flusses bei den Versuchstieren festgestellt werden. Eine Diskriminierung während der Absorption im Dünndarm bzw. der Abgabe in die Lymphe wurde ebenso wenig aufgezeigt, wie eine Diskriminierung während der Abgabe in die Caco-2-Zellen. Die Verteilung der Isomere in der Lymphe bei den mit *all-rac*-α-Tocopherylacetat gefütterten Ratten betrug 52 bis 54 % 2*R*-Isomere, 22 bis 23 %, *SSS*- und *SSR*-Isomere, 12 bis 13 % *SRR*- und 11 bis 12 % *SRS*-α-Tocopherol. Die Lymphe der Ratten, die 100 mg 2-*ambo*-α-Tocopherylacetat erhielten, setzte sich aus 51 bis 52 % 2R-Isomeren und 48 bis 49 % *SRR*-Isomer zusammen.

Nach intravenöser Zufuhr von 10 bzw. 50 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat konnte ebenfalls eine Diskriminierung der 2*S*-Isomere im Plasma von Ratten gezeigt werden. Die zunächst in äquimolaren Mengen vorliegenden Isomere gelangten über das Blut in die Leber. In der Leber erfolgte der Selektionsschritt durch das TBP, so dass bevorzugt die 2*R*-Isomere über die VLDL an das Blut abgegeben werden. Die 2*S*-Isomere wurden in der Leber angereichert und bevorzugt ausgeschieden (KIYOSE et al., 1995b). IGARASHI und KIYOSE (1999) bestätigten ebenfalls am Modell von Ratten, dass während der Absorption des α-Tocopherols im Dünndarm keine Diskriminierung der einzelnen Stereoisomere stattfindet. Nach dem Transport in die Leber werden die 2*R*-isomere jedoch bevorzugt in die VLDL abgegeben, so dass dem hepatischen TBP eine Schlüsselfunktion zukommt.

Die einmalige orale Gabe von jeweils 50 mg *RRR*- oder *SRR*-α-Tocopherylacetat an Ratten führte innerhalb von sechs Stunden zu einem signifikanten Anstieg des Gehaltes an *RRR*-Isomer im Plasma im Vergleich zum *SRR*-Isomer, wobei innerhalb von 24 Stunden keine Unterschiede innerhalb der Gewebe und in der Leber festgestellt wurden. Demzufolge ist eine Einlagerung von α-Tocopherol in die Gewebe nicht nur dosisabhängig, sondern auch abhängig von dem Zeitraum der Supplementierung (KIYOSE et al., 1999).

An Ratten wurde die Aufnahme von *RRR*-α-Tocopherylacetat im Vergleich zu *SRR*-α-Tocopherylacetat untersucht (INGOLD et al., 1987). Hierfür fütterten sie zunächst eine Diät mit 36 mg *RRR*-α-Tocopherylacetat/kg Futter, die nach vier Wochen abge-

löst wurde von 36 mg 6fach deuteriertem *RRR*-α-Tocopherylacetat bzw. 18 mg 3fach deuteriertem *SRR*-α-Tocopherylacetat/kg Futter. Nach Beendigung des Fütterungsversuches wurde eine Anreicherung des 6fach deuterierten *RRR*-Isomers in den roten Blutkörperchen festgestellt, während in der Leber hohe Mengen an 3fach deuteriertem *SRR*-α-Tocopherol bestimmt wurden. INGOLD et al. (1987) schlossen hieraus, dass das hepatische TBP selektiv das *RRR*-Isomer aus der Leber heraustransportiert, was zu einer relativen Anreicherung des *SRR*-Isomers in der Leber führt.

Einen mit der Studie von INGOLD et al. (1987) vergleichbaren Versuch führten BURTON et al. (1990) an erwachsenen Menschen durch. Sie gaben einmalig entweder je 50 mg 6fach deuteriertes *RRR*-α-Tocopherol oder 3fach deuteriertes *SRR*-α-Tocopherol. Im Blutplasma konnte vergleichbar mit den bisherigen Ergebnissen eine eindeutige Präferenz des „natürlich" vorkommenden Isomers nachgewiesen werden.

Nach Fütterung mit 100 mg *all-rac*-α-Tocopherol/kg Futter konnten in den roten Blutzellen, dem Plasma und im Fettgewebe bei Ratten nur 2*R*-Isomere festgestellt werden. Im Gehirn betrugen die Anteile 84.4 % 2R-Isomer, 14.0 % *SSS*- und *SSR*-Isomer, 0.1 % *SRR*- und 1.5 % *SRS*-α-Tocopherol. Während in der Leber vergleichbare Anteile an 2*R*-Isomeren nachgewiesen wurden (84.9 %), unterschied sich die Verteilung der 2*S*-Isomere deutlich (1.0 % *SSS*- und *SSR*-, 3.5 % *SRR*- und 10.6 % *SRS*-Isomer). Als möglicher Grund für diese Unterschiede gilt die Blut-Hirn-Schranke (UEDA et al., 1993). Aufgrund der Anreicherung der 2*R*-Isomere scheint für die eigenen Untersuchungen deren Trennung wichtiger.

BEHRENS und MADÈRE (1991b) verfütterten entweder 35 oder 200 mg/kg Futter *RRR*- oder *all-rac*-α-Tocopherylacetat an Ratten. Im Falle der niedrigeren Dosierung konnten in allen Geweben außer der Niere und der Nebenniere mindestens signifikante Unterschiede zwischen den Gehalten an α-Tocopherol in Abhängigkeit der Isomerenzusammensetzung festgestellt werden. Bei den Tieren, die eine Supplementierung des Futters mit dem *RRR*-Isomers (als Acetat) erhielten, wurden stets höhere Gehalte gemessen als bei denjenigen Ratten, denen das racemische Gemisch dem Futter beigegeben wurde. Generell hatte eine vermehrte Zufuhr von α-Tocopherol über das Futter höhere Konzentrationen in den Geweben der mit derartigem Futter gefütterten Ratten zur Folge (außer bei roten Blutkörperchen und Plasma). Signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Supplementarten konnten nunmehr nur noch im Gehirn festgestellt werden, wobei hier in den Tieren, die mit *all-rac*-α-Tocopherylacetat supplementiertes Futter erhielten, höhere Konzentrationen an α-Tocopherol festgestellt wurden. Eine Bevorzugung des *RRR*-Isomers findet demnach nur bei niedrigen Konzentrationen statt. Erklärt werden kann dies mit der begrenzten Anzahl an α-Tocopherol-Rezeptoren bzw. TBP. Es ist anzunehmen, dass die anderen 2*R*-Isomere mit verringerter Affinität auch aufgenommen werden. Bei sehr hohen Konzentrationen sind alle Rezeptoren mit dem *RRR*-Isomer abgesättigt, was die Bindung der anderen Stereoisomeren erschwert. Eine Diskriminierung aufgrund unterschiedlicher Affinitäten der einzelnen Isomere kann in jenem Fall nicht erkannt werden.

Bei Lämmern, die Tagesdosen von 500 bzw. 1000 IE DL- oder D-α-Tocopherylacetat zur Basis-Diät erhielten (HIDIROGLOU und BATRA, 1996), wurde nach 28 Tagen im Plasma 0.7 bis 1.9 mg/l α-Tocopherol bestimmt, wobei höhere Konzentrationen bei den Tieren gemessen wurden, die 1000 IE pro Tag erhielten. In der Leber und im Blut wurden bei den Lämmern, die das mit D-α-Tocopherylacetat supplementierte Futter erhielten, höhere Gehalte an α-Tocopherol festgestellt als bei denjenigen Tieren, bei denen das Futter mit dem vollsynthetische α-Tocopherylacetat angereichert wurde. Im Gegensatz zu den von BEHRENS und MADÈRE (1991b) untersuchten Ratten, konnte eine Sättigung an α-Tocopherol im Blut bei Lämmern nicht bestätigt werden.

Einen ähnlichen Fütterungsversuch mit Ratten führten NITTA-KIYOSE et al. (1994) durch. Dort erhielten die Ratten 10, 50 oder 100 mg/kg Futter *all-rac*-α-Tocopherylacetat oder *RRR*-α-Tocopherylacetat. Im Plasma und in den Gewebeproben konnten jeweils deutlich mehr 2R- als 2S-Isomere bestimmt werden, wobei mengenmäßig das *SRS*-Isomer am meisten vertreten war. Mit steigender Zufuhr von *all-rac*-α-Tocopherylacetat verringerte sich in der Leber das 2*R*-/2*S*-Isomerenverhältnis, wobei kein Unterschied zwischen den Gehalten an den gesamten 2*R*-Isomeren nach Ergänzung des Futters mit 100 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat/kg Futter und den Gehalten an *RRR*-Isomeren bei einer Supplementierung des Futters mit 50 mg *RRR*-α-Tocopherylacetat/kg Futter feststellbar waren.

Die Verteilung innerhalb der Gewebe von Ratten zeigten KANEKO et al. (2000) nach einmaliger Gabe radioaktiv markierter Isomere (*SRR*- und *RRR*-α-Tocopherol). Innerhalb von 96 Stunden wurden 7.8 % *SRR*- bzw. 1.3 % *RRR*-α-Tocopherol in Form ihrer Metaboliten über den Urin ausgeschieden. Die Autoradiographien zeigten bei den Tieren, die das radioaktiv markierte *SRR*-Isomer erhielten nach 12 Stunden hohe Radioaktivitätswerte in der Leber, der Milz und im Dünndarm, während die Tiere mit dem radioaktiv markierten *RRR*-Isomer hohe Werte in verschiedenen Geweben (Herz, Lunge, Milz, Knochenmark und Dünndarm) aufwiesen. Im Plasma, in der Leber und den anderen untersuchten Geweben wurden innerhalb von 96 Stunden stets höhere Gehalte an *RRR*- als *SRR*-Isomer gefunden.

Auch beim Menschen wurde nach einmaliger oraler Zufuhr von zweimal 400 mg α-Tocopherol (*all-rac*- bzw. *RRR*-) ein unterschiedlicher Konzentrationsverlauf im Plasma festgestellt (FERSLEW et al., 1993; HOPPE und KRENNRICH, 2000). Bereits 24 Stunden nach Aufnahme der α-Tocopherol-enthaltenden Kapseln konnten bei den Versuchspersonen, die das natürlich vorkommende Isomer verabreicht bekamen, absolut höhere Gehalte an α-Tocopherol bestimmt werden. Auch die Erythrocyten enthielten über einen Zeitraum von 24 bis 96 Stunden signifikant höhere Mengen an α-Tocopherol als bei den Versuchspersonen, die das racemische Gemisch aufgenommen hatten.

Neben dem von vielen Autoren beschriebenen hepatischen TBP mit einem Molekulargewicht von 30 kDa, welches sich im Cytoplasma der Leberzellen befindet und dort für die Einlagerung des α-Tocopherols in die VLDL verantwortlich ist, konnte

DUTTA-ROY (1999) ein weiteres TBP charakterisieren, welches mit einem Molekulargewicht von 15 kDA in allen wichtigen Organen nachgewiesen wurde. Dort ist es wahrscheinlich für die intrazelluläre Verteilung des α-Tocopherols zuständig. Das für die Codierung des hepatischen TBP bzw. α-Tocopherol-Transfer-Proteins verantwortliche Gen konnte auf dem Chromosom 8 lokalisiert werden (KAYDEN und TRABER, 1993). Die relative Affinität des *SRR*-Isomers zum hepatischen TBP beträgt im Vergleich zum *RRR*-Isomer 10.5 % (HOSOMI et al., 1997).

Die im Rahmen der eigenen Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse stehen im Einklang mit den in der Literatur beschriebenen zellulären Vorgängen, so dass davon auszugehen ist, dass auch in der Leber von Rindern ein TBP existiert, welches bei Affen, Ratten und dem Menschen bereits weitgehend charakterisiert ist (KREIMEIER und SCHMIDT, 1998). Aufgrund der erhöhten Affinität dieses TBP gegenüber den 2*R*-Isomeren ist die relative Anreicherung dieser Isomerengruppe des α-Tocopherols erklärbar. Die relative Affinität des hepatischen bovinen TBP gegenüber den 2*S*-Isomeren scheint vergleichbar mit den von HOSOMI et al. (1997) gering.

8 Lagerungsversuch

Bei den bisher untersuchten Proben handelt es sich um Proben, die bereits sieben bis 22 Monate tiefgekühlt und im Falle der Muskelproben und der Leberproben der Jungbullen bis zur quantitativen bestimmung der Antioxidantien, des MDA und des TEAC-Wertes vakuumverpackt waren. Um insbesondere lagerungsbedingte Veränderungen des TEAC-Wertes und des Gehaltes an MDA feststellen zu können, schien es ratsam, über einen definierten langen Zeitraum den Verlauf der TEAC-Werte und die Entstehung von MDA zu untersuchen.

Für die Durchführung des Lagerungsversuches wurde kommerziell erhältliches frisches Rindfleisch (Roastbeef) eingesetzt. In einzelne Portionen von jeweils ca. 12 g zerlegt, wurden die Proben einzeln in Gefrierbeutel gegeben. Ein Teil dieser Gefrierbeutel wurde durch Verschweißen der Öffnung verschlossen und im Kühlschrank (4 $\pm$ 1 °C) gelagert. Ein weiterer Teil wurde auf gleiche Weise verschlossen und in der Gefriertruhe (-21 $\pm$ 2 °C) aufbewahrt, während ein letzter Teil (als Referenz) nach Entfernen der Luft im Gefrierbeutel unter Vakuum verschweißt und ebenfalls in der Gefriertruhe gelagert wurde.

Um weitere Einflüsse von außen fernzuhalten, befanden sich die Proben in Pappkartons, die einerseits den Lichteinfall minimieren und andererseits gegenüber Temperaturschwankungen durch gelegentliches Öffnen der Kühlgeräte isolierend wirken sollen. Im Verlauf der Lagerung über ca. vier Monate wurde in größer werdenden Abständen jeweils als Doppelbestimmung der MDA-Gehalt und der TEAC-Wert bestimmt. Für die im Kühlschrank gelagerten Proben wurde der Lagerungsversuch nach 17 Tagen abgebrochen, da die mit dem Verderb des Untersuchungsgutes einhergehende geruchliche Belastung überhand nahm.

8.1 Ergebnisse

Die TEAC-Werte und MDA-Gehalte verlaufen unterschiedlich in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer. Weder in den MDA-Gehalten noch in den TEAC-Werten kann über den Versuchszeitraum ein Unterschied zwischen „normaler“ Gefrierlagerung und vakuumverpackter Lagerung in der Gefriertruhe festgestellt werden. Während der TEAC-Wert in den untersuchten gefrorenen Proben nach etwa drei Tagen einem Wert von 0.4 mg/g entspricht und im weiteren Verlauf in engen Grenzen zwischen 0.4 und 0.5 mg/g schwankt, ist bei den im Kühlschrank gelagerten Proben bereits nach vier Tagen eine abfallende Tendenz des TEAC-Wertes feststellbar, der sich allerdings erst am achten Tag signifikant von dem der gefrorenen Proben mindestens signifikant ($p \leq 0.05$) unterscheidet. Der Verlauf des TEAC-Wertes im Rahmen dieses Lagerungsversuches ist für die ersten drei Wochen in Abbildung 46 dargestellt (Einzelwerte siehe Tab. A- 51). Die MDA-Konzentrationen in den tiefgekühlt lagernden MLD-Proben betragen konstant ca. 0.3 µg/g (siehe Abbildung 47).

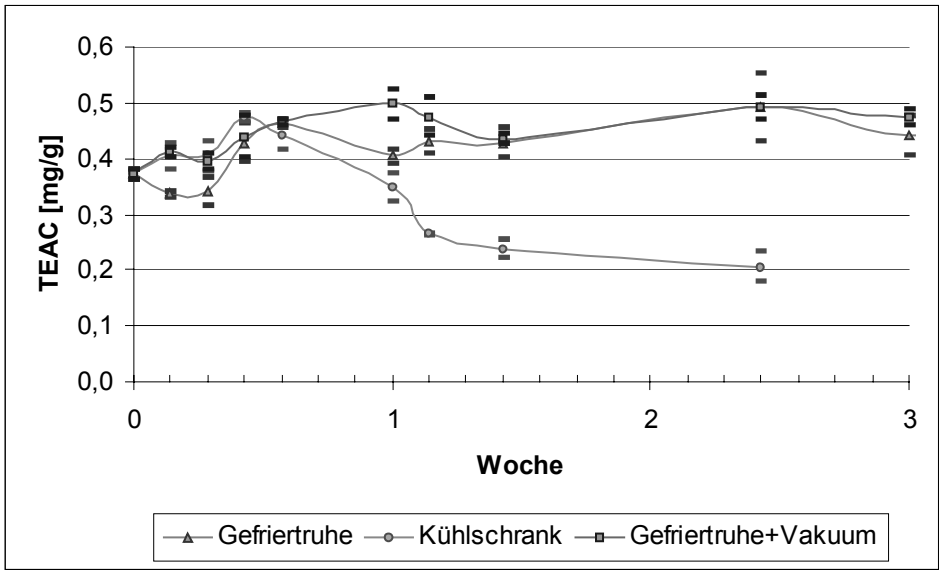


Abbildung 46: TEAC-Werte der drei Lagerungsvarianten (Ausschnitt)

Die Konzentrationen in den im Kühlschrank gelagerten Proben steigt nach drei Tagen merklich an, wobei bereits am vierten Tag ein mindestens signifikanter ($p \leq 0.05$) Unterschied zu den tiefgefrorenen Proben feststellbar ist (Einzelwerte siehe Tab. A-52.

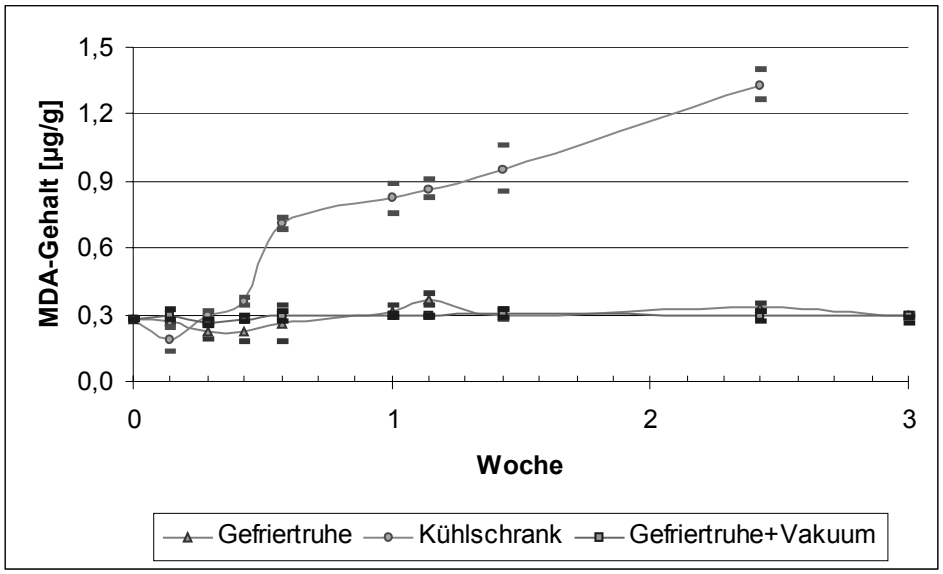


Abbildung 47: MDA-Gehalte der drei Lagerungsvarianten (Ausschnitt)

Da unter den beschriebenen Bedingungen auch am 113. Untersuchungstag weder im Gehalt an MDA noch im TEAC-Wert merkliche Unterschiede im Vergleich zum 56. Untersuchungstag feststellbar sind, wird für die Beurteilung der in den Fütterungsversuchen beschriebenen und diskutierten MDA-Gehalte und TEAC-Werte davon ausgegangen, dass sich diese bis zu den jeweiligen Untersuchungen nicht auffallend lagerungsbedingt verändert haben, und somit die quantitativ bestimmten Werte von den Fütterungsbedingungen und tierspezifischen Umständen abhängig sind.

8.2 Diskussion

Im Rahmen des Lagerungsversuches wurden die TEAC-Werte und MDA-Gehalte in separat verpackten MLD-Proben in definierten Zeitabständen untersucht. Weder der TEAC-Wert noch der MDA-Gehalt zeigte bei den tiefgefrorenen Proben (sowohl normal verpackt als auch vakuum-verpackt) innerhalb des Untersuchungszeitraumes von 113 Tagen signifikante Veränderungen. Bei der Lagerung im Kühlschrank konnte bereits nach vier Tagen eine signifikante ($p < 0.05$) Zunahme des MDA-Gehaltes festgestellt werden, während ein signifikanter Rückgang der antioxidativen Wirksamkeit frühestens nach acht Tagen nachweisbar war. Somit erwies sich die Bestimmung des MDA im Vergleich zur Bestimmung des TEAC-Wertes als empfindlichere Methode zur Beurteilung der Lagerstabilität von Fleisch. Im Verlauf der Lagerung ist wie erwartet eine Zunahme des Gehaltes an MDA und eine Abnahme der TEAC-Werte beobachtet worden.

Die Lagerstabilität des Fleisches lässt sich darstellen anhand des mikrobiellen Status, der sensorischen Eigenschaften (einschließlich der Farbe), des Gehaltes an Metmyoglobin, des Gehaltes an MDA, der Konzentration leichtflüchtiger Verbindungen (Hexanal) und seiner oxidativen Stabilität. In den meisten Veröffentlichungen werden zur Beurteilung der Lagerstabilität die Konzentrationen an TBARS bzw. MDA, die verschiedenen Farbwerte und/oder der Gehalt an Metmyoglobin angegeben.

Zum Nachweis eines eventuell positiven Einflusses auf den mikrobiellen Status in Rindfleisch (*musculus gluteus medius*) wurde dieser in Fleisch von Rindern („Simmental“ = „Deutsches Fleckvieh“), deren Futter mit 500 mg α-Tocopherylacetat/ Tier und Tag) angereichert worden war, mit dem im Muskelfleisch von Rindern verglichen, die keine erhöhte Zulage an Vitamin E im Futter erhielten (BUYS et al., 2000). Weder in der Zusammensetzung noch in der Gesamtheit der Bakterienflora konnten signifikante Unterschiede im Muskelfleisch zwischen den beiden Fütterungsgruppen festgestellt werden.

CABEDO et al. (1998) stellten zuvor an Ochsen einen Einfluss der Supplementierung des Futters mit Vitamin E auf die Gesamtkeimzahl in hieraus hergestelltem Hackfleisch fest. Ochsen (Kreuzung aus „Angus“, „Hereford“ und „Saler“) wurden nach dem Weidegang für 100 Tage mit MS, Mais sowie einer Mineralstoff- und Vitaminmischung gemästet, wobei die tägliche Menge an supplementiertem Vitamin E (als *all-rac*-α-Tocopherylacetat) im Futter 0, 1000 bzw. 2000 IE/Tier betrug. Bei normaler Kühllagerung (4 °C) zeigte sich ab dem zweiten Tag bis zum einschließlich achten Tag ein signifikanter ($p < 0.05$) Rückgang der Gesamtkeimzahl in den Proben der Tiere, die mit dem Futter erhöhte Mengen α-Tocopherol aufgenommen hatten.

Somit ist ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der mikrobiellen Belastung und einer protektiven Wirkung des α-Tocopherols im Fleisch nicht geklärt. Die beobachteten Unterschiede scheinen trotz der statistischen Signifikanz eher zufällige Ergebnisse darzustellen, zumal eine antimikrobielle Wirkung des α-Tocopherols bisher nicht beschrieben worden ist.

Vergleichbare Daten über die zeitliche Entwicklung der TEAC-Werte sind nicht vorhanden, so dass eine Diskussion der TEAC-Werte, die im Verlauf des Lagerungsversuches gemessen wurden, nicht möglich ist. Die Werte sind vom Betrag vergleichbar mit denen, die für die Fleischextrakte der beiden Fütterungsversuche ermittelt wurden, und werden somit als valide betrachtet. Die Entwicklung der TEAC-Werte der im Kühlschrank gelagerten Proben ist zudem nicht so eindeutig, wie zum Zeitpunkt der Versuchsplanung erwartet. Zwar verringert sich der TEAC-Wert im Laufe der Zeit, diese Abnahme ist jedoch weitaus geringer als vermutet und korreliert nicht unmittelbar mit der Zunahme des Gehaltes an MDA.

Als Einflussfaktoren für die Bildung von MDA gelten verschiedene Parameter wie die Zellintegrität, der Gehalt an Antioxidantien und die Lagerungsumgebung (Sauerstoffanteil und Temperatur). Meistens korrelieren die Gehalte an TBARS und Metmyoglobin (MITSUMOTO et al., 1998, 1991c; SAHOO und ANJANEYULU, 1997a; ARNOLD et al., 1993a; LIU et al., 1996b). Auch die sensorischen Eigenschaften (Geruch und Geschmack) korrelieren mit dem Gehalt an TBARS (GRAY et al., 1996; FERNANDEZ et al., 1997). Ab TBARS-Werten von 0.35 bis 2.0 mg MDA/kg sind oxidativ bedingte Aromaveränderungen feststellbar, geschulte Sensorik-Prüfer können bereits ab TBARS-Werten von 0.1 mg MDA/kg einen ranzigen Geschmack wahrnehmen (LANARI et al., 1995). Beim Vergleich der TBARS-Werte und der Gehalte an Metmyoglobin ist dessen unterschiedlicher Gehalt in den verschiedenen Muskelarten zu berücksichtigen (ARNOLD et al., 1993a). Eine Supplementierung des Futters mit Vitamin E führt in allen von CHAN et al. (1996) untersuchten Muskelarten (*musculus psoas major*, *musculus gluteus medius* und *musculus logissimus lumborum*) zu einer verringerten Metmyoglobinbildung, bei einer nicht beeinflussten mikrobiellen Belastung (Beobachtungszeitraum: 12 Tage).

Die Integrität der Zellmembranen wird durch α-Tocopherol stabilisiert. Hierin ist die geringere MDA-Bildung bei den Tieren begründet, die in Folge einer Futtersupplementierung vermehrt α-Tocopherol in die Zellmembranen eingelagert haben. Durch die Einlagerung des Antioxidans in die Zellmembranen ist ein Schutz der PUFA-reichen Membran-PL vor Oxidation während der Lagerung gewährleistet (MONAHAN et al., 1994; SMITH et al., 1996).

FAUTMAN et al. (1998) lagerten Fleisch, welches von Ochsen („Holstein-Friesian“) stammte, deren Futter 125 Tage mit 200 oder 500 mg α-Tocopherylacetat pro Tag supplementiert wurde, unter kontrollierten Bedingungen (1 % Sauerstoff, 4 °C). Hierbei stellten sie einen von der Menge des Futtersupplementes (200 bzw. 500 mg α-Tocopherylacetat/Tag) aber in seinem Ausmaß von der Menge des täglich mit dem Futter aufgenommenen α-Tocopherylacetates abhängigen Anstieg der TBARS nach 12 Tagen fest.

Im Rahmen eines ähnlichen Fütterungsversuches mit Ochsen („Holstein-Friesian“) zeigten sich im Wesentlichen Unterschiede zwischen der Lagerung (tiefgefroren, -20 °C) unter aeroben Bedingungen und der Vakuum-Verpackung. Die Rinder erhielten 126 Tage lang täglich kein bzw. 2100 IE α-Tocopherylacetat pro Tier und Tag.

Vor der Verpackung wurde das Fleisch 48 Stunden bei 4 °C mit kaltem Fluoreszenz-Licht bestrahlt (LANARI et al., 1994). Nach 85 Tagen der Tiefkühllagerung konnte ein hoch signifikanter Unterschied ($p < 0.01$) zwischen den TBARS-Werten im Fleisch der Kontroll-Tiere (1.5 - 2.3 mg MDA/kg) und der Tiere, die mit dem Futter eine hohe Dosierung an α-Tocopherol aufnahmen, (0.3 mg MDA/kg) festgestellt werden. Die Lagerung unter Vakuum führte ebenfalls zu einer erhöhten oxidativen Stabilität (nach Fütterung unsupplementierten Futters: 1.7 mg MDA/kg; nach Fütterung mit α-Tocopherol angereicherten Futters: 0.3 mg MDA/kg).

Den Einfluss der Reifungsbedingungen untersuchten LANARI et al. (1995) ebenfalls an Ochsen („Holstein-Friesian"), deren Futter mit unterschiedlichen Zulagen an α-Tocopherol versetzt worden war. In dem zugrunde liegenden Fütterungsversuch erhielten die Tiere neben Mais und MS für die Dauer von 105 Tagen entweder kein oder 620 IE *all-rac*-α-Tocopherylacetat pro Tier und Tag in Form einer Futtersupplementierung. Nach der Schlachtung wurde das Fleisch entweder an normaler Umgebungsluft oder 100 % Sauerstoff für 1, 6 oder 48 Stunden bei 4 °C gelagert, bevor es schließlich vakuum-verpackt wurde. Die Lagerung erfolgte über einen Zeitraum von 153 Tagen bei -20 °C, wobei die Proben mit kaltem Fluoreszenz-Licht bestrahlt wurden. Die Supplementierung der Futterrationen mit α-Tocopherol führte zu einer hoch signifikanten ($p < 0.01$) Verringerung der TBARS-Werte. Bei den Kontroll-Tieren konnte ein deutlicher Anstieg von 0.1 bis 0.3 mg MDA/kg (Tag 0) auf 0.3 bis 0.4 mg MDA/kg (Tag 153) nachgewiesen werden, der bei den mit supplementiertem Futter gemästeten Tieren weitaus geringer ausfiel (Tag 0: 0.02 - 0.1 mg MDA/kg; Tag 153: 0.1 - 0.2 mg MDA/kg). Eine Lagerung für 6 bzw. 48 Stunden unter Sauerstoff führte allerdings dazu, dass die protektive Wirkung des α-Tocopherols in dem Muskelgewebe der mit angereichertem Futter gefütterten Tiere unterdrückt wird. Die TBARS-Werte lagen für diese Proben bei 0.3 bis 0.4 mg MDA/kg und unterschieden sich nicht signifikant von den MDA-Gehalten der Kontroll-Tiere.

Ausführlichere Untersuchungen über den Einfluss des Sauerstoffpartialdruckes während der Lagerung nahmen FORMANEK et al. (1998) vor. Sie lagerten Muskelproben (*musculus semimembranosus*), welches von Rindern stammte, die entweder pro Tier und Tag 20 mg oder 2000 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat erhalten hatten, über acht Tage im Kühlschrank bei 4 °C. Die Proben waren unter Vakuum, unter normalen aeroben Bedingungen oder unter Sauerstoffanteilen von 30 %, 50 % bzw. 80 % verpackt. Im Beobachtungszeitraum sank der Gehalt an TBARS in den unter Vakuum gelagerten Proben von 0.8 auf 0.4 mg MDA/kg. Bei Lagerung unter normal aeroben Bedingungen wurden 2.3 bis 3.0 mg MDA/kg (niedrige α-Tocopherol-Dosierung im Futter) bzw. 1.4 bis 1.8 mg MDA/kg (hohe α-Tocopherol-Dosierung im Futter) gemessen. Die erhöhten Sauerstoffanteile bewirkten MDA-Gehalte von 2.1 bis 5.6 mg MDA/kg (niedrige Dosis der Futtersupplementierung) bzw. 1.7 bis 4.9 mg MDA/kg (hohe Dosierung des Futtersupplementes). Eine gesteigerte Farbstabilität konnte nur bei den vakuum-verpackten Proben bis zum sechsten Tag beobachtet werden, wobei kein Unterschied zwischen den beiden Fütterungsgruppen feststellbar war.

Die Auswirkung einer sehr hoch dosierten Kurzzeitsupplementierung auf die oxida-

tive Stabilität und die Bildung von Metmyoglobin in Muskelfleischproben (*musculus psoas major*, *musculus longissimus thoracis*) von Ochsen („Japanese Black“) wurde von MITSUMOTO et al. (1998) beschrieben. Die Tiere erhielten täglich über zehn Tage jeweils 5000 mg *all-rac*-α-Tocopherol. Nachdem die Tiere geschlachtet wurden, wurden Proben der aufgeführten Muskelpartien abgetrennt, vakuum-verpackt und bei 1 °C gekühlt gelagert. Neben Unterschieden in den Gehalten an TBARS zwischen den verschiedenen Muskelarten traten im Wesentlichen Unterschiede zwischen den mit angereichertem Futter gemästeten Tieren und den Kontroll-Tieren auf. In den Muskeln der Kontroll-Tiere wurden durchschnittlich 1.5 mg MDA/kg bestimmt, während die Gewebeproben in Folge der Anreicherung mit α-Tocopherol im Mittel 0.6 mg MDA/kg enthielten. Im Verlauf der Lagerung konnte in den Muskelproben unabhängig von einer Futtersupplementierung ein deutlicher Anstieg der TBARS-Werte beobachtet werden, die von 0.2 mg MDA/kg (Tag 1) auf 2.5 mg MDA/kg (Tag 10, ohne Anreicherung des Futters mit α-Tocopherol) bzw. 0.9 mg MDA/kg (Tag 10, Mast unter Verwendung mit α-Tocopherol supplementierten Futters) anstiegen. Am Ende des Lagerungsversuches (Tag 10) bestand zwischen den TBARS-Werten der beiden Fütterungsgruppen ein sehr hoch signifikanter ($p < 0.001$) Unterschied. Zusätzlich zeigten die Muskelproben der mit supplementierten Rationen gefütterten Tiere abhängig von der Art des Muskels und der Lagerungsdauer einen geringeren Tropfverlust und eine höhere Farbstabilität.

Die unterschiedliche Entwicklung der TBARS-Werte in verschiedenen Muskelpartien von Ochsen („Holstein-Friesian“ sowie Kreuzung aus „Angus“, „Hereford“ und „Charolais“) zeigten ARNOLD et al. (1993a). Das Fleisch stammte von Rindern einer Kontrollgruppe, einer Gruppe, die täglich 500 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat erhielt, und einer Gruppe, deren Tagesdosis 2000 mg *all-rac*-α-Tocopherolacetat betrug. Besondere Beachtung fand bei diesen Untersuchungen die Dauer der Fleischreifung, die entweder über sieben oder über 21 Tage durchgeführt wurde. Im Falle der Kurzzeitreifung (sieben Tage) wurden in den Proben der Kontroll-Tiere nach vier Tagen signifikant ($p < 0.05$) ansteigende TBARS-Werte deutlich, wobei zwischen den beiden beiden Fütterungsgruppen, die supplementiertes Futter erhielten, nur geringfügige Unterschiede erkennbar waren. Die Reifung über einen Zeitraum von 21 Tagen erbrachte zunächst unterschiedliche TBARS-Ausgangswerte, die im *musculus gluteus medius* höher waren als im *musculus longissimus lumborum*. Zusätzlich erwies sich der Anstieg der TBARS-Werte im *musculus gluteus medius* in Abhängigkeit von der Zeit als größer. Während in den Muskelproben der Kontroll-Tiere spätestens nach drei Tagen ein signifikanter Anstieg der TBARS-Werte feststellbar war, erwiesen sich die Proben der beiden anderen Fütterungsgruppen (angereichertes Futter) über einen Zeitraum von zwölf Tagen als stabil. Unterschiedliche Keimbelastungen wurden in den verschiedenen Proben nicht festgestellt.

Ein signifikanter Anstieg der TBARS-Werte am vierten Untersuchungstag im Vergleich zum ersten ergab sich auch in einem früheren Fütterungsversuch mit Ochsen („Holstein-Friesian“ und Kreuzung) (MITSUMOTO et al., 1991c). Die Tiere erhielten neben Mais und MS 1200 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat über einen Zeitraum von 38

bis 67 Tagen. Im untersuchten Muskelgewebe (MLD) zeigten sich stets Parallelen zwischen den TBARS-Werten und den Gehalten an Metmyoglobin. Diese erwiesen sich als abhängig von der Rasse der Rinder und zeigten einen stetigen Anstieg im gesamten Beobachtungszeitraum (16 Tage). Sehr hoch signifikant unterschieden sich die Konzentrationen an TBARS der Proben von mit angereichertem Futter gefütterten Tieren (0.2 mg MDA/kg) und von Kontroll-Tieren (1.3 mg MDA/kg).

Ähnliche Ergebnisse erhielten MITSUMOTO et al. (1993) in Proben des *musculus longissimus lumborum* von Ochsen („Holstein-Friesian“), deren Futter für 232 bzw. 252 Tage entweder mit 80 oder 1500 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat ergänzt wurde. Parallel führten MITSUMOTO et al. (1993) einen Versuchsansatz durch, in dem sie post mortem zu dem zerkleinerten Fleisch die äquivalente Menge α-Tocopherol zugaben. Während sich die Anreicherung des α-Tocopherols im Gewebe in Folge der Futtersupplementierung als sehr effektiv erwies, zeigte sich bei den Proben, denen das Antioxidans post mortem zugesetzt wurde, nur ein schwacher positiver Effekt.

Ochsen (Kreuzung aus „Angus“, „Hereford“ und „Saler“), die täglich mit 1000 bzw. 2000 IE *all-rac*-α-Tocopherylacetat pro Tier supplementiertes Futter erhielten, lieferten die Proben eines weiteren Lagerungsversuches, in dem die vakuum-verpackten Proben nach 40, 60, 80 bzw. 100 Tagen auf ihren Gehalt an TBARS untersucht wurden (SANDERS et al., 1997). Die Lagerung erfolgte bei 0 bis 2 °C. Während erneut unterschiedliche TBARS-Werte in den verschiedenen Muskeln festgestellt wurden, konnte kein Einfluss auf das mikrobielle Wachstum nachgewiesen werden. Die TBARS-Werte der Kontroll-Tierproben erwiesen sich zu jedem Prüfzeitpunkt als höher im Vergleich zu den Proben der mit supplementiertem Futter gemästeten Rinder. Die TBARS-Werte der letztgenannten waren im Gegensatz zu denen der Kontroll-Tierproben über einen Tag konstant, bevor ein Anstieg feststellbar war. Die jeweiligen Ausgangswerte der Konzentration an TBARS nach Beendigung der Lagerung waren nicht signifikant unterschiedlich. Innerhalb von sieben Tagen Lagerung unter Kühlschrankbedingungen stiegen die TBARS-Werte dann von 0.3 mg MDA/kg auf 1.7 mg MDA/kg (Proben der Tiere ohne Futtersupplementierung) bzw. 0.8 mg MDA/kg (Proben der Tiere, deren Futter mit *all-rac*-α-Tocopherylacetat angereichert wurde) an.

Eine parallele Entwicklung der Gehalte an Metmyoglobin und TBARS stellten SAHOO und ANJANEYULU (1997c) in speziell präpariertem Büffel-Hackfleisch fest. Dieses wurde mit *all-rac*-α-Tocopherylacetat in Endkonzentrationen von 0 bis 12.5 mg/kg versetzt und bei 4 °C gekühlt gelagert. Eine Konzentration von 10 mg/kg erwies sich als wirksam, einerseits die Bildung von TBARS und Metmyoglobin signifikant zu unterdrücken, andererseits die Farbe („rot“ und „gelb“) über einen längeren Zeitraum im Vergleich zu den Kontrollproben zu stabilisieren. Die TBARS-Werte stiegen in den Kontrollproben von 0.4 auf 1.3 mg MDA/kg nach zwölf Tagen an, während ein entsprechender Zusatz von α-Tocopherol (10 ppm) TBARS-Werte von 0.3 (Ausgangswert) bis 1.0 mg MDA/kg (nach zwölf Tagen) bewirkt.

Der Gehalt an TBARS im *musculus longissimus lumborum* schwankte in den von LIU

et al. (1996b) durchgeführten Untersuchungen zwischen 0.3 und 7.4 mg MDA/kg und konnte als eine quadratische Funktion des entsprechenden Gehaltes an α-Tocopherol dargestellt werden. Die Proben stammten von Ochsen („Holstein-Friesian"), deren tägliche Futterrationen über einen Zeitraum von 42 bzw. 126 Tagen mit 250, 500 oder 2000 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat supplementiert wurden. Wie zuvor von anderen Autoren wurden auch von LIU et al. (1996b) Unterschiede in den TBARS-Werten in Abhängigkeit der untersuchten Muskel festgestellt, wobei sich der *musculus semimembranosus* als am stabilsten erwies.

Vakuum-verpacktes Lammfleisch, welches fünf Monate bei -20 °C gelagert wurde, zeigte gegenüber normal gekühltem, frischem Lammfleisch keine wesentlichen Unterschiede. GUIDERA et al. (1997) verglichen unter den genannten Bedingungen verschiedene Muskelpartien (MLD, *musculus gluteus medius* und *musculus psoas major*) auf ihre TBARS-Werte, wobei die Fleischproben von Tieren stammten, die entweder 20 mg oder 1000 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat pro kg Futter erhielten. Bei den Proben der Tiere, deren Futter mit der hohen Dosierung angereichert war, wurde eine erhöhte Farbstabilität des Fleisches und eine verringerte Metmyoglobinbildung festgestellt. Außerdem zeigten sich deutliche Unterschiede in den TBARS-Werten der verschiedenen Muskeltypen. Im MLD der Tiere, welche mit den in niedriger Dosis supplementierten Rationen gefüttert worden waren, konnte in den frischen, bei 4 °C gekühlt gelagerten Proben nach drei Tagen ein signifikanter Anstieg ($p < 0.05$) der TBARS-Werte verglichen mit dem Ausgangswert festgestellt werden, während im *musculus psoas major* nur ein leichter Anstieg der TBARS-Werte nach drei Tagen vorlag. Bei den tiefgefrorenen Proben zeigt sich der Unterschied zwischen den Muskeln noch deutlicher als bei den frischen Proben, da bei den erstgenannten eine partielle Zerstörung der Zellstruktur eingetreten war. Nach dem Auftauen der Proben wiesen diese, wenn sie von Tieren stammten, die zu der Fütterungsgruppe mit der niedrigeren Ration supplementierten *all-rac*-α-Tocopherylacetates gehörten, TBARS-Werte von 2.0 mg MDA/kg (*musculus gluteus medius*), 0.8 mg MDA/kg (MLD) bzw. 0.4 mg MDA/kg (*musculus psoas major*) auf. Bei weiterer Lagerung im Kühlschrank stiegen diese Werte innerhalb von sechs bis sieben Tagen auf 5.0, 3.8 bzw. 1.2 mg MDA/kg an. In den Muskelproben der hoch supplementierten Lämmer erwiesen sich die TBARS-Werte als nahezu konstant. Im frischen Fleisch stiegen die Werte in geringem Ausmaße von 0.1 auf 0.9 mg MDA/kg nach sieben Tagen an. Die tiefgefrorenen Proben wiesen sogar nur Werte zwischen 0.1 und 0.3 mg MDA/kg nach dem Auftauen auf.

Bei Schweinefleisch führte eine Futtersupplementierung mit 100 bzw. 200 mg α-Tocopherylacetat/kg Futter nach 2, 4, 6 bzw. 8 Tagen im Kühlschrank zu geringeren TBARS-Werten als in Fleisch von Tieren, die 10 mg α-Tocopherylacetat/kg Futter erhielten (MORRISSEY et al., 1998). CANNON et al. (1996) berichten ebenfalls von signifikant niedrigeren TBARS-Werten in Schweinefleisch von Tieren, die über einen längeren Zeitraum (fast drei Monate) eine Diät mit 100 mg Vitamin E erhielten, im Vergleich zu Proben, die von mit nicht angereichertem Futter gemästeten Schweinen stammten.

Im Vergleich zu den Ergebnissen im Rindfleisch sind die von SHAHIDI et al. (1993) beschriebenen MDA-Gehalte in gekochtem Schweinehackfleisch deutlich höher. In diesen Fällen sind die technologisch bedingten Veränderungen der FA aber auch die ohnehin unterschiedlichen Fettgehalte und Fettsäurezusammensetzungen von Schweinen und Rindern zu berücksichtigen. SHAHIDI et al. (1993) setzten post mortem 30 bzw. 200 mg/kg α-Tocopherol oder 500 mg/kg L-Ascorbinsäure zu und bestimmten in festgelegten Zeitabständen die TBARS-Werte. Nach einem Tag betrugen diese bei den Kontroll-Proben 2.7 mg MDA/kg, bei dem mit 30 mg/kg α-Tocopherol versetzten Hackfleisch 0.8 mg MDA/kg, bei den 200 mg/kg α-Tocopherol enthaltenden Hackfleischproben 0.4 mg MDA/kg und bei den mit L-Ascorbinsäure versetzten Schweinehack 0.6 mg MDA/kg. Spätestens nach sieben Tagen wurde ein signifikanter Anstieg der TBARS-Werte aufgezeigt, wobei die Werte bei den Kontroll-Proben bis 7.4 mg MDA/kg anstiegen, während der Zusatz von α-Tocopherol oder L-Ascorbinsäure zu geringeren Werten (3.0 - 4.6 mg MDA/kg) führte.

MONAHAN et al. (1994) bestimmten die TBARS-Werte in Schweinefleisch eines speziellen Fütterungsversuches, der neben den Kontroll-Tieren eine Fütterungsgruppe mit einer täglichen Dosis von 200 mg *all-rac*-α-Tocopherylacetat pro kg Futter beinhaltete. Die Muskelproben wurden eingefroren über einen Zeitraum von drei Monaten gelagert und nach dem Auftauen an unterschiedlichen Tagen untersucht. Bereits nach zwei Tagen im Kühlschrank bestand ein signifikanter Unterschied in den TBARS-Werten der Muskelproben im Vergleich der beiden Fütterungsgruppen. In den Proben der Tiere, die mit dem Futter erhöhte Mengen *all-rac*-α-Tocopherylacetat aufnahmen, konnte innerhalb von acht Tagen kein signifikanter Anstieg der TBARS-Werte gezeigt werden.

Um eine signifikante Verlängerung der Farbstabilität zu erreichen, sind Mindestgehalte von 1.2 mg α-Tocopherol/kg notwendig (LIU et al., 1995). Einer Berechnung von LIU et al. (1995) zufolge belaufen sich die Kosten einer täglichen Supplementierung des Futters mit 500 IE Vitamin E über einen Zeitraum von 126 Tagen auf drei US-Dollar pro Tier. Eine andere Kalkulation, die eine Futterergänzung mit ebenfalls 500 IE pro Tier und Tag für 100 Tage vorsah, ergab einen Betrag von 1.43 US-Dollar pro Tier (SMITH et al., 1996). Berechnet auf Basis der entsprechenden Preise des Jahres 1994 werden die Kosten für eine Futtersupplementierung mit α-Tocopherylacetat in einem Umfang von 500 IE/Tag über einen Zeitraum von 100 Tagen mit $ 1.5 pro Tier angegeben (MCDOWELL et al., 1996).

Die im Rahmen des Lagerungsversuches erhaltenen Ergebnisse stehen sowohl bezüglich der temporären als auch der quantitativen Entwicklung in sehr gutem Einklang mit den in der Literatur veröffentlichten Daten. Die eigenen Daten bestätigen den wesentlichen Einfluss der Zellintegrität und der Umgebung (Vakuum). Bei sofortiger Analyse der Proben nach dem Auftauvorgang spielt die Zellintegrität, die beim Gefriervorgang maßgeblich verändert bzw. zerstört wurde, allerdings eher eine untergeordnete Rolle. Mit den Ergebnissen des Lagerungsversuches kann zudem bestätigt werden, dass eine Lagerung über einen Zeitraum von 113 Tagen keine signifikant erhöhten MDA-Gehalte bedingt.

9 Zusammenfassung - Summary

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß der natürlich vorkommenden antioxidativ wirksamen Substanzen α-Tocopherol, β-Carotin und L-Ascorbinsäure auf ausgewählte Qualitätsparameter von Rindfleisch beurteilt.

Vor den Untersuchungen an Muskel-, Leber- und Nierenfettgewebe bzw. Blutplasma wurden geeignete Methoden zur Bestimmung der Gehalte an Antioxidantien (α-Tocopherol, β-Carotin und Retinol) entwickelt, optimiert und validiert. Weiterhin wurden Methoden zur Bestimmung der Fettsäureverteilung und zur Fraktionierung der Gesamtlipide in die einzelnen Lipidfraktionen sowie zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität und zur Bestimmung des Gehaltes an MDA im Muskelgewebe und Blutplasma entwickelt bzw. optimiert.

α-Tocopherol, β-Carotin und L-Ascorbinsäure sind natürlicherweise in den verschiedenen Rauhfutterarten (GS, MS und Weide) enthalten. Bei den betrachteten Tierfütterungsversuchen wurden die drei aufgeführten antioxidativ wirksamen Substanzen bedarfsübersteigend als Futtersupplemente eingesetzt. Dabei werden die beiden fettlöslichen Antioxidantien vorzugsweise in den Membranen der verschiedenen Gewebe eingelagert und im Fettgewebe akkumuliert, während die L-Ascorbinsäure als wasserlösliches Antioxidans nicht gespeichert wird. Die Einlagerung der Antioxidantien in die Membranen ermöglicht eine Wirkung am wesentlichen Initiierungsort der Lipidoxidation.

Die beiden durchgeführten **Fütterungsversuche** sollten zeigen, inwiefern

(a) ein Übergang der fettlöslichen Antioxidantien in die verschiedenen Gewebe und in das Blutplasma erfolgt,
(b) eine Supplementierung des Futters mit Antioxidantien und/oder eine Mast auf Basis verschiedener Rauhfutterarten zu Veränderungen der Fettsäuremuster in den Geweben, im Plasma bzw. in den Lipidfraktionen der hieraus extrahierten Gesamtlipide führt,
(c) die Plasmalipide bzw. die im zum Verzehr geeigneten Muskelfleisch enthaltenen Lipide in Folge der Anreicherung mit Antioxidantien vor oxidativer Schädigung geschützt werden,
(d) Synergismen hinsichtlich der Wirkung verschiedener Futtersupplemente zu erkennen sind.

Die Gehalte an α-Tocopherol und β-Carotin in den verschiedenen Gewebeproben und im Plasma korrelierten sehr gut mit den entsprechenden Konzentrationen dieser Antioxidantien im Grundfutter. Besonders in Grünfutter (GS und Weidegras) sind diese Substanzen in hohen Konzentrationen enthalten, während MS verhältnismäßig geringe Mengen an α-Tocopherol und β-Carotin aufweist. Die Konzentrationen an α-Tocopherol und β-Carotin waren in den Proben der GS-Tiere um den Faktor zwei bis drei gegenüber denen der MS-Tiere erhöht. Weitaus größer waren die Unterschiede in den Gehalten zwischen Weidetieren und MS-Tieren (Färsen).

Eine Futtersupplementierung mit α-Tocopherol bzw. β-Carotin führte nur bei den MS-Tieren zu einem signifikanten Anstieg der jeweiligen Konzentration an Antioxidans in den Proben, während eine weitere Erhöhung der Gehalte an Antioxidantien bei den GS T- und GS C-Jungbullen im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht beobachtet werden konnte.

Veränderungen der Fettsäuremuster in Abhängigkeit der Futtersupplementierung mit den drei verschiedenen Antioxidantien konnten im Rahmen der durchgeführten Studien nicht festgestellt werden.

In nahezu allen untersuchten Lipidfraktionen und PL-Unterfraktionen führte jedoch das Grundfutter zu signifikanten Veränderungen der Fettsäuremuster, die sich in erhöhten Gehalten an n-3-PUFA in den Proben der GS- und Weidetiere bzw. entsprechend höheren Anteilen der n-6-PUFA in Folge der Fütterung von MS äußerten. Die größten Unterschiede in den Konzentrationen der einzelnen PUFA wurden bei α-Linolen-, Docosahexaen-, Eicosapentaen-, Linol- und Arachidonsäure beobachtet.

Eine Beeinflussung der antioxidativen Kapazität des Plasmas bzw. der Muskelextrakte nach Aufnahme von mit Antioxidantien angereichertem Futter konnte nicht beobachtet werden. Wahrscheinlich besitzen auch andere Substanzen eine Wirkung in dem TEAC-Testsystem, die die von α-Tocopherol, β-Carotin und L-Ascorbinsäure ausgehende Schutzwirkung überragen. Synergismen wurden ebenfalls nicht beobachtet.

MDA als sekundäres Lipidoxidationsprodukt dient als Marker für den Grad der oxidativen Schädigung der PUFA, welche mindestens drei Doppelbindungen aufweisen. Während die absoluten Gehalte an MDA in den Muskelproben und im Plasma der Jungbullen keine eindeutigen Tendenzen zeigten, wiesen die Muskelproben der MS T-Färsen und der Weidetiere deutlich geringere MDA-Konzentrationen auf als die Kontrolltiere. Dagegen wiesen die Plasmaproben der Weidetiere signifikant höhere MDA-Gehalte auf als die Kontrolltiere.

Eine mögliche Ursache sind die verschiedenen Anteile der PUFA am gesamten Fettsäuremuster. Besonders die Anteile der n-3- und der n-6-PUFA unterschieden sich in Abhängigkeit vom Basisfutter. In Relation zu seinen möglichen Precursoren (n-3-PUFA) war ein signifikanter Rückgang der MDA-Gehalte mit steigenden Konzentrationen an α-Tocopherol in den Geweben und im Plasma feststellbar. Die Proben der GS-Jungbullen wiesen weitaus geringere relative MDA-Gehalte auf als das Untersuchungsmaterial, welches von den MS-Jungbullen stammte.

Bedingt durch die im Grundfutter enthaltenen Antioxidantien wurde ein Anstieg der Konzentrationen an α-Tocopherol und β-Carotin in den Gewebeproben und im Plasma insbesondere bei den GS- und Weidetieren festgestellt. Gleichzeitig führte die Fütterung der GS bzw. die Weidemast zu größeren Anteilen der n-3-PUFA in den untersuchten Proben. Trotz eines erhöhten Anteils dieser leicht oxidierbaren n-3-PUFA erwiesen sich die Proben der GS- und Weidetiere als stabiler gegenüber der Lipidoxidation als die Proben der MS-Tiere. Eine Schutzwirkung der mit dem Futter

aufgenommenen und in den untersuchten Muskel- und Plasmaproben enthaltenen Antioxidantien konnte somit belegt werden.

Die Betrachtung der **Stereoisomerenverteilung des α-Tocopherols** beschränkte sich aus methodischen Gründen auf die vier 2*R*-Isomere, die in größerem Maße als die 2*S*-Isomere absorbiert und somit angereichert wurden.

Während keinerlei Unterschiede zwischen den relativen Anteilen dieser Stereoisomeren zwischen den Kontrollgruppen und den Weidetieren erkennbar waren, zeigten sich deutliche Unterschiede in den Verteilungsmustern der 2*R*-Isomere bei den Tieren, deren Futter mit *all-rac*-α-Tocopherylacetat ergänzt wurde. Bei den MS T-Tieren wurden Anteile des natürlich vorkommenden *RRR*-Isomers von ca. 40 % und entsprechende Anteile der anderen drei 2*R*-Isomere von jeweils ca. 20 % ermittelt, während die GS T-Jungbullen fast 70 % des *RRR*-Isomers und jeweils ca. 10 % der *RSS*-, *RRS*- und *RSR*-Isomere aufwiesen. Die jeweils erhöhten Anteile des *RRR*-Isomers sind auf die natürlichen Gehalte dieses Isomers im Rauhfutter zurückzuführen.

Die geringfügigen aber statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Anteilen der einzelnen 2*R*-Isomere im Muskelgewebe der MS T-Färsen und -Jungbullen sind vermutlich bedingt durch unterschiedliche Fettgehalte bei weiblichen und männlichen Rindern.

Gemeinsam mit dem absoluten Gehalt an α-Tocopherol ist durch die Untersuchung der Stereoisomerenverteilung möglicherweise eine Überprüfung des Marktes mit „Ökorindfleisch“ möglich, welches aufgrund des geforderten Weideganges lediglich das *RRR*-Isomer von α-Tocopherol enthalten sollte.

Als Beleg dafür, dass keine signifikanten Veränderungen in den MDA-Gehalten und der antioxidativen Kapazität im Verlauf der Lagerung der Muskelproben beider Tierfütterungsversuche eingetreten sind, wurde mit kommerziell erhältlichem frischen Roastbeef ein **Lagerungsversuch** durchgeführt, bei dem der Einfluss der Lagerungstemperatur und der Abwesenheit von Luft (Vakuum) untersucht wurden.

Die Verwendung dieses Rindfleisches stellte hinsichtlich der Gehalte an Antioxidantien den „worst case“ dar und war von seiner Oxidationsbereitschaft vergleichbar mit den Gewebeproben der MS K-Tiere.

Die TEAC-Werte erwiesen sich als deutlich weniger sensitiv im Vergleich zu der Entwicklung der MDA-Konzentrationen in den untersuchten Proben. Bereits nach vier Tagen zeigten sich signifikante Unterschiede in den MDA-Gehalten, die abhängig von der Umgebungstemperatur waren.

Die tiefgekühlten Proben zeigten im Verlauf der Lagerung über knapp vier Monate keine Veränderungen der antioxidativen Kapazitäten bzw. der MDA-Gehalte, so dass lagerungsbedingte Veränderungen bei Betrachtung der Ergebnisse der Tierfütterungsversuche nicht wahrscheinlich sind.

Summary

In the present paper, the influence of three naturally occuring antioxidants, α-tocopherol, β-carotene, and L-ascorbic acid on selected parameters of beef quality has been evaluated.

Before data of contents of antioxidants (α-tocopherol, β-carotene and retinol) have been recorded, suitable methods of determination had been developed, optimised, and validated. In the same manner, methods for the analysis of fatty acid patterns, fractionating of total lipids into subfractions, measurement of the antioxidative capacity, and methods for the determination of malondialdehyde in muscle tissue and plasma have been developed and optimized, respectively.

α-Tocopherol, β-carotene, and L-ascorbic acid are naturally present in different basic feeds (grass silage, maize silage, and pasture). In the present studies antioxidative substances mentioned above are used as feed-supplements exceeding the demand. Both two fat-soluble antioxidants are preferably incorporated in membranes of different tissues and accumulated in adipose tissue. As it is water-soluble, L-ascorbic acid is not stored in any tissue.

Incorporation of antioxidants in membranal structures makes an effect in the initial location of lipidoxidation possible.

The results of the two **feeding experiments** should show

(a) the extent of carry-over of fat-soluble antioxidants in different tissues and plasma,
(b) whether the supplementation of feed with antioxidants and/or feeding of different types of silage or pasture leads to changes of fatty acid patterns in tissues, plasma, and fractions of total lipids extracted,
(c) whether lipids in plasma and muscle tissues are protected effectively of oxidative damages as a result of tissue-accumulation with antioxidants,
(d) whether there are synergistic effects between different supplements.

Contents of α-tocopherol and β-carotene in all tissues and plasma-samples analysed are well correlated with the respective amounts of these antioxidants in the basic feed. Especially green feed (grass silage and pasture) contains high concentrations of these substances, whereas maize silage seems only being a poor source of antioxidants. In samples of animals fed with grass silage contents of α-tocopherol and β-carotene are two- to threefold higher than samples of young bulls fed with maize silage. Between heifers fed with pasture or maize silage the difference in contents of both α-tocopherol and β-carotene is much higher.

Only in animals fed maize silage, supplementation of α-tocopherol and β-carotene leads to a significantly higher concentration of these analytes in tissues and plasma. A comparable effect in samples of young bulls fed with grass silage supplemented with either α-tocopherylacetate or β-carotene did not occur when the results were compared to control animals.

In the present studies changes in fatty acid patterns in relation to feed-supplements with antioxidants mentioned above, have not been observed.

However, in nearly all lipid fractions and phospholipid subfractions analysed, changes in fatty acid profiles occured depending on the basic feed (grass silage, maize silage, or pasture). In samples derived from animals fed with pasture or with grass silage, contents of n-3-PUFA rised, whereas in tissues and plasma of animals fed with maize silage higher amounts of n-6-PUFA have been analysed. Largest differences in total PUFA-contents were due to a high variability in the respective amounts of α-linolenic, docosahexaenic, eicosapentaenic, linoleic, and arachidonic acid.

No influence on antioxidative capacity has been observed comparing the results of TEAC-values of plasma and muscle extracts of animals fed with supplemented feed and control animals. Probably, other substances in these samples show an effect in the TEAC-assay. So a protective activity of α-tocopherol, β-carotene, and L-ascorbic acid has been supercompensated by these substances. Synergistic effects have not been observed, too.

Malondialdehyde is a secondary lipid oxidation product. It is used as typical marker of oxidative damaged PUFA with at least three double bounds in their carbon chain. Absolutely, tissues (muscle), and plasma of young bulls showed no differences in the amounts of malondialdehyde in no feeding group. In heifers fed with α-tocopherol enriched feed and animals fed with pasture, concentration of malondialdehyde in muscle has been lower than in the respective tissue of control animals. In contrast plasma of heifers growing on pasture contained significantly higher amounts of malondialdehyde than plasma of control animals.

It might be possible, that different parts of PUFA in total fatty acid patterns are the reason of these facts observed. Especially n-3-PUFA and n-6-PUFA show a high variability depending on the basic feed. In relation to n-3-PUFA a significant decrease of malondialdehyde accompanied by increasing concentrations of α-tocopherol has been observed in muscle and plasma. Samples of animals fed grass silage showed much lower relative contents of malondialdehyde than material of young bulls fed with maize silage.

As there have been higher concentrations of antioxidants in grass silage and pasture, a significant increase of α-tocopherol and β-carotene in all tissues analysed and plasma occurred. Simultaneously, feeding of grass silage and pasture leads to an enrichment of n-3-PUFA in all samples analysed. Despite the fact that tissue and plasma of samples having their origin in animals fed with grass silage or pasture contain more n-3-PUFA, those lipids are protected more effectively of oxidative damages than samples derived from animals fed with maize silage. So a protective effect of antioxidants absorbed of feed and contained in muscle and plasma is proven.

Because of analytical difficulties only the **distribution of 2*R*-stereoisomers of α-tocopherol** has been investigated. These isomers are absorbed in a much higher extent than the 2*S*-isomeres leading to an enrichment of 2*R*-stereoisomers of α-tocopherol in muscle-tissues.

Between control groups (both maize silage and grass silage) and samples having their origin in animals growing on pasture, no differences in the relative amounts of 2*R*-stereoisomers have been observed. In contrast, significant differences in the distribution of 2*R*-isomeres occured, when animals got feed supplemented with *all-rac*-α-tocopherylacetate. Animals whose feed based on maize silage supplemented with synthetic α-tocopherylacetate, showed a relative amount of 40 % of the naturally occuring *RRR*-isomer, whereas each of the three other 2*R*-isomers contributed about 20 % to the total 2*R*-stereoisomers. The percentage of *RRR*-isomer in young bulls fed with *all-rac*-α-tocopherylacetate enriched grass silage has been nearly 70 % with *RSS*-, *RRS*-, and *RSR*-isomers contributing 10 %, each. The relative enrichment of *RRR*-isomer is due to the natural amounts of this stereoisomer in basic feed.

Probably, the minor but significant difference between the relative amounts of 2*R*-isomers in heifers and young bulls fed with maize silage (enriched with *all-rac*-α-tocopherylacetate) are referred to different contents of fat in female and male cattle.

In combination with absolute concentrations of α-tocopherol the analysis of its distribution of stereoisomers offers the possibility to control the public trade of organic beef. According to the directive, animals should be offered a maximum of pasture, so only the *RRR*-isomer must be found in these tissues.

To prove that during storage of muscle-samples of both two feeding experiments no significant alterations concerning the antioxidative capacity and concentrations of malondialdehyde have been arisen, a **study on shelf-life** with commercially available roastbeef has been performed. Whithin this experiment the influence of storage-temperature and the presence of oxygen has been investigated.

The use of commercially available beef provides the worst case looking at the contents of antioxidants. So the offer of these meat samples being oxidized are comparable to those of the control group of animals getting maize silage without any supplement.

Development of TEAC-values during storage has been less sensitive than the concentrations of malondialdehyde in all samples analysed. After four days a significant increase of malondialdehyde has been detected depending on the storage-temperature.

All samples stored frozen, neither show any significant change in TEAC-values nor in amounts of malondialdehyde during the storage-period of nearly four months. Concerning the feeding experiments, changes in antioxidative capacity and contents of malondialdehyde are not probable.

10 Literaturverzeichnis

AEBISCHER, C.-P., SCHIERLE, J., SCHÜEP, W. (1999): Simultaneous determination of retinol, tocopherols, carotene, lycopene, and xanthophylls in plasma by means of reversed-phase high-perfomance liquid chromatography, *Methods Enzymol.* 299, 348-362

AHMAD, J. I. (1996): Free radicals and health: Is vitamin E the answer?, *Food Sci. Technol. Today* 10, 147-152

AJUYAH, A. O., AHN, D. U., HARDIN, R. T., SIM, J. S. (1993): Dietary antioxidants and storage affect chemical characteristics of ω-3 fatty acid enriched broiler chicken meats, *J. Food Sci.* 58, 43-46

ALLEN, C. E., FOEGEDING, E. A. (1981): Some lipid characteristics and interactions in muscle foods - a review, *Food Technol.* 35, 253-257

ARITA, M. (1995): Human α-tocopherol transfer protein: cDNA cloning, expression and chromosomal localization, *Biochem. J.* 306, 437-443

ARNAUD, J., FORTIS, I., BLACHIER, S., KIA, D., FAVIER, A. (1991): Simultaneous determination of retinol, α-tocopherol and β-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 572, 103-116

ARNOLD, R. N., ARP, S. C., SCHELLER, K. K., WILLIAMS, S. N., SCHAEFER, D. M. (1993b): Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef, *J. Anim. Sci.* 71, 105-118

ARNOLD, R. N., SCHELLER, K. K., ARP, S. C., WILLIAMS, S. N., SCHAEFER, D. M. (1993a): Dietary α-tocopherol acetate enhances beef quality in Holstein and beef breed steers, *J. Food Sci.* 58, 28-33

ASHES, J. R., SIEBERT, B. D., GULATI, S. K., CUTHBERTSON, A., SCOTT, T. W. (1992): Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil tissue and serum Lipids of rumiants, *Lipids* 27, 629-631

ASHGAR, A., GRAY, J. I., BOOREN, A. M., GOMAA, E. A., ABOUZIED, M. M., MILLER, E. R., BUCKLEY, D. J. (1991): Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcelluar deposition of α-tocopherol in the muscle and on pork quality., *J. Sci. Food Agric.* 57, 31-41

AUBERT, M.-C., LEE, C. R., KRSTULOVIC, A. M, LESELLIER, E., PECHARD, M.-R., TCHAPLA, A. (1991): Separation of trans/cis-α- and -β-carotenes by supercritical fluid chromatography, I. Effects of temperature, pressure and organic modifiers on the retention of carotenes, *J. Chromatogr.* 557, 47-58

AUGUSTINI, C., SCHWARZ, F. J., KIRCHGEßNER, M. (1998): Qualitätsverbesserung von Rindfleisch nach Vitamin E-Zulagen in der Endmast von Jungbullen - 2. Fleischfarbe, Fettstabilität und Wasserbindung, *Fleischwirtsch.* 78, 208-217

AUGUSTINI, C., TEMISIAN, V. (1986): Einfluß verschiedener Faktoren auf die Schlachtkörperzusammensetzung und Fleischqualität bei Jungbullen, *Fleischwirtsch.* 66, 1273-1280

BAKER, D. L., KROL, E. S., JACOBSEN, N., LIEBLER, D. C. (1999): Reactions of β-carotene with cigarette smoke oxidants. Identification of carotenoid oxidation products and evaluation of the prooxidant/antioxidant effect, *Chem. Res. Toxicol.* 12, 535-543

BALDI, A., BONTEMPO, V., CHELI, F., CARLI, S., ROSSI, C. S., DELL'ORTO, V. (1997): Relative bioavailability of vitamin E in dairy cows following intraruminal administration of three different preparations of DL-α-tocopheryl acetate, *Vet. Res.* 28, 517-524

BARUA, A. B., KOSTIC, D., OLSON, J. A. (1993): New simplified procedures for the extraction and simultaneous high-performance liquid chromatographic analysis of retinol, tocopherols and carotenoids in human serum, *J. Chromatogr.* 617, 257-264

BEHRENS, W. A., MADÈRE, R. (1991a): Malondialdehyde determination in tissues and biological fluids by ion-pairing high performance liquid chromatography, *Lipids* 26, 232-236

BEHRENS, W. A., MADÈRE, R. (1991b): Tissue discrimination between dietary RRR-α- and all-rac-α-tocopherols in rats, *J. Nutr.* 121, 454-459

BEN-AZIZ, A., GROSSMANN, S., ASCARELLI, I, BUDOWSKI, P. (1971): Linoleate oxidation induced by lipoxygenase and heme proteins: A direct spectrophotometric assay, *Anal. Biochem.* 34, 88-100

BENDICH, A. (1989): Carotenoids and the immune response, *J. Nutr.* 119, 112-115

BENZIE, I. F. F., STRAIN, J. J. (1999): Ferric reducing/ antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, *Methods Enzymol.* 299, 15-27

BERK, A., ROSENBAUER, H., MANCINI, V., VEMMER, H., SCHAARMANN, G., FLACHOWSKY, G. (1998): Einfluß unterschiedlich hoher Vitamin-E-Gaben an Mastschweine auf die Fleisch- und Speckqualität in Abhängigkeit von der Lagerung, *Z. Ernährungswiss.* 37, 171-177

BLOCK, G., LANGSETH, L. (1994): Antioxidant vitamins and disease prevention, *Food Technol.* 48, 80-84

BLUNK, H.-C., STEINHART, H. (1990): Separation of phospholipids in bovine tissue with disposable silica gel extraction columns, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 190, 123-125

BLUNK, H.-C., STEINHART, H., SCHWARZ, F. J., KIRCHGEßNER, M. (1992): Einfluß von Lebendgewicht, Geschlecht, Fütterungsintensität und Fleischreifung auf das Fettsäuremuster der Phospholipide in Rindermuskeln, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 194, 244-247

BÖHM, H., BOEING, H., HEMPEL, J., RAAB, B., KROKE, A. (1998): Flavonole, Flavone und Anthocyane als natürliche Antioxidantien der Nahrung und ihre mögliche Rolle bei der Prävention chronischer Erkrankungen, *Z. Ernährungswiss.* 37, 147-163

BONTEMPO, V., BALDI, A., CHELI, F., FANTUZ, F., POLITIS, I., CARLI, S., DELL'ORTO, V. (2000): Kinetic behavior of three preparations of α-tocopherol after oral administration to post-pubertal heifers, *Am. J. Vet. Res.* 61, 589-593

BORENSTEIN, B. (1987): The role of ascorbic acid in foods, *Food Technol.* 41, 98-99

BOURGEOIS, C. (1992): In: Determination of vitamin E: Tocopherols and tocotrienols, Elsevier Applied Science Publishers, London - New York

BOURGEOIS, C. F., CIBA, N. (1988): Disposable cartridge extraction of retinol and alpha-tocopherol from fatty samples, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 71, 12-15

BOYLSTON, T. D., MORGAN, S. A., JOHNSON, K. A., BUSBOOM, J. R., WRIGHT, R. W., REEVES, J. J. (1995): Lipid content and composition of wagyu and domestic breeds of beef, *J. Agric. Food Chem.* 43, 1202-1207

BREKKE, C. J., AL-HAKIM, S. H., HIGHLANDS, M. E., HOGAN, J. M. (1975): The relation of in vivo and in vitro tocopherol supplementation to stability of fowl fat, *Poultry Sci.* 54, 2019-2024

BRETON, L., SERKIZ, B., VOLLAND, J. P., LEPAGNOL, J. (1989): , *J. Chromatogr.* 497, 243-249

BROOKMAN, P. (1991): Antioxidants and consumer acceptance, *Food Technol.* 26, 24-28

BRUCE, W. R., WOLEVER, T. M., GIACCA, A. (2000): Mechanisms linking diet and colorectal cancer: the possible role of insulin resistance, *Nutr. Cancer.* 37, 19-26

BRUNS, A. (1991): Applications of preparative high-performance liquid chromatography in oleochemical research, *J. Chromatogr.* 536, 75-84

BRUUN-JENSEN, L., SKOVGAARD, I. M., MADSEN, E. A., SKIBSTED, L. H., BERTELSEN, G. (1996): The combined effect of tocopherols, L-ascorbyl palmitate and L-ascorbic acid on the development of warmed-over flavour in cooked, minced turkey, *Food Chem.* 55, 41-47

BRUUN-JENSEN, L., SKOVGAARD, I. M., SKIBSTED, L. H., BERTELSEN, G. (1994): Antioxidant synergism between tocopherols and ascorbyl palmitate in cooked, minced turkey, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 199, 210-213

BUCKLEY D. J., MORRISSEY, P. A. (1992): Vitamin E an meat quality. Animal Production Highlights, Hoffmann- La Roche Ltd., Basel

BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A., GRAY, J. I. (1995): Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat, *J. Anim. Sci.* 73, 3122-3130

BUI, M. H. (1994): Simple determination of retinol, α-tocopherol and carotenoids (lutein, all-trans-lycopene, α- and β-carotenes) in human plasma by isocratic liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 654, 129-133

BURTON, G. H., INGOLD, K. U., FOSTER, D. O., CHENG, S. C., HEBB, A., HUGHES, L., LUSZTYK, E. (1988): Comparison of free α-tocopherol and α-tocopherol acetate as sources of vitamin E in rats and humans, *Lipids* 23, 834-840

BURTON, G. W. (1993): Biodiscrimination of tocopherols. In: Vitamin E: Its usefulness in health and in curing diseases, Elsevier Applied Science Publishers, London - New York, 51-61

BURTON, G. W. (1989): Antioxidant action of carotenoids, *J. Nutr.* 119, 109-111

BURTON, G. W., INGOLD, K. U., CHEESEMAN, K. H., SLATER, T. F. (1990): Application of deuterated α-tocopherols to the biokinetics and bioavailability of vitamin E, *Free Radic. Res. Comms.* 11, 99-107

BUYS, E. M., NORTJÉ, G. L., JOOSTE, P. J., VON HOLY, A. (2000): Bacterial populations associated with bulk packaged beef supplemented with dietary vitamin E, *Int. J. Food. Microbiol.* 56, 239-244

CABEDO, L., SOFOS, J. N., SMITH, G. C. (1998): Bacterial growth in ground beef patties with meat from animals fed without or with supplemental vitamin E, *J. Food Prot.* 61, 36-40

CAMPOS, M. D. A. M., LISSI, E. A. (1996): Total antioxidant potencial of Chilean wines, *Nutr. Res.* 3, 385-389

CANNON, J. E., MORGAN, J. B., SCHMIDT, G. R., TATUM, J. D., SOFOS, J. N., SMITH, G. C., DELMORE, R. J., WILLIAMS, S. N. (1996): Growth and fresh meat quality characteristics of pigs supplemented with vitamin E, *J. Anim. Sci.* 74, 98-105

CASTELLINI, C., DAL BOSCO, A., BERNARDINI, M., CYRIL, H. W. (1998): Effect of dietary vitamin E on the oxidative stability of raw and cooked rabbit meat, *Meat Sci.* 50, 153-161

CATIGNANI, G. L., BIERI, J. G. (1977): Rat liver a-tocopherol binding protein, *Biochim. Biophys. Acta* 497, 349-357

CHALUPA, W., VECCHIARELLI, B., ELSER, A. E., KRONFELD, D. S., SKLAN, D., PALMQUIST, D. L. (1986): Ruminal fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids, *J. Dairy Sci.* 69, 1293-1301

CHAN, W. K. M., FAUSTMAN, C., VELASQUEZ-PEREIRA, J., MCDOWELL, L. R., BATRA, T. R. (1998): Effects of α-tocopherol on metmyoglobin formation and reduction in beef from cattle fed soybean or cottonseed meal diets, *J. Anim. Sci.* 76, 1421-1426

CHAN, W. K. M., HAKKARAINEN, K., FAUSTMAN, C., SCHAEFER, D. M., SCHELLER, K. K., LIU, Q. (1996): Dietary vitamin E effect on color stability and sensory assessment of spoilage in three beef muscles, *Meat Sci.* 42, 387-399

CHAUDIÈRE, J., FERRARI-ILIOU, R. (1999): Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms, *Food Chem. Toxicol.* 37, 949-962

CHOI, M.-A., KIM, B.-S., YU, R. (1999): Serum antioxidative vitamin levels and lipid peroxidation in gastric carcinoma patients, *Cancer Lett.* 136, 89-93

CHRISTIE, W. W. (1985): Rapid separation and quantification of lipid classes by high-performance liquid chromatography and mass (light-scattering) detection, *J. Lipid Res.* 26, 507-512

CHRISTIE, W. W. (1982): A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterylesters, *J. Lipid Res.* 23, 1072-1075

CHU, Y. H., HSU, H. F. (1999): Effects of antioxidants on peanut oil stability, *Food Chem.* 66, 29-34

COHEN, H. J., AVISSAR, N. (1993): Molecular and biochemical aspects of selenium metabolism and deficiency, *Prog. Clin. Biol. Res.* 380, 191-202

COHEN, N., SCOTT, C. G., NEUKOM, C., LOPRESTI, R. J., WEBER, G., SAUCY, G. (1981): Total synthesis of all eight stereoisomers of α-tocopheryl acetate. Determination of their diastereoisomeric and enantiomeric purity by gas chromatography, *Helv. Chim. Acta* 64, 1158-1173

COVAS, M. I., FITO, M., MARRUGAT, J., MIRO, E., FARRE, M., DE LA TORRE, R., GIMENO, E., LOPEZ-SABATER, M. C., LAMUELA-RAVENTOS, R., DE LA TORRE-BORONAT, H. C. (2001): Coronary heart disease protective factors: Antioxidant effect of olive oil, *Therapie* 56, 607-611

DACH (2000): Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 1. Auflage, Umschau/ Braus, Frankfurt

DE MEULENAER, B., VAN DER MEEREN, P., VANDERDEELEN, J. BAERT, L. (1995): Optimization of a chromatographic method for the gram-scale preparative fractionation of soybean phospholipids, *Chromatographia* 41, 527-531

DE ROOS, N. M., BOTS, M. L., KATAN, M. B. (2001): Replacement of dietary saturated fatty acids by trans fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21, 1233-1237

DE VIZCARRONDO, C. A., DE PADILLA, F. C., MARTIN G., E. (1998): Fatty acid composition of beef, pork, and poultry fresh cuts, and some of their processed products, *Arch. Latinoam. Nutr.* 48, 354-358

DECKER, E. A., MEI, L. (1996): Oxidative processes in meat, antioxidant mechanisms and applications in muscle foods, *Recipr. Meat Conf. Proc.* 49, 64-72

DEN HERTOG-MEISCHKE, M. J. A., SMULDERS, F. J. M., HOUBEN, J. H., EIKELENBOOM, G. (1997): The effect of dietary vitamin E supplementation on drip loss of bovine longissimus lumborum, psoas major and semitendinosus muscles, *Meat Sci.* 45, 153-160

DEVARAJ, S., ADAMS-HUET, B., FULLER, C. J., JIALAL (1997): Dose-Reponse Comparison of RRR-α-Tocopherol and all-racemic α-tocopherol on LDL oxidation, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17, 2273-2279

DGE (2001): Ernährungsbericht 2000, Frankfurt

DOBA, T, BURTON, G. W., INGULD, K. U. (1985): Antioxidant and co-antioxidant activity of vitamin C. The effect of vitamin C, either alone or in presence of vitamin E or a water-soluble vitamin E analogue, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipid liposomes, *Biochim. Biophys. Acta* 835, 298-303

DUTTA-ROY, A. K. (1999): Molecular mechanism of cellular uptake and intracellular translocation of α-tocopherol: Role of tocopherol-binding proteins, *Food Chem. Toxicol.* 37, 967-971

EIKELENBOOM, G., HOVING-BOLINK, A. H., KLUITMANN, I., HOUBEN, J. H., KLONT, R. E. (2000): Effect of dietary vitamin E supplementation on beef colour stability, *Meat Sci.* 54, 17-22

ELMADFA, I., WAGNER, K.-H. (1997): Vitamin E und Haltbarkeit von Pflanzenölen, *Fett/Lipid* 99, 234-238

ERIKSSON C. E., NA, A. (1995): Antioxidant agents in raw materials and processed foods, *Biochem. Soc. Symp.* 61, 221-234

FAUSTMAN, C., CASSENS, R. G. (1991): The effect of cattle breed and muscle type on discoloration and various biochemical parameters in fresh beef, *J. Anim. Sci.* 69, 184-193

FAUSTMAN, C., CASSENS, R. G., SCHAEFER, D. M., BUEGE, D. R., WILLIAMS, S. N., SCHELLER, K. K. (1989): Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer beef by dietary supplementation on vitamin E, *J. Food Sci.* 54, 858-862

FAUSTMAN, C., CHAN, W. K. M., SCHAEFER, D. M., HAVENS, A. (1998): Beef color update: The role of vitamin E, *J. Anim. Sci.* 76, 1019-1026

FERNANDEZ, J., PEREZ-ALVAREZ, J. A., FERNANDEZ-LOPEZ, J. A. (1997): Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat, *Food Chem.* 59, 345-353

FERSLEW, K. E., ACUFF, R. V., DAIGNEAULT, E. A., WOOLLEY, T. W., STANTON, P. E. (1993): Pharmacokinetics and bioavailability of the RRR and all-racemic stereoisomers of alpha-tocopherol in humans after single oral administration, *J. Clin. Pharmacol.* 33, 84-88

FLACHOWSKY, G., RICHTER, G. H., WENDEMUTH, M., MÖCKEL, P., GRAF, H., JAHREIS, G., LÜBBE, F. (1994): Einfluß von Rapssamen in der Mastrinderernährung auf Fettsäuremuster, Vitamin-E-Gehalt und oxidative Stabilität des Körperfettes, *Z. Ernährungswiss.* 33, 277-285

FLACHOWSKY, G., SCHAARMANN, G., JAHREIS, G., SCHÖNE, F., RICHTER, G. H., BÖHME, H., SCHNEIDER, A. (1997a): Einfluß der Verfütterung von Ölsaaten und Nebenprodukten aus Ölsaaten auf die Vitamin-E-Konzentration in Tierprodukten, *Fett/Lipid* 99, 55-60

FLACHOWSKY, G., SCHÖNE, F., SCHAARMANN, G., LÜBBE, F., BÖHME, H. (1997b): Influence of oilseeds in combination with vitamin E supplementation in the diet on backfat of pigs, *Anim. Feed Sci. Technol.* 64, 91-100

FLOHE, C. (1998): Glutathione peroxidase, *Basic Life Sci.* 49, 663-668

FOLCH, J., LEES, M., STANLEY, G. H. S. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *J. Biol. Chem.* 226, 497-509

FOOTE, C. S., DENNY, R. W. (1968): Chemistry of singlet oxygen. VII. Quenching by β-carotene, *J. Am. Chem. Soc.* 90, 6233-6235

FORMANEK, Z., KERRY, J. P., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A., FARKAS, J. (1998): Effects of dietary vitamin E supplementation and packaging on the quality of minced beef, *Meat Sci.* 50, 203-210

FOURNIER, B. R., WOLFF, R. L., NOGARO, M., RADALLAH, D., DARRET, D., LARRUE, J., GIRARDIE, A. (1995): Fatty acid composition of phospholipids and metabolism in rectal tissues of the African locust, *Comp. Biochem. Physiol. B* 111, 361-370

FRANKE, A. A., HARWOOD, P. J., SHIMAMOTO, T., LUMENG, S., ZHANG, L., BERTRAM, J. S., WILKENS, L. R., MARCHAND, L. L., COONEY, R. V. (1994): Effects of micronutrients and antioxidants on lipid peroxidation in human plasma and in cell culture, *Cancer Lett.* 79, 17-26

FRANKEL, E. N. (1991): Recent advances in lipid oxidation. Review, *J. Sci. Food Agric.* 54, 495-511

FRANKEL, E. N. (1996): Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality, *Food Chem.* 57, 51-55

FRANKEL, E. N. (1993): In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids, *Trends Food Sci. Technol.* 4, 220-225

FRANKEL, E. N. (1999): Antioxidant activity by headspace gas chromatography of volatile oxidation products of ω-6 and ω-3 polyunsaturated lipids, *Methods Enzymol.* 299, 190-201

FREI, B. (1989): Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 86, 6337-6381

FRITSCHE, J. (1998): Vorkommen, Bedeutung und Analytik von trans-Fettsäuren (TFA) in Lebensmitteln und humanem Fettgewebe unter besonderer Berücksichtigung konjugierter Linolsäuren, Dissertation, Universität Hamburg

FRITSCHE, J., MOSSOBA, M. M., YURAWECZ, M. P., ROACH, J. A. G., SEHAT, N., KU, Y., STEINHART, H. (1997): Conjugated linoleic acid (CLA) isomers in human adipose tissue, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 205, 415-418

FUKUMOTO, L. R., MAZZA, G. (2000): Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds, *J. Agric. Food Chem.* 48, 3597-3604

FUKUNAGA, K., TAKAMA, A, SUZUKI, T. (1995): High-performance liquid chromatographic determination of plasma malondialdehyde level without a solvent extraction procedure, *Anal. Biochem.* 230, 20-23

FÜLLNER, G., WIRTH, M. (1996): Der Einfluß der Ernährung auf Fettgehalt und Fettsäurezusammensetzung Europäischer Welse (Silurus glanis), *Fett/Lipid* 98, 300-304

GARBER, M. J., ROEDER, R. A., DAVIDSON, P. M., PUMFREY, W. M., SCHELLING, G. T. (1996): Dose-response effects of vitamin E supplementation on growth performance and meat characteristics in beef and dairy steers, *Can. J. Anim. Sci.* 76, 63-72

GERTZ, C. (1983): Zur Analytik der natürlichen und synthetischen Antioxidantien in Lebensmitteln, Dissertation, Universität Hannover

GERTZ, C., HERRMANN, K. (1983): Identifizierung und Bestimmung antioxidativ wirkender Zusatzstoffe in Lebensmitteln, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 177, 186-192

GIBSON, R. A., NEUMANN, M. A., BURNHARD, S. L., RINALDI, J. A., PATTEN, G. S. , MCMURCHIE, E. J. (1992): The effect of dietary supplementation with eicosapentaenoic acid on the phospholipid and fatty acid composition of erythrocytes of marmoset, *Lipids* 27, 169-176

GOPAUL, N. K., HALLIWELL, B., ÄNGGARD, E. E. (2000): Measurement of plasma F-2-isoprostanes as an index of lipid peroxidation does not appear to be confounded by diet, *Free Radic. Res.* 33, 115-127

GRAY, J. I., GOMAA, E. A., BUCKLEY, D. J. (1996): Oxidative quality and shelf life of meats, *Meat Sci.* 43, S111-S123

GROSCH, W. (1989): Aromastoffe aus der Lipidperoxidation, *Fat Sci. Technol.* 91, 1-6

GUIDERA, J., KERRY, J. P., BUCKLEY, D. J., LYNCH, P. B., MORRISSEY, P. A. (1997): The effect of dietary vitamin E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat, *Meat Sci.* 45, 33-43

GUILLÉN-SANS, R., GUZMÁN-CHOZAS, M. (1998): The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: A review, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38, 315-330

GUILLOU, A., CHOUBERT, G., DE LA NOÜE, J. (1993): Separation and determination of carotenoids, retinol, retinal, and their dehydro forms by isocratic reversed-phase HPLC, *Food Chem.* 476, 93-99

GURR, M. (1997): Meat lipids, *Lipid technol.* 9, 43-46

GUZMÁN-CHOZAS, M., VICARIO-ROMERO, I. M., GUILLÉN-SANS, R. (1998): 2-Thiobarbituric acid test for lipid oxidation in food: Synthesis and spectroscopic study of 2-thiobarbituric acid-malonaldehyde adduct, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75, 1711-1715

HALLIWELL, B. (1999): Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning), *Free Radic. Res.* 31, 261-272

HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LÖLIGER, J., ARUOMA, O. I. (1995): The characterization of antioxidants, *Food Chem. Toxicol.* 33, 601-617

HAMPEL, G. (1995): Fleischrinder- und Mutterkuhhaltung, 2. Auflage, E. Ulmer Verlag, Stuttgart

HARTFIEL, W. (1995): Die Bedeutung von Antioxidantien in der Ernährung, *Fett Wissens. Technol.* 97, 1-7

HECKER, A. L., CRAMER, D. A., HOUGHAM, D. F. (1975): Compositional and metabolic growth effects in the bovine muscle, subcutaneous and serum total fatty acids, *J. Food Sci.* 40, 144-149

HEINONEN, O. P., ALBANES. D. (1994): The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group; The effects of vitamin E and β-carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers, *N. Engl. J. Med.* 330, 1029-1035

HESS, D., KELLER, H. E., OBERLIN, B., BONFANTI, R., SCHÜEP, W. (1991): Simultaneous determination of retinol, tocopherols, carotenes and lycopene in plasma by means of high-performance liquid chromatography on reversed phase, *Int. J. Vut. Nutr. Res.* 61, 232-238

HIDIROGLOU, M., BATRA, T. R. (1996): Plasma and tissue concentrations of vitamin E following supplementation of two forms of vitamin E in sheep, *Small Ruminant Res.* 21, 83-87

HIDIROGLOU, N., LAFLAMME, L. F., MCDOWELL, L. R. (1988): Blood plasma and tissue concentrations of vitamin E in beef cattle as influenced by supplementation of various tocopherol compounds, *J. Anim. Sci.* 66, 3227-3234

HIDIROGLOU, N., MCDOWELL, L. R., PAPAS, A. M., ANTAPLI, M., WILKINSON, N. S. (1992): Bioavailability of vitamin E compounds in lambs, *J. Anim. Sci.* 70, 2556-2561

HIGGINS, F. M., KERRY, J. P., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A. (1998): Effect of dietary α-tocopheryl acetate supplementation on α-tocopherol distribution in raw turkey muscles and its effect on the storage stability of cooked turkey meat, *Meat Sci.* 50, 373-383

HOFMANN, K. (1987): Der Begriff Fleischqualität, Definition und Anwendung, *Fleischwirtsch.* 67, 44-49

HOLLMAN, P. C. H., SLANGEN, J. H., WAGSTAFFE, P. J., FAURE, U., SOUTHGATE, D. A. T., FINGLAS, P. M. (1993): Intercomparison of methods for the determination of vitamins in foods, Part 1. Fat-soluble vitamins, *Analyst* 118, 475-480

HOMAN, R., ANDERSON, M. K. (1998): Rapid separation and quantification of combined neutral and polar lipid classes by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detection, *J. Chromatogr. B* 708, 21-26

HOPPE, P. P., KRENNRICH, G. (2000): Bioavailability and potency of natural-source and all-racemic alpha-tocopherol in the human: A dispute, *Eur. J. Nutr.* 39, 183-193

HOSOMI, A., ARITA, M., SATO, Y., KIYOSE, C., UEDA, T., IGARASHI, O., ARAI, H., INOUE, K. (1997): Affinity for α-tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs, *FEBS Lett.* 409, 105-108

HOVING, E. B., LAING, C., RUTGERS, H. M., TEGGLER, M., VAN DOORMAL, J. J., MUSKIET, F. A. J. (1992): Optimized determination of malondialdehyde in plasma lipid extracts using 1,3-diethyl-2-thiobarbituric acid: influence of detection method and relations with lipids and fatty acids in plasma from healthy adults, *Clin. Chim. Acta* 208, 63-76

HOVING-BOLINK, A. H., EIKELENBOOM, G., VAN DIEPEN, J. T. M., JONGBLOED, A. W., HOUBEN, J. H. (1998): Effect of dietary vitamin E supplementation on pork quality, *Meat Sci.* 49, 205-212

HUANG, S.-W., FRANKEL, E. N., GERMAN, J. B. (1994): Antioxidant activity of α- and γ-tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions, *J. Agric. Food Chem.* 42, 2108-2114

IGARASHI, O. KIYOSE, C. (1999): Physiological functions of vitamin E and biodiscrimination of its stereoisomers, *Anticancer Res.* 19, 3783-3785

INGOLD, K. U., BURTON, G. W., FOSTER, D. O., HUGHES, L., LINDSAY, D. A., WEBB, A. (1987): Biokinetics of and discrimination between dietary RRR- and SRR-α-tocopherols in the male rat, *Lipids* 22, 163-172

ISLER, O., BRUBACHER, G. (1982): Vitamine I: Fettlösliche Vitamine, 1. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York

ITO, Y., OCHIAI, J., SASAKI, R., SUZUKI, S., KUSUHARA, Y., MORIMITSU, Y., OTANI, M., AOKI, K. (1990): Serum concentrations of carotenoids, retinol, and α-tocopherol in healthy persons determined by high-performance liquid chromatography, *Clin. Chim. Acta* 194, 131-144

ITOH, M., JOHNSON, C. B., COSGROVE, G. P., MUIR, P. D., PURCHAS, R. W. (1999): Intramuscular fatty acid composition of neutral and polar lipids for heavy-weight Angus and Simmental steers finished on pasture or grain, *J. Sci. Food Agric.* 79, 821-827

JENSEN, C., GUIDERA, J., SKOVGAARD, I. M., STAUN, H., SKIBSTED, L. H., JENSEN, S. K., MOLLER, A. J., BUCKLEY, J., BERTELSEN, G. (1997): Effects of dietary α-tocopheryl acetate supplementation on α-tocopherol deposition in porcine m. psoas major and m. longissimus dorsi and on drip loss, colour stability and oxidative stability of pork meat, *Meat Sci.* 45, 491-500

JENSEN, C., LAURIDSEN, C., BERTELSEN, G. (1998a): Dietary vitamin E: Quality and storage stability of pork and poultry, *Trends Food Sci. Technol.* 9, 62-72

JENSEN, C., SKIBSTED, L. H., BERTELSEN, G. (1998b): Oxidative stability of frozen-stored raw pork chops, chill-stored pre-frozen raw pork chops, and frozen-stored pre-cooked sausages in relation to dietary CuSO4, rapeseed oil and vitamin E, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 207, 363-368

JIALAL, I., FULLER, C. J., HUET, B. A. (1995): The effect of α-tocopherol supplementation on LDL oxidation; a dose-response study, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 15, 190-198

JIALAL, I., GRUNDY, S. M. (1992): Effect of dietary supplementation with alpha-tocopherol on the oxidative modification of low density lipoprotein, *J. Lipid Res.* 33, 899-906

JIALAL, I., NORKUS, E. P., CRISTOL, L., GRUNDY, S. M. (1991): β-Carotene inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein, *Biochim. Biophys. Acta* 1086, 134-138

JUKOLA, E., HAKKARAINEN, J., SALONIEMI, H., SANKARI, S. (1996): Effect of selenium fertilization on selenium in feedstuffs and selenium, vitamin E, and β-carotene concentrations in blood of cattle, *J. Dairy Sci.* 79, 831-837

KAGAN, V. E., BAKALOVA, R. A., SERBINOVA, E. E., STOYTCHEV, T. S. (1990): Fluorescence measurements of incorporation and hydrolysis of tocopherol and tocopheryl esters in biomembranes, *Methods Enzymol.* 186, 555-567

KALUZNY, M. A., DUNCAN, L. A., MERRITT, M. V., EPPS, D. E. (1985): Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns, *J. Lipid Res.* 26, 135-140

KAMAL-ELDIN, A., APPELQVIST, L.-A. (1996): The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols, *Lipids* 31, 671-701

KANEKO, K., KIYOSE, C., UEDA, T., ICHIKAWA, H., IGARASHI, O. (2000): Studies on the metabolism of α-tocopherol stereoisomers in rats using [5-methyl-14C] SRR- and RRR-α-tocopherol, *J. Lipid Res.* 41, 357-367

KANNER, J. (1994): Oxidative Processes in meat and meat products: Quality implications, *Meat Sci.* 36, 169-189

KANSCI, G., GENOT, C., MEYNIER, A., GANDEMER, G. (1997): The antioxidant activity of carnosine and ist consequences on the volatile profiles of liposomes during iron/ascorbate induced phospholipid oxidation, *Food Chem.* 60, 165-175

KARDINAAL, A. F. M., VAN'T VSER, P., BRANTS, H. A. M., VAN DEN BERG, H., VAN SCHOONHOVEN, J., HERMUS, R. J. J. (1995): Relations between antioxidant vitamins in adipose tissue, *Am. J. Epidemiol.* 141, 440-450

KAYDEN, H. J., TRABER, M. G. (1993): Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans, *J. Lipid Res.* 34, 343-358

KIMURA, M., RODRIGUEZ-AMAYA, D. B., GODOY, H. T. (1989): Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A, *Food Chem.* 35, 187-195

KING, A. J., UIJTTENBOOGAART, T. G., DE VRIES, A. W. (1995): α-Tocopherol, β-carotene and ascorbic acid as antioxidants in stored poultry muscle, *J. Food Sci.* 60, 1009-1012

KITTS, D. D. (1997): An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins, *Trends Food Sci. Technol.* 8, 198-203

KIYOSE, C., KANEKO, K., MURAMATSU, R., UEDA, T., IGARASHI, O. (1999): Simultaneous Determination of RRR- and SRR-α-tocopherols and their quinones in rat plasma and tissues by using chiral high-performance liquid chromatography, *Lipids* 34, 415-422

KIYOSE, C., MURAMATSU, R., FUJIYAMA-FUJIWARA, Y., UEDA, T., IGARASHI, O. (1995a): Biodiscrimination of α-tocopherol stereoisomers during intestinal absorption, *Lipids* 30, 1015-1018

KIYOSE, C., MURAMATSU, R., UEDA, T., IGARASHI, O. (1995b): Change in the distribution of α-tocopherol stereoisomers in rats after intravenous administration, *Biosci. Biotech. Biochem.* 59, 791-795

KLÄUI, H., PONGRACZ, G. (1982): Ascorbic acid and derivatives as antioxidants in oils and fats, In: Vitamin C (ascorbic acid), Elsevier Applied Science Publishers, London-New York

KOHN, H., LIVERSEDGE, M. (1944): On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine and menadione, *J. Pharmacol.* 82, 292-292

KÖNIG, S. (1992): Vitamine als Zusatzstoffe in der Lebensmittelindustrie, *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hygiene* 83, 10-19

KONTUSH, A., BEISIEGEL, U. (1999): Measurement of oxidizability of blood plasma, *Methods Enzymol.* 299, 35-49

KORMANN, A. W. (1980): Routine assay for determination of α-tocopherol in liver, *J. Lipid Res.* 21, 780-783

KOVÁCIKOVÁ, Z., CERHATA, D., KADRABOVÁ, J., MADARIC, A., GINTER, E. (1998): Antioxidant status in vegetarians and nonvegetarians in Bratislava region (Slovakia), *Z. Ernährungswiss.* 37, 178-182

KRAMER, J. K. G., FELLNER, V., DUGAN, M. E. R., SAUER, F. D., MOSSOBA, M. M., YURAWECZ, M. P. (1997): Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids, *Lipids* 32, 1219-1227

KREIMEIER, J., SCHMIDT, M. (1998): Vitamin E- Zur Bioverfügbarkeit der α-Tocopherol-Stereoisomere, *Pharm. Ztg.* 11, 823-828

KÜHNE, D. (1999): Konjugierte Linolsäure in Fetten von Wiederkäuern, *Fleischwirtsch.* 12, 86-89

KURILICH, A. C., JUVIK, J. A. (1999): Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in zea mays, *J. Agric. Food Chem.* 47, 1948-1955

LANARI, M. C., CASSENS, R. G., SCHAEFER, D. M., SCHELLER, K. K. (1994): Effect of dietary vitamin E on pigment and lipid stability of frozen beef: A kinetic analysis, *Meat Sci.* 38, 3-15

LANARI, M. C., SCHAEFER, D. M., CASSENS, R. G., SCHELLER, K. K. (1995): Atmosphere and blooming time affect color and lipid stability of frozen beef from steers supplemented with vitamin E, *Meat Sci.* 40, 33-44

LANG, J. K., GOHIL, K., PACKER, L. (1986): Simultaneous determination of tocopherols, ubiquinols, and ubiquinones in blood, plasma, tissue homogenates and subcellular fractions, *Anal. Biochem.* 157, 106-116

LARICK, D. K., TURNER, B. E. (1989): Influence of finishing diet on the phospholipid composition and fatty acid profile of individual phospholipids in lean muscle of beef cattle, *J. Anim. Sci.* 67, 2282-2293

LARICK, D. K., TURNER, B. E., KOCH, R. M., CROUSE, J. D. (1989): Influence of phospholipid content and fatty acid composition of individual phospholipids in muscle from Bison, Hereford and Brahman steers on flavor, *J. Food Sci.* 54, 521-526

LAURIDSEN, C., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A. (1997): Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on α-tocopherol levels and fatty acid profiles in chicken muscle membranal fractions and on susceptibility to lipid peroxidation, *Meat Sci.* 46, 9-22

LEE, H. S., CSALLANY, A. S. (1987): Measurement of free and bound malondialdehyde in vitamin E-deficient and -supplemented rat liver tissues, *Lipids* 22, 104-107

LEE, K.-T., LILLARD, D. A. (1997): Effects of tocopherols and β-carotene on beef patties oxidation, *J. Food Lipids* 4, 261-268

LENGFELDER, W. (1998): Antioxidative Vitamine, Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen, *Dtsch. Med. Wschr.* 123, 1014-1017

LEONHARDT, M., GEBERT, S., WENK, C. (1997): Vitamin E content of different animal products: Influence of animal nutrition, *Z. Ernährungswiss.* 36, 23-27

LEPAGE, G., MUNOZ, G., CHAMPAGNE, J., ROY, C. C. (1991): Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography, *Anal. Biochem.* 197, 277-283

LEPAGE, G., ROY, C. C. (1986): Direct transesterfication of all classes of lipids in one-step reaction, *J. Lipid Res.* 27, 114-120

LESELLIER, E., TCHAPLA, A., MARTY, C., LEBERT, A. (1993): Analysis of carotenoids by high-performance liquid chromatography and supercritical fluid chromatography, *J. Chromatogr.* 633, 9-23

LESKANICH, C. O., MATTHEWS, K. R., WARKUP, C. C., NOBLE, R. C., HAZZLEDINE, M. (1997): The effect of dietary oil containing (n-3) fatty acids on the fatty acid, physicochemical, and organoleptic characteristics of pig meat and fat, *J. Anim. Sci.* 75, 673-683

LETH, T., SØNDERGAARD, H. (1983): Biological activity of all-rac-α-tocopherol and RRR-α-tocopherol determined by three different rat bioassays, *Int. J. Vut. Nutr. Res.* 53, 297-311

LEUNG, H.-W., VANG, M. J., MAVIS, R. D. (1981): The cooperative interaction between vitamin E and vitamin C in suppression of peroxidation of mambrane phospholipids, *Biochim. Biophys. Acta* 664, 266-272

LEUNG, Y. H., LIU, R. H. (2000): trans-10,cis-12-Conjugated linoleic acid isomer exhibits stronger oxyradical scavenging capacity than cis-9,trans-11-conjugated linoleic acid isomer, *J. Agric. Food Chem.* 48, 5469-5475

LIANG, J.-H. (1999): Fluorescence due to interactions of oxidizing soybean oil and soy proteins, *Food Chem.* 66, 103-108

LIAO, M.-L., SEIB, P. A. (1987): Selected reactions of L-ascorbic acid related to foods, *Food Technol.* 41, 104-107

LICHTENSTEIN, A. H., KENNEDY, E., BARRIER, P., DANFORD, D., ERNST, N. D., GRUNDY, S. M., LEVEILLE, G. A., VAN HORN, L., WILLIAMS, C. L., BOOTH, S. L. (1998): Dietary fat consumption and health, *Nutr. Rev.* 56, S3-S28

LIEBLER, D. C., KLING, D. S., REED, D. J. (1986): Antioxidant protection of phospholipid bilayers by alpha-tocopherol, control alpha-tocopherol status and lipidperoxidation by ascorbic acid and glutathion, *J. Biol. Chem.* 261, 12114-12119

LIÉGOIS, C., LERMUSIEAU, G., COLLIN, S. (2000): Measuring antioxidant efficiency of wort, malt, and hops against the 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride-induced oxidation of an aqueous dispersion of linoleic acid, *J. Agric. Food Chem.* 48, 1129-1134

LIU, Q., LANARI, M. C., SCHAEFER, D. M. (1995): A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality, *J. Anim. Sci.* 73, 3131-3140

LIU, Q., SCHELLER, K. K., ARP, S. C., SCHAEFER, D. M., FRIGG, M. (1996a): Color coordinates for assessment of dietary vitamin E effects on beef color stability, *J. Anim. Sci.* 74, 106-116

LIU, Q., SCHELLER, K. K., ARP, S. C., SCHAEFER, D. M., WILLIAMS, S. N. (1996b): Titration of fresh meat color stability and malondialdehyde development in Holstein steers fed vitamin E-supplemented diets, *J. Anim. Sci.* 74, 117-126

LIU, Q., SCHELLER, K. K., SCHAEFER, D. M., ARP, S. C., WILLIAMS, S. N. (1994): Dietary α-tocopheryl acetate contributes to lipid stability in cooked beef, *J. Food Sci.* 59, 288-290

LÖFFLER, G., PETRIDES, P. E. (1998): Biochemie und Pathobiochemie, 6. Auflage, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York

LOPEZ-BOTE, C. J., GRAY, J. I., GOMAA, E. A., FLEGAL, C. J. (1998): Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat, *Br. Poultr. Sci* 39, 235-240

LÜBBE, F. (1990): Zur Anwendung und Wirksamkeit technischer Antioxidantien in Futterfetten, *Fett Wissens. Technol.* 92, 532-538

LUTZKE, B. S., BRAUGHLER, J. M. (1990): An improved method for the identification and quantitation of biological lipids by HPLC using laser light-scattering detection, *J. Lipid Res.* 31, 2127-2130

LYNCH, M. P., KERRY, J. P., BUCKLEY, D. J., FAUSTMAN, C., MORRISSEY, P. A. (1999): Effect of dietary vitamin E supplementation on the colour and lipid stability of fresh, frozen and vacuum-packaged beef, *Meat Sci.* 52, 95-99

MACCREHAN, W. A., SCHÖNBERGER, E. (1987): Determination of retinol, α-tocopherol, and β-carotene in serum by liquid chromatography with absorbance and electrochemical detection, *Clin. Chem.* 33, 1585-1592

MACHLIN, L. J. (1991): Handbook of vitamins, Second edition, Marcel Dekker Inc., New York,

MACHLIN, L. J., BENDICH, A. (1987): Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients, *FASEB J.* 1, 441-445

MACHLIN, L. J., GABRIEL, E., BRIN, M. (1982): Biopotency of α-tocopherols as determined by curative myopathy bioassay in the rat, *J. Nutr.* 112, 1437-1440

MANACH, C., MORAND, C., CRESPY, V., DEMIGNÉ, C., TEXIER, O., RÉGÉRAT, F., RÉMÉSY, C. (1998): Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties, *FEBS Lett.* 426, 331-336

MANDELL, I. B., BUCHANAN-SMITH, J. G., HOLUB, B. J., CAMPBELL, C. P. (1997): Effects of fish meal in beef cattle diets on growth performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of longissimus muscle, *J. Anim. Sci.* 75, 910-919

MARASCHIELLO, C., GARCIA REGUEIRO, J. A. (1998): Procedure for the determination of retinol and α-tocopherol in poultry tissues using capillary gas chromatography with solvent venting injection, *J. Chromatogr. A* 818, 109-121

MARCO, G. J. (1968): A rapid method for evaluation of antioxidants, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 45, 594-598

MARUSICH, W. L., DE RITTER, W., OGRINZ, E. F., KEATING, J., MITROVIC, M., BUNNELL, R. H. (1975): Effect of supplemental vitamin E in control of rancidity in poultry meat, *Poultry Sci.* 54, 831-844

MCDONALD, R. S., ZHANG, W., ZHANG, J. P., SUN, G. Y. (1996): Brain neutral lipids and phospholipds are modified by long-term feeding of beef tallow vs. corn oil diets, *J. Nutr.* 126, 1554-1562

MCDOWELL, L. R., WILLIAMS, S. N., HIDIROGLOU, N., NJERU, C. A., HILL, G. M., OCHOA, L., WILKINSON, N. S. (1996): Vitamin E supplementation for the ruminant, *Anim. Feed Sci. Technol.* 60, 273-296

MCEVOY, T. G., COULL, G. D., BROADBENT, P.J., HUTCHINSON, J. S. M., SPEAKE, B. K. (2000): Fatty acid composition of lipids in immature cattle, pig and sheep oocytes with intact zona pellucida, *J. Reprod. Fertil.* 118, 163-170

MCNABB, T. J., CREMESTI, A. E., BROWN, P. R., FISCHL, A. A. (1999): High-performance liquid chromatography/evaporative light-scattering detector techniques for neutral, polar, and acidic lipid classes: a review of methods and detector models, *Sem. Anal. Chem.* 4, 53-70

MELIN, A. M., CARBONNEAU, M. A., THOMAS, M. J., MAVIEL, M. J., PERROMAT, A., CLERC, M. (1992): Relationship between dietary retinol and α-tocopherol and lipid peroxidation in rat liver cytosol, *Food Addit. Contam.* 9, 1-9

MILLER, K. W., YANG, CH. S. (1985): An isocratic high-performance liquid chromatography method for the simultaneous analysis of plasma retinol, α-tocopherol, *Anal. Biochem.* 145, 21-26

MILLER, N. J., RICE-EVANS, C. (1997): The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and black-currant drink, *Food Chem.* 60, 331-337

MILLER, N. J., RICE-EVANS, C., DAVIES, M. J. GOPINATHAN, V., MILNER, A. (1993): A novel method for measuring antioxidant capacity and ist application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, *Clin. Sci.* 84, 407-412

MITSUMOTO, M., ARNOLD, R. N., SCHAEFER, D. M., CASSENS, R. G. (1993): Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef, *J. Anim. Sci.* 71, 1812-1816

MITSUMOTO, M., FAUSTMAN, C., CASSENS, R. G., ARNOLD, R. N., SCHAEFER, D. M., SCHELLER, K. K. (1991a): Vitamins E and C improve pigment and lipid stability in ground beef, *J. Food Sci.* 56, 194-197

MITSUMOTO, M., CASSENS, R. G., SCHAEFER, D. M., SCHELLER, K. K. (1991b): Pigment stability improvement in beef steak by ascorbic acid application, *J. Food Sci.* 56, 857-858

MITSUMOTO, M., CASSENS, R. G., SCHAEFER, D. M., ARNOLD, R. N., SCHELLER, K. K. (1991c): Improvement of color and lipid stability in beef longissimus with dietary vitamin E and vitamin C dip treatment, *J. Food Sci.* 56, 1489-1492

MITSUMOTO, M., OZAWA, S., MITSUHASHI, T., KOIDE, K. (1998): Effect of dietary vitamin E supplementation for one week before slaughter on drip, colour and lipid stability during display in Japanese black steer beef, *Meat Sci.* 49, 165-174

MIWA, H., YAMAMOTO, M., FUTATA, T., KAN, K., ASANO, T. (1996): Thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography for the assay of fatty acid compositions of

individual phospholipids in platelets from non-insulin-dependent diabetes mellitus patients: effect of eicosapentaenoic acid ethyl ester admin, *J. Chromatogr. B* 677, 217-223

MONAHAN, F. J., BUCKLEY, D. J., GRAY, J. I., MORRISSEY, P. A., ASGHAR, A., HANRAHAN, T. J., LYNCH, P. B. (1990): Effect of dietary vitamin E on the stability of raw and cooked pork, *Meat Sci.* 27, 99-108

MONAHAN, F. J., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. M., LYNCH, P. B., GRAY, J. I. (1992): Influence of dietary fat and α-tocopherol supplementation on lipid oxidation in pork, *Meat Sci.* 31, 229-241

MONAHAN, F. J., GRAY, J. I., ASGHAR, A., HAUG, A., STRASBURG, G. M., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A. (1994): Influence of diet on lipid oxidation and membrane structure in porcine muscle microsomes, *J. Agric. Food Chem.* 42, 59-63

MOORE, K., ROBERTS, L. J. (1998): Measurement of lipid peroxidation, *Free Radic. Res.* 28, 659-671

MOREAU, R. A., POWELL, M. J., OSMAN, S. F., WHITBAKER, B. D., FETT, W. F., ROTH, L., O'BRIEN, D. J. (1995): Analysis of intact hopanoids and other lipids from the bacterium Zymomonas mobilis by high-performance liquid chromatography, *Anal. Biochem.* 224, 293-301

MORGAN, C. A., NOBLE, R. C., COCCHI, M, MCCARTNEY, R. (1992): Manipulation of the fatty acid composition of pig meat lipids by dietary means, *J. Sci. Food Agric.* 58, 357-368

MORRISSEY, P. A., BUCKLEY, D. J., SHEEHY, P. J. A., MONAHAN, F. J. (1994): Vitamin E and meat quality, *Proc. Nutr. Soc.* 53, 289-295

MORRISSEY, P. A., BUCKLEY, D. J., SISK, H., LYNCH, P. B., SHEEHY, P. J. A. (1996): Uptake of α-tocopherol in porcine plasma and tissues, *Meat Sci.* 44, 275-283

MORRISSEY, P. A., SHEEHY, P. J. A., GALVIN, K., KERRY, J. P., BUCKLEY, D. J. (1998): Lipid stability in meat and meat products, *Meat Sci.* 49, S73-S86

NAIR, V., TURNER, G. A, (1984): The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: Structure of the adduct with malondialdehyde, *Lipids* 19, 804-805

NAKAGAWA, K., FUJIMOTO, K., MIYAZAWA, T. (1996): β-Carotene as a high-potency antioxidant to prevent the formation of phospholipid hydroperoxides in red blood cells of mice, *Biochim. Biophys. Acta* 1299, 110-116

NELIS, H. J. C. F., DE LEENHEER, A. P. (1983): Isocratic nonaqueous reversed-phase liquid chromatography of carotenoids, *Anal. Chem.* 55, 270-275

NETSCHER, T. (1996): Stereoisomers of tocopherols- syntheses and analytics, *Chimia* 50, 563-567

NICOLAY, L., DECRUYENAERE, V., BOURGUIGNON, J. M., JANSSENS, G., DEROANNE, C.THEWIS, A. (1995): Zootechnical performances, some meat characteristics, α-tocopherol concentrations in plasma and different tissues, chemical composition, lipid oxidation of meat from double muscled Belgian blue young bulls fed additional vitamin E: A preliminary study, 9th Forum for applied biotechnology, Belgien - Gent

NILSSON, B., JOHANSSON, B., JANSSON, L., HOLMBERG, L. (1978): Determination of plasma α-tocopherol by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 145, 169-172

NISHIYAMA, T., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H., SHIBAMOTO, T. (1993): Inhibition of malonaldehyde formation from lipids by an isoflavonoid isolated from young barley leaves, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70, 811-813

NITTA-KIYOSE, C., HAYASHI, K., UEDA, T., IGARASHI, O. (1994): Distribution of α-toc stereoisomers in rats, *Biosci. Biotech. Biochem.* 58, 2000-2003

NOCKELS, C. F., ODDE, K. G., CRAIG, A. M. (1996): Vitamin E supplementation and stress affect tissue α-tocopherol content of beef heifers, *J. Anim. Sci.* 74, 672-677

NODA, Y., KOHNO, M., AKITANE, M., PACKER, L. (1999): Automated electron spin resonance free radical detector assay for antioxidant activity in natural extracts, *Methods Enzymol.* 299, 28-35

NRC (1994): Nutrient requirements of beef cattle, 6th Rev. Edition, National Academy Press

NÜRNBERG, K., KUHN, G., ENDER, K., NÜRNBERG, G., HARTUNG, M. (1997): Characteristics of carcass composition, fat metabolism and meat quality of genetically different pigs, *Fett/Lipid* 99, 443-446

NÜRNBERG, K., NÜRNBERG, G., ENDER, K., LORENZ, S., WINKLER, K., RICKERT, R., STEINHART, H. (2002): N-3 fatty acids and conjugated linoleic acids of longissimus muscle in beef cattle, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104, 463-471

O'SULLIVAN, A., O'SULLIVAN, K., GALVIN, K., MOLONEY, A. P., TROY, D. J., KERRY, J. P. (2002): Grass silage versus maize silage effects on retail packaged beef quality, *J. Anim. Sci.* 80, 1556-1563

OGATA, J., HAGIWARA, Y., HAGIWARA, H., SHIBAMOTO, T. (1996): Inhibition of malonaldehyde formation by antioxidants from ω3 polyunsaturated fatty acids, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73, 653-656

OLMEDILLA, B., GRANADO, F., BLANCO, I., ROJAS-HIDALGO, E. (1992): Determination of nine carotenoids, retinol, retinyl palmitate and α-tocopherol in control human serum using two internal standards, *Food Chem.* 45, 205-213

OLSON, J. A. (1989): Provitamin A function of carotenoids: The conversion of β-carotene into vitamin A, *J. Nutr.* 119, 105-108

OLSSON, N. U., HARDING, A. J., HARPER, C., SALEM JR.., N. (1996): High-performance liquid chromatography method with light-scattering detection for measurements of lipid class composition: Analysis of brains from alcoholics, *J. Chromatogr. B* 681, 213-218

OSAWA, T., SHIBAMOTO, T. (1992): Analysis of free malondialdehyde formed in lipid peroxidation systems via pyrimidine derivate, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 466-468

PALAN, R. P., MIKHAIL, M. S., GOLDBERG, G. L., BASU, J., RUNOWICZ, C. D., ROMNEY, S. L. (1996): Plasma levels of β-carotene, lycopene, canthaxanthin, retinol, and α- and τ-tocopherol in cervical intraepithelial neoplasia and cancer, *Clin. Cancer Res.* 2, 181-185

PANFILI, G., MANZI, P., PIZZOFERRATO, L. (1994): High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of tocopherols, carotenes, and retinol and its geometric isomers in italian cheeses, *Analyst* 119, 1161-1165

PARDUN, H. (1976): Analyse der Nahrungsfette, 1. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin

PARKER, R. S. (1989): Dietary and biochemical aspects of vitamin E, *Adv. Food Nutr. Res.* 33, 157-232

PATTON, G. M., FASULO, J. M., ROBINS, S. J. (1990): Analysis of lipids by high-performance liquid chromatography: Part 1, *J. Nutr. Biochem.* 1, 493-500

PELLEGRINI, N., RE, R., YNG, M., RICE-EVANS, C. (1999): Screening of dietary carotionoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2´-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline)-6-sulfonic acid radical cation decolorization assay, *Methods Enzymol.* 299, 28-37

PERLY, B., SMITH, I. C. P., HUGHES, L., BURTON, G. W., INGOLD, K. U. (1985): Estimation of the location of natural α-tocopherol in lipid bilayers by 13C-NMR sprectroscopy, *Biochim. Biophys. Acta* 819, 131-135

PFALZGRAF, A., STEINHART, H., FRIGG, M. (1995): Rapid determination of alpha-tocopherol in muscle and adipose tissues of pork, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 200, 190-193

PFALZGRAF, A., TIMM, M., STEINHART, H. (1993): Gehalt von trans-Fettsäuren in Lebensmitteln, *Z. Ernährungswiss.* 33, 24-43

PIISPA, E., HYVÖNEN, L. E. T., HOPIA, A. (1996): Characterization of quality of fat in processed foods by fatty acid analysis and high-performance size-exclusion chromatography, *Fett/ Lipid* 98, 257-260

PODMORE, I. D., GRIFFITHS, H. R., HERBERT, K. E., MISTRY, N., MISTRY, P., LUNEC, J. (1998): Vitamin C exhibits pro-oxidant properties, *Nature* 392, 559

PONGRACZ, G., WEISER, U., MATZINGER, D. (1995): Tocopherole-Antioxidantien der Natur, *Fat Sci. Technol.* 97, 90-104

PRIETO, P., PINEDA, M., AGUILAR, M. (1999): Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E, *Anal. Biochem.* 269, 337-341

RAULI, S., DEL PUPPO, M., MAGNI, F., GALLI KIENLE, M. (1998): Validation of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-trans-nonenal measurement in plasma by NICI-GC-MS, *J. Biochem.* 123, 918-923

REAVEN, P. D., KHOUW, A., BELTZ, W. F., PARTHASARATHY, S., WITZTUM, J. L. (1993): Effect of dietary antioxidant combinations in humans; protection of LDL by vitamin E but not by β-carotene, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 13, 590-600

REAVEN, P. D., WITZTUM, J. L. (1993): Comparison of supplementation of RRR-α-tocopherol and racemic α-tocopherol in humans; effects on lipid levels and lipoprotein susceptibility to oxidation, *Arterioscler. Thromb.* 13, 600-608

REDLICH, C. A., GRAUER, J. N, VAN BENNEKUM, A. M., CLEVER, S. L., PONN, R. B., BLANER, W. S. (1996): Characterization of carotenoid, vitamin A, and α-tocopherol levels in human lung tissue and pulmonary macrophages, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 154, 1436-1443

REGOLI, F., WINSTON, G. W. (1999): Quantification of total oxidant scavenging capacity of antioxidants for peroxynitrite, peroxyl radicals, and hydroxyl radicals, *Toxicol. Appl. Pharm.* 146, 96-105

REHARJO, S., SOFOS, J. N., SCHMIDT, G. R. (1992): Improved speed, specifity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef, *J. Agric. Food Chem.* 40, 2182-2185

RICE-EVANS, C., MILLER, N. J. (1994): Total antioxidant status in plasma and body fluids, *Methods Enzymol.* 234, 279-293

RICHARD, M.-J., PORTAL, B., MEO, J., COUDRAY, C., HADJIAN, A., FAVIER, A. (1992): Malondialdehyde kit evaluated for detemining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid, *Clin. Chem.* 38, 704-709

RICKERT, R. (2002): Konjugierte Linolsäureisomere (CLA) in biologischen Matrices, Dissertation, Universität Hamburg

RICKERT, R., STEINHART, H., FRITSCHE, J., SEHAT, N., YURAWECZ, M. P., MOSSOBA, M. M., ROACH, J. A. G., EULITZ, K., KU, Y., KRAMER, J. K. G. (1999): Enhanced resolution of conjugated linoleic acid isomers by tandem-column silver-ion high performance liquid chromatography, *J. High Resol. Chromatogr.* 22, 144-148

RISS, G., KORMANN, A. W., GLINZ, E., WALTHER, W., RANALDER, U. B. (1994): Separation of the eight stereoisomers of all-rac-α-tocopherol from tissues and plasma: Chiral phase high-performance liquid chromatography and capillary gas chromatography, *Methods Enzymol.* 234, 302-310

RIZZOLO, A., POLESELLO, S. (1992): Chromatographic determination of vitamins in foods, *J. Chromatogr.* 624, 103-152

ROCCHI, E., BORGHI, A., PAOLILLO, F., PRADELLI, M., CASALGRANDI, G. (1991): Carotenoids and liposoluble vitamins in liver cirrhosis, *J. Lab. Clin. Med.* 118, 176-185

RODDEN, P. R., HUANG, Y.-S. (1991): Automated separation and quantitation of lipid fractions by high-performance liquid chromatography and mass detection, *J. Chromatogr.* 620, 21-27

ROSENBAUER, H., FISCHER, K., JUNG, P., HONIKEL, K. O. (1996): Vitamin E-Einsatz in der Schweinemast, *Mittbl. Bundesanstalt f. Fleischforschung* 35, 156-163

RUIZ, J. A., PEREZ-VENDRELL, A. M., ESTEVE-GARCIA, E. (1999): Effect of beta-carotene and vitamin E on oxidative stability in leg meat of broilers fed different supplemental fats, *J. Agric. Food Chem.* 47, 448-454

RUPÉREZ, F. J., BARBAS, C., CASTRO, M., MARTINEZ, S., HERRERA, E. (1998): Simplified method for vitamin E determination in rat adipose tissue and mammary glands by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 823, 483-487

SAHOO, J., ANJANEYULU, A. S. R. (1997a): Effect of alpha-tocopherol acetate preblending on the quality of ground buffalo meat, *Food Chem.* 60, 397-402

SAHOO, J., ANJANEYULU, A. S. R. (1997b): Quality improvement of ground buffalo meat by preblending with sodium ascorbate, *Meat Sci.* 46, 237-247

SAHOO, J., ANJANEYULU, A. S. R. (1997c): Effect of natural antioxidants and vacuum packaging on the quality of buffalo meat nuggets during refrigerated storage, *Meat Sci.* 47, 223-230

SANDERS, S. K., MORGAN, J. B., WULF, D. M., TATUM, J. D., WILLIAMS, S. N., SMITH, G. C. (1997): Vitamin E supplementation of cattle and shelf-life of beef for the Japanese market, *J. Anim. Sci.* 75, 2634-2640

SATO, Y. (1991): Purification and characterization of the a-tocopherol transport protein from rat liver, *FEBS Lett.* 288, 41-45

SCHAEFER, D. M., LIU, Q., FAUSTMAN, C., YIN, M.-C. (1995): Supranutritional administration of vitamins E and C improve oxidative stability of beef, *J. Nutr.* 125, 1792S-1798S

SCHÜEP, W., RETTENMAIER, R. (1994): Analysis of vitamin E homologs in plasma and tissue: High performance liquid chromatography, *Methods Enzymol.* 234, 294-302

SCHWARZ, F. J. (2000): Fütterung und Rindfleischqualität, In: VERBAND DEUTSCHER LANDWIRTSCHAFTLICHER UNTERSUCHUNGS- UND FORSCHUNGSANSTALTEN (Hrsg.): Kongressband 2000, *112. VDLUFA-Kongress 18. und 22. September 2000 Stuttgart-Hohenheim*, 21-45

SCHWARZ, F. J., AUGUSTINI, C., KIRCHGEßNER, M. (1998): Qualitätsverbesserung von Rindfleisch nach Vitamin E-Zulagen in der Endmast von Jungbullen - 1. Versuchsdurchführung, Schlachtkörper- und Fleischqualität, *Fleischwirtsch.* 78, 208-217

SCHWARZ, F. J., LINDEN, S., AUGUSTINI, C., STEINHART, H.: Auswirkungen von supplementierten Antioxidantien auf Vitamin E- und β-Carotingehalte in unterschiedlichen Geweben und auf die Fleischfarbe von Mastrindern bei verschiedenen Grundfuttern, *56. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie in Göttingen (Poster)*

SHAHIDI, F., YANG, Z., SALEEMI, Z. O. (1993): Stabilization of meat lipids with flavonoids and flavonoid-related compounds, *J. Food Lipids* 1, 69-78

SHELDON, B. W., CURTIS, P. A., DAWSON, P. L., FERKET, P. R. (1997): Effect of dietary vitamin E on the oxidative stability, flavor, color, and volatile profiles of refrigerated and frozen turkey breast meat, *Poultry Sci.* 76, 634-641

SIMKOVSKY, N. M., ECKER, A. (1998): Einfluß von Licht und Tocopherolgehalt auf die Oxidationsstabilität von Fettsäuremethylestern, *Fett/Lipid* 100, 534-538

SINNHUBER, R., YU, T., C. (1958): 2-Thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity on fishery products, II. The quantitative determination of malondialdehyde, *Food Technol.* 12, 9-13

SLOVER, H. T., LEHMANN, J., VALIS, R. J. (1983): Vitamin E in foods: Determination of tocols and tocotrienols, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 46, 417-420

SLOVER, H. T., THOMPSON, R. H. JR. (1981): Chromatographic separation of the stereoisomers of α-tocopherol, *Lipids* 16, 268-275

SMITH, G. C., MORGAN, J. B., SOFOS, J. N., TATUM, J. D. (1996): Supplemental vitamin E in beef cattle diets to improve shelf-life of beef, *Anim. Feed Sci. Technol.* 59, 207-214

SOWELL, A. L., HUFF, D. L., YEAGER, P. R., CAUDILL, S. P., GUNTER, E. W. (1994): Retinol, α-tocopherol, lutein/ zeaxanthin, β-cryptoxanthin, lycopene, α-carotene, trans-β-carotene, and four retinyl esters in serum determined simultaneously by reversed-phase HPLC with multiwavelength detection, *Clin. Chem.* 40, 411-416

ST. JOHN, L. C., LUNT, D. K., SMITH, S. B. (1991): Fatty acid elongation and desaturation enzyme activities of bovine liver and subcutaneous adipose tissue microsomes, *J. Anim. Sci.* 69, 1064-1073

STAHL, W., SIES, H. (1996): Vitamin E, vitamin C, and carotenoids as nutritional antioxidants, *World of ingredients* 5-6, 32-35

STAHL, W., SUNDQUIST, A. R., HANUSCH, M., SCHWARZ, W., SIES, H. (1993): Separation of β-carotene and lycopene geometrical isomers in biological samples, *Clin. Chem.* 39, 810-814

STATISTISCHES BUNDESAMT (HRSG.) (2001): Statistisches Jahrbuch 2001, SFG-Servicecenter Fachverlage, Reutlingen

STITH, B. J., HALL, J., AYRES, P., WAGGONER, L., MOORE, J. D., SHAW, W. A. (2000): Quantification of major classes of Xenopus phospholipids by high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection, *Lipids* 35, 899-910

STOLL, U. (1996): Identifizierung von molekularen Phospholipidspecies aus Schweineherz durch Kombination chromatographischer Techniken, *Fett/Lipid* 98, 178-182

SUREL, O., DUCRUET, V., FAMELART, M. H., LAMBERET, G. (1995): Quantification des lipides de produits laitiers à faible teneur en matière grasse à l'aide du détecteur à diffusion de lumière, *Analusis* 23, 31-34

SUTTNAR, J. CERMÁK, J., DYR, J. E. (1997): Solid-phase extraction in malondialdehyde analysis, *Anal. Biochem.* 249, 20-23

SUZUKI, E., SANO, A., KURIKI, T., MIKI, T. (1993): Separation and determination of phospholipids in plasma employing thin-layer chromatographic plates with concentration zone or solid phase extraction, *Biol. Pharma. Bull.* 16, 77-80

TAJIMA, A., KAWAHARA, S., SHIN, K., IMAIZUMI, K., NAKAMURA, T., ITO, T. (1995): Is beef tallow really hazardous to health?, *Nutr. Res.* 15, 1429-1436

TALWAR, D., HA, T. K., COONEY, J., BROWNLEE, C., O'REILLY, D. S. J. (1998): A routine method for simultaneous measurement of retinol, alpha-tocopherol and five carotenoids in human plasma by reverse phase HPLC, *Clin. Chim. Acta* 270, 85-100

TAMURA, H., SHIBAMOTO, T. (1991): Antioxidative activity measurement in lipid peroxidation systems with malonaldehyde and 4-hydroxy nonenal, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68, 941-943

TATUM, V. L., CHANGCHIT, C., CHOW, C. K. (1990): Measurement of malondialdehyde by high performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Lipids* 25, 226-227

TEE, E.-S., LIM, C.-L. (1991): The analysis of carotenoids and retinoids: A review, *Food Chem.* 41, 147-193

THOMPSON, C. R., STEENBOCK, H. (1944): The effect of α-tocopherol and β-carotene in the oxidation of plant and animal fats, *Arch. Biochem. Biophys.* 4, 15-23

TIMM, M. (2000): α-Tocopherol in meat and meat products-Influence of feeding on α-Tocopherol concentration, quality attributes and storage stability, Dissertation, Universität Hamburg

TOMITA, T., OKUYAMA, T., KAWAI, S. (1990): Determination of malonaldehyde in oxidzed biological materials by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 515, 391-397

TRABER, M. G. (1997): Relationship of plasma and dietary vitamin E, *Diabetes und Stoffwechsel* 6, 11-15

TRABER, M. G. (1994): Determination of plasma vitamin E concentrations, *Free Rad. Biol. Med.* 16, 229-239

TRABER, M. G. (1999): Utilization of vitamin E, *Biofactors* 10, 115-120

TRABER, M. G., BURTON, G. W., HUGHES, L., INGOLD, K. U., HIDAKA, H., MALLOY, M., KANE, J., HYAMS, J., KAYDEN, H. J. (1992): Discrimination between forms of vitamin E by humans with and without genetic abnormalities of lipoprotein metabolism, *J. Lipid Res.* 33, 1171-1182

TRABER, M. G., BURTON, G. W., INGOLD, K. U., KAYDEN, H. J. (1990a): RRR- and SRR-α-tocopherols are secreted without discrimination in human chylomicrons, but RRR-α-tocopherol is preferentially secreted in very low density lipoproteins, *J. Lipid Res.* 31, 675-685

TRABER, M. G., RUDEL, L. L., BURTON, G. W., HUGHES, L., INGOLD, K. U., KAYDEN, H. J. (1990b): Nascent VLDL from liver perfusions of cynomologus monkeys are preferentially enriched in RRR- compared with SRR-α-tocopherol: Studies using deuterated tocopherols, *J. Lipid Res.* 31, 687-694

TRABER, M. G., DIAMOND, S. R., LANE, J. C., BRODY, R. I., KAYDEN, H. J. (1994): β-Carotene transport in human lipoproteins. Comparisons with α-tocopherol, *Lipids* 29, 665-669

TRABER, M. G., INGOLD, K. U., BURTON, G. W., KAYDEN, H. J. (1988): Absorption and transport of deuterium-substituted 2R, 4'R, 8'R-α-tocopherol in human lipoproteins, *Lipids* 23, 791-797

TRABER, M. G., RAMAKRISHNAN, R., KAYDEN, H. J. (1995): Human plasma vitamin E kinetics demonstrate rapid recycling of plasma RRR-α-tocopherol, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 10005-10008

TURNER, E. W., PAYNTER, W. D., MONTIE, E. J., BESSERT, M. W., STRUCK, G. M., OLSON, F. C. (1954): Use of the 2-thiobarbituric acid reagent to measure rancidity in frozen pork, *Food Technol.* 8, 326-326

UEDA, T., ICHIKAWA, H., IGARASHI, O. (1993): Determination of α-tocopherol stereoisomers in biological specimens using chiral phase high-performance liquid chromatography, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 39, 207-219

UEDA, T., IGARASHI, O. (1990): Determination of vitamin E in biological specimens and foods by HPLC - pretreatment of samples and extraction of tocopherols, *J. Micronutr. Anal*. 7, 79-96

UEDA, T., IGARASHI, O. (1987): New solvent system for extraction of tocopherols from biological specimens for HPLC Determination and the evaluation of 2,2,5,7,8-pentamethyl-6-chromanol as an internal standard, *J. Micronutr. Anal*. 3, 185-198

VAN DEN BERG, R., HAENEN, G. R. M. M., VAN DEN BERG, H., BAST, A. (1999): Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity measurements of mixtures, *Food Chem.* 66, 511-517

VAN DER MEEREN, P., VANDERDEELEN, J., HUYS, M., BAERT, L. (1988): Simple and rapid method for high-performance liquid chromatography separation and quantification of soybean phospholipids, *J. Chromatogr.* 447, 436-442

VAN HORNE, K. C. (1993): Festphasenextraktion, 1. Auflage, ict GmbH, Deutsche Ausgabe, Frankfurt

VECCHI, M., WALTHER, W., GLINZ, E., NETSCHER, T., SCHMID, R., LALONDE, M., VETTER, W. (1990): Chromatographische Trennung und quantitative Bestimmung aller acht Stereoisomeren von α-Tocopherol, *Helv. Chim. Acta* 73, 782-789

VEGA, L., ENSER, M., NUTE, G. R., RICHARDSON, R. I., BALL, R. C., WOOD, J. D., WEBER, G. M. (1996): Supranutritional vitamin E supplementation of grass-finished and concentrate-finished Hereford-cross steers and its effect on meat quality, *J. Anim. Sci.* 62, 47-49

VINSON, J. A., JANG, J., YANG, J., DABBAGH, Y., LIANG, X., SERRY, M., PROCH, J., CAI, S. (1999): Vitamins and especially flavonoids in common beverages are powerful in vitro antioxidants which enrich lower density lipoproteins and increase their oxidative resistance after ex vivo spiking in human plasma, *J. Agric. Food Chem.* 47, 2502-2504

VERORDNUNG (EG) Nr. 1804/1999 DES RATES vom 19. Juli 1999 zur Einbeziehung der tierischen Erzeugung in den Geltungsbereich der Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel, *Europ. Abl. L 222* vom 24.08. 99

VOGEL, S., CONTOIS, J. H., COUCH, S. C., LAMMI-KEEFE, C. J. (1996): A rapid method for separation of plasma low and high density lipoproteis for tocopherol and carotenoid analyses, *Lipids* 31, 421-426

WALKE, M., BECKERT, D., LASCH, J. (1998): Interactions of UV light-induced α-tocopherol radicals with lipids detected by an electron spin resonance prooxidation effect, *Photochem. Photobiol.* 68, 502-510

WARNANTS, N., VAN OECKEL, M., BOUCQUÉ, C. V., DE PAEPE, M. (1995): Influence of feeding dietary polyunsaturated fatty acids (extruded rapeseed) on animal performance, carcass, meat, and fat quality in pigs, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 74, 24-33

WASOWICZ, W., NÈVE, J., PERETZ, A. (1993): Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: Importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage, *Clin. Chem.* 39, 2522-2526

WAYNER, D. D. M., BURTON, G. W., INGOLD, K. U., LOCKE, S. (1985): Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping capability of huma blood plasma by controlled peroxidation, *FEBS Lett.* 187, 33

WEISER, H., VECCHI, M. (1981): Stereoisomers of α-tocopheryl acetate; Characterization of the samples by physico-chemical methods and determination of biological activities in the rat resorption-gestation test, *Int. J. Vut. Nutr. Res.* 51, 100-113

WEISER, H., VECCHI, M. (1982): Stereoisomers of α-tocopheryl acetate; II. Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation tests, *Int. J. Vut. Nutr. Res.* 52, 351-370

WEISER, H., VECCHI, M., SCHLACHTER, M. (1985): Stereoisomers of α-tocopheryl acetate; III. Simultaneous determination of resorption-gestation and myopathy in rats as a means of evaluating biopotency ratios of all-rac- and RRR-α-tocopheryl acetate, *Int. J. Vut. Nutr. Res.* 55, 149-158

WEISER, H., VECCHI, M., SCHLACHTER, M. (1986): Stereoisomers of α-tocopheryl acetate; IV. USP units and α-tocopherol equivalents of all-rac-, 2-ambo- and RRR-α-tocopherol evaluated by simultaneous determination of resorption-gestation, myopathy and liver storage capacity in rats, *Int. J. Vut. Nutr. Res.* 56, 45-56

WEISS, W. P. (1998): Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: A review, *J. Dairy Sci.* 81, 2493-2501

WEN, J. MORRISSEY, P. A., BUCKLEY, D. J., SHEEHY, P. J. A. (1997): Supranutritional vitamin E supplementation in pigs: Influence on subcellular deposition of α-tocopherol and on oxidative stability by conventional and derivative spectrophotometry, *Meat Sci.* 47, 301-310

WILLETT, W. C. (1994): Diet and health: What should we eat?, *Science* 264, 532-537

WILLETT, W. C. (1998): Dietary fat intake and cancer risk: A controversial and instructive story, *Semin. Cancer Biol.* 8, 245-253

WINSTON, G., REGOLI, F., DUGAS, A., FONG, J. BLANCHARD, K. A. (1997): A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids, *Free Rad. Biol. Med.* 24, 480-493

WONG, J. W., HASHIMOTO, K., SHIBAMATO, T. (1995): Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system, *J. Agric. Food Chem.* 43, 2707-2712

WONG, S. H. Y., KNIGHT, J. A., HOPFER, S. N., ZAHARIA, O., LEACH, C. N., SUNDERMAN, F. W. (1987): Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct, *Clin. Chem.* 33, 214-220

WOOD, Y. D., ENSER, M. (1997): Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality, *Br. J. Nutr.* 78, S49-S60

XIE, Y. R., BUSBOOM, J. R., GASKINS, C. T., JOHNSON, K. A., REEVES, J. J., WRIGHT, R. W., CRONRATH, J. D. (1996): Effects of breed and sire on carcass characteristics and fatty acid profiles of crossbred Wagyu and Angus steers, *Meat Sci.* 43, 167-177

YAGI, K. A. (1976): A simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma, *Biochem. Med.* 12, 212-216

YANISHLIEVA, N. V., AITZETMÜLLER, K., RANEVA, V. G. (1998): β-Carotene and lipid oxidation, *Fett/Lipid* 100, 444-462

YEO, H. C., HELBOCK, H. J., CHYU, D. W., AMES, B. N. (1994): Assay of malondialdehyde in biological fluids by gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Biochem.* 220, 391-396

YEO, H. C., LIU, J., HELBOCK, H, AMES, B. N. (1999): Assay of malondialdehyde and other alkanals in biological fluids by gas chromatography-mass spectrometry, *Methods Enzymol.* 300, 70-78

YU, T.-W., ONG, C. N. (1999): Lag-time measurement of antioxidant capacity using myoglobin an 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid): Rationale, application, and limitation, *Anal. Biochem.* 275, 217-223

ZEMBAYASHI, M., NISHIMURA, K. (1996): Genetic and nutritional effects on the fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular lipids of steers, *Meat Sci.* 43, 83-92

ZIEGLER, R. G. (1989): A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer, *J. Nutr.* 119, 116-122

A 1 Standardsubstanzen, Chemikalien und Verbrauchsmittel

Tab. A- 1: Verzeichnis der Standardsubstanzen

Bezeichnung	***Hersteller Artikel-Nr.***	***Gefahrensymbol R-Sätze S-Sätze***	***CAS-Nr. MAK***
β-Carotin	Fluka 22040	**R:** 53 **S:** 61	[7235-40-7]
CLA-FAME-Mischstandard (siehe Tab. A- 8)	Sigma O 5632	**R:** - **S:** -	
Cholesterol	Merck 103672	**R:** - **S:** -	[57-88-5]
Cholesteryloleat	Fluka 26850	**R:** - **S:** -	[303-43-5]
FAME-Mischstandard (siehe Tab. A- 6)	Supelco 47885-U	**R:** 36/37/38 **S:** 26-36	
(+/-)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure (Trolox)	Fluka 56510	Xi **R:** 36/37/38 **S:** 26-36	[53188-07-1]
Malondialdehyd-bis(diethylacetal) zur Synthese	Merck 805797	Xn **R:** 22 **S:** -	[122-31-6]
L-α-Phosphatidylcholin, dioleyl (C 18:1 c9) (20 mg/ml Chloroform)	Sigma P 7212	Xn **R:** 45-46-22-36/37/38-48/20 **S:** 45-26-36/37/39-23	[4235-95-4] 0.5 ml/m^3 2.5 mg/m^3
L-α-Phosphatidyl-ethanolamin Typ V aus Escherichia coli	Sigma P 8068	**R:** - **S:** -	[39382-08-6]
L-α-Phosphatidylinositol, Ammoniumsalz aus Rinderleber	Sigma P 8443	**R:** - **S:** -	
L-α-Phosphatidyl-L-Serin Typ III-B aus Rinderhirn (5 mg/ml Chloroform/ MeOH (95:5; v:v))	Sigma P 6641	Xn **R:** 10-45-46 **S:** 16-45-26-36/37/39	0.5 ml/m^3 2.5 mg/m^3
Trilinolein (C 18:2 c9c12)	Fluka 92115	**R:** - **S:** -	[537-40-6]
Retinol	Fluka 95144	**R:** 22 **S:** 36	[68-26-8]
RRR-α-Tocopherol	Fluka 89550	**R:** - **S:** 23-24/25	[59-02-9]
all-rac-α-Tocopherol	Fluka 95240	**R:** - **S:** 23-24/25	[10191-41-0]

Die Zusammensetzungen und Konzentrationsangaben der Standards sind in den folgenden Tabellen angegeben. Wenn nicht anders angegeben werden analysenreine Chemikalien verwendet.

Tab. A- 2: Zusammensetzung des α-Tocopherol-, β-Carotin-, Retinol-Mischstandards

Substanz	***Konzentration in der Stammlösung [µg/ml]***
all-rac -α-Tocopherol	20.41
β-Carotin	4.19
Retinol	13.61

α-Tocopherol und Retinol werden zuvor in abs. EtOH gelöst, β-Carotin in THF. Aus der Stammlösung werden für die Kalibrierstandards Verdünnungen (1:5, 1:10, 1:20, 1:50 und 1:100) mit abs. EtOH hergestellt. Der Stammstandard ist bei Lagerung unter Lichtausschluss bei -80 °C mehrere Monate haltbar.

Tab. A- 3: Zusammensetzung des α-Tocopherol-Standards

Substanz	***Konzentration in der Stammlösung [µg/ml]***
all-rac -α-Tocopherol	102.7

α-Tocopherol wird in *n*-Hexan gelöst. Der Standard ist bei Lagerung unter Lichtausschluss bei -80 °C mehrere Monate haltbar.

Tab. A- 4: Zusammensetzung des MDA-Standards

Substanz	***Konzentration in der Stammlösung [µg/ml]***
Malondialdehyd-bis(diethylacetal)	38.23

38.23 mg Malondialdehyd-bis(diethylacetal) werden in Anlehnung an die Methode von YEO et al. (1994) mit 10 ml 0.1 N Salzsäure versetzt und sechs Stunde stehen gelassen. Die Konzentration des MDA wird photometrisch bei 245 nm überprüft (Extinktionskoeffizient ε = 13700 $M^{-1} \cdot cm^{-1}$). Von dieser Stammlösung werden für die Kalibrierstandards Verdünnungen (1:50, 1:100, 1:200 und 1:250) mit entm. Wasser hergestellt. Der Stammstandard ist bei Lagerung im Kühlschrank mehrere Monate haltbar.

Tab. A- 5: Zusammensetzung des Trolox-Standards

Substanz	***Konzentration in der Stammlösung [µg/ml]***
Trolox	1.454 mg/ml

Trolox wird in Phosphatpuffer (2.58 g Kaliumdihydrogenphosphat, 7.57 g Di-Natriumhydrogenphosphat ad 1 l mit entm. Wasser, pH 7.4) gelöst. Von dieser Stammlösung werden für die Kalibrierstandards Verdünnungen (1:2, 1:10, 1:20 und 1:50) mit Phosphatpuffer hergestellt.

Tab. A- 6: Zusammensetzung des FAME-Standards, Angabe in Elutionsreihenfolge

Kurzschreibweise	***Systematischer Name***	***Trivialname***	***Konz. [Gew.-%]***
C 4	Butansäure	Buttersäure	3.991
C 6	Hexansäure	Capronsäure	3.989
C 8	Octansäure	Caprylsäure	3.993
C 10	Decansäure	Caprinsäure	3.993
C 11	Undecansäure		1.994
C 12	Dodecansäure	Laurylsäure	4.089
C 13	Tridecansäure		1.996
C 14	Tetradecansäure	Myristinsäure	3.994
C 14:1 c9	9-cis-Tetradecensäure	Myristoleinsäure	1.998
C 15	Pentadecansäure		2.004
C 15:1 c10	10-cis-Pentadecensäure		2.001
C 16	Hexadecansäure	Palmitinsäure	5.986
C 16:1 c9	9-cis-Hexadecensäure	Palmitoleinsäure	1.996
C 17	Heptadecansäure	Margarinsäure	1.996
C 17:1 c10	10-cis-Heptadecensäure		2.001
C 18	Octadecansäure	Stearinsäure	3.993
C 18:1 t9	9-trans-Octadecensäure	Elaidinsäure	1.996
C 18:1 c9	9-cis-Octadecensäure	Ölsäure	3.990
C 18:2 t9t12	all-trans-9,12-Octadecadiensäure	Linolelaidinsäure	1.999
C 18:2 c9c12	all-cis-9,12-Octadecadiensäure	Linolsäure	1.994
C 20	Eicosansäure	Arachinsäure	3.989
C 18:3 c6c9c12	all-cis-6,9,12-Octadecatriensäure	γ-Linolensäure	1.999
C 20:1 c11	11-cis-Eicosensäure		1.998
C 18:3 c9c12c15	all-cis-9,12,15-Octadecatriensäure	α-Linolensäure	1.996
C 21	Heneicosansäure		2.003
C 20:2 c11c14	all-cis-11,14-Eicosadiensäure		1.996
C 22	Docosansäure	Behensäure	3.989
C 20:3 c8c11c14	all-cis-8,11,14-Eicosatriensäure		1.994
C 22:1 c13	13-cis-Docosensäure	Erucasäure	2.000
C 20:3 c11c14c17	all-cis-11,14,17-Eicosatriensäure		2.064
C 20:4 c5c8c11c14	all-cis-5,8,11,14-Eicosatetraensäure	Arachidonsäure	1.999
C 23	Tricosansäure		2.002
C 22:2 c13c16	all-cis-13,16-Docosadiensäure		1.996
C 20:5 c5c8c11c14c17	all-cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure		1.994
C 24	Tetracosansäure		3.993
C 24:1 c15	15-cis-Tetracosensäure	Nervonsäure	1.996
C 22:6 c4c7c10c13c16c19	all-cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure		1.999

Der FAME-Standard ist gelöst in *n*-Hexan und enthält zur Stabilisierung 260 µg/ml BHT.

Tab. A- 7: Zusammensetzung der Standards für die semipräparative Trennung der Lipidfraktionen

Fraktion	***Konzentration in der Stammlösung [mg/ml]***
CE (Cholesteryloleat)	10
TG (Trilinolein)	10
Cholesterol	20
PE (L-α-Phosphatidylethanolamin Typ V)	10
PI (L-α-Phosphatidylinositol, Ammoniumsalz)	5
PS (L-α-Phosphatidyl-L-Serin Typ III-B)	5
PC (L-α-Phosphatidylcholin, dioleyl)	20

Die Standardsubstanzen werden gelöst in Isooctan (CE, TG, Cholesterol), Chloroform (PE, PI, PC) bzw. Chloroform/MeOH (95:5; v:v) (PS). Aus diesen Einzelstandards wird durch Mischen von gleichen Volumina ein Mischstandard hergestellt.

Tab. A- 8: Zusammensetzung des CLA-Standards (als FAME)

Substanz	***Konzentration [Gew.-%]***
C 18:2 t12t14	0.17
C 18:2 t11t13	0.86
C 18:2 t10t12	1.92
C 18:2 t9t11	1.63
C 18:2 t8t10	0.68
C 18:2 t7t9	0.08
C 18:2 ct11 13	21.35
C 18:2 ct10 12	26.66
C 18:2 ct9 11	27.09
C 18:2 ct8 10	19.28
C 18:2 c11c13	1.18
C 18:2 c10c12	1.00
C 18:2 c9c11	1.12
C 18:2 c8c10	0.30

51.04 mg des Mischstandards werden mit 5.21 mg BHT in 20 ml *n*-Hexan gelöst. Aus der Stammlösung werden für die Kalibrierstandards Verdünnungen (1:10, 1:25 und 1:100) *n*-Hexan hergestellt. Der Stammstandard ist bei Lagerung unter Lichtausschluss bei -21 ± 2 °C mehrere Monate haltbar.

Tab. A- 9: Verzeichnis der verwendeten Chemikalien

Bezeichnung	***Hersteller Artikel-Nr.***	***Gefahrensymbol R-Sätze S-Sätze***	***CAS-Nr. MAK***
Aceton	Merck 100014	F Xi **R:** 11-36-66-67 **S:** 9-16-26	[67-64-1] 500 ml/m^3 1200 mg/m^3
Acetonitril	I. Baker 9017 II. Fisher A/0627/17	F T **R:** 11-23/24/25 **S:** 16-27-45	[75-05-8] 40 ml/m^3 68 mg/m^3
L-(+)-Ascorbinsäure	Merck 100127	**R:** - **S:** -	[50-81-7]
2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenz-thiazolin-6-sulfonsäure) (ABTS)	Sigma A 1888	Xi **R:** 36/37/38 **S:** 26-36	[30931-67-0]
2,2'-Azo-bis-(2-amidinopro-pan)-Hydrochlorid (ABAP oder AAPH)	Aldrich 44,091-4	Xi **R:** 20/21/22-36/37/38-42/43 **S:** 26-36	[2997-92-4]
Brij 35	Merck 801962	Xn **R:** 22-36 **S:** 24	[9002-92-0]
Chloroform	I. Merck 102445 II. Biosolve 03080602	Xn **R:** 22-38-40-48/20/22 **S:** 36/37	[67-66-3] 0.5 ml/m^3 2.5 mg/m^3
Dichlormethan (für I.: destilliert über Kalium-carbonat)	I. Merck 106049 II. Biosolve 04900602	Xn **R:** 22-38-40-48/20/22 **S:** 36/37	[75-09-2] 100 ml/m^3 350 mg/m^3
Diethylether (destilliert über Kaliumhydroxid)	Merck 100921	F+ Xn **R:** 12-19-22-66-67 **S:** 9-16-29-33	[60-29-7] 400 ml/m^3 1200 mg/m^3
1,3-Diethyl-2-thiobarbitur-säure (DETBA)	Aldrich 16,195-0	**R:** - **S:** -	[5217-47-0]
Dimethylsulfat	Fluka 41610	T+ **R:** 45-E25-E26-34-43 **S:** 53.1-45	[77-78-1]

Tab. A- 9 (Forts.): Verzeichnis der verwendeten Chemikalien

Bezeichnung	***Hersteller*** ***Artikel-Nr.***	***Gefahrensymbol*** ***R-Sätze*** ***S-Sätze***	***CAS-Nr.*** ***MAK***
2,6-Di-*tert.*-butyl-p-kresol (BHT)	Fluka 34750	**R:** 20/21/22-38 **S:** 36/37	[128-37-0]
Eisen(III)chlorid-Hexahydrat	Merck 159158	Xn **R:** 22-38-41 **S:** 26-39	[10025-77-1]
Essigsäure (Eisessig)	Merck 100063	C **R:** 10-35 **S:** 23.2-26-45	[64-19-7] 10 ml/m^3 25 mg/m^3
Ethanol (abs., destilliert)	Merck 100971	F **R:** 11 **S:** 7-16	[64-17-5] 500 ml/m^3 960 mg/m^3
Ethylacetat	Merck 100868	F Xi **R:** 11-36-66-67 **S:** 16-26-33	[141-78-6] 400 ml/m^3 1500 mg/m^3
Ethylenglycoldimethylether	Merck 800856	Xn T **R:** 60-61-11-19-E20 **S:** 53-16-24/25-37-45	[110-71-4]
Glutathion (reduziert)	Merck 104090	**R:** - **S:** -	[70-18-8]
n-Hexan (für II.: destilliert über Kaliumhydroxid)	I. Promochem 4159 II. Merck 104368	F Xn N **R:** 11-38-48/20-51/53-62-65-67 **S:** 9-16-29-33-36/37-61-62	[110-54-3] 50 ml/m^3 180 mg/m^3
Isooctan	Biosolve 09150602	F Xn N **R:** 11-38-50/53-65-67 **S:** 9-16-29-33-60-61-62	[540-84-1]
Kaliumcarbonat	Merck 104928	Xn **R:** 22-36/37/38 **S:** 22-26	[584-08-7]
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck 104877	**R:** - **S:** -	[7778-77-0]

Tab. A- 9 (Forts.): Verzeichnis der verwendeten Chemikalien

Bezeichnung	***Hersteller Artikel-Nr.***	***Gefahrensymbol R-Sätze S-Sätze***	***CAS-Nr. MAK***
Kaliumhydroxid	Merck 105033	 C **R:** 22-35 **S:** 26-36/37/39-45	[1310-58-3]
Kaliummethylat (35 %ig in Methanol)	Merck 814222	 T **R:** 10-39/23/24/25-34 **S:** 26-36/37/39-45	200 ml/m^3 270 mg/m^3
Methanol (getrocknet mit Natriumbor-hydrid und destilliert)	Merck 106008	 F T **R:** 11-39/23/24/25 **S:** 7-16-36/37-45	[67-56-1] 200 ml/m^3 270 mg/m^3
Methylorange	Merck 101322	 T **R:** 25 **S:** 37/45	[106-73-0]
Natriumchlorid	Merck 106400	**R:** - **S:** -	[7647-14-5]
Natriumhydrogencarbonat	Merck 106329	**R:** - **S:** -	[144-55-8]
di-Natriumhydrogen-phosphat-Dihydrat	Merck 106580	**R:** - **S:** -	[10028-24-7]
Natriumsulfat (wasserfrei)	Merck 106645	**R:** - **S:** -	[7757-82-6]
ortho-Phosphorsäure (85 %)	Merck 100573	 C **R:** 34 **S:** 26-36/37/39-45	[7664-38-2]
2-Propanol	I. Merck 109634 II. Biosolve 16260602	 F Xi **R:** 11-36-67 **S:** 7-16-24/25-26	[67-63-0] 200 ml/m^3 500 mg/m^3
Salzsäure (37 %, rauchend)	Merck 100317	 C **R:** 34-37 **S:** 26-36/37/39-45	[7647-01-0] 5 ml/m^3 7.6 mg/m^3
Schwefelsäure (95-97 %)	Merck 100731	 C **R:** 35 **S:** 26-30-45	[7664-93-9] 0.1 mg/m^3

Tab. A- 9 (Forts.): Verzeichnis der verwendeten Chemikalien

Bezeichnung	***Hersteller Artikel-Nr.***	***Gefahrensymbol R-Sätze S-Sätze***	***CAS-Nr. MAK***
Tetrahydrofuran	I. Merck 109731 II. Biosolve 20220702	F Xi **R:** 11-19-36/37 **S:** 16-29-33	[109-99-9] 50 ml/m^3 150 mg/m^3
Trichloressigsäure	Merck 100807	C **R:** 35 **S:** 24/25-26-45	[76-03-9]

Wenn nicht anders angegeben wurden analysenreine Chemikalien verwendet.

Tab. A- 10: Verbrauchsmittel

Bezeichnung und Beschreibung	***Hersteller Artikel-Nr.***
Festphasenkartuschen Supelclean LC-Si Füllgewicht: 500 mg Reservoirvolumen: 3 ml	Supelco 505048
Indikatorstäbchen nicht blutend	Merck 109535
Reaktionsgefäße 2 ml	Eppendorf
Universalindikator	Merck 109526

A 2 Arbeitsvorschriften, Messbedingungen und Geräte

A 2.1 Bestimmung von α-Tocopherol, β-Carotin und Retinol

A 2.1.1 Extraktion

A 2.1.1.1 Leber- und Muskelgewebe, Nierenfett

- Vorlage von 0.5 g Ascorbinsäure in einem braunen 50 ml-Schraubdeckelgefäß (Schott ®)
- Einwaage von ca. 4 g zerkleinertem, von den Randschichten befreiten Gewebe (für Nierenfett: ca. 2 g)
- Zugabe von 10 ml wässrig-methanolischer KOH-Lsg. (ca. 40 %; 375 g KOH-Plätzchen in 750 ml entm. Wasser und 450 ml MeOH)
- mit Stickstoff begasen und Gefäß dicht verschließen
- 60 min bei 80 °C im Trockenschrank unter gelegentlichem Umschütteln hydrolysieren
- Zugabe von 20 ml EtOH (20 ml/100 ml) zur erkalteten Lösung (für Nierenfett: Zugabe von 20 ml EtOH (50 ml/100 ml) zu der noch warmen Lösung) und 5 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT)
- Schütteln für 10 min auf der Schüttelmaschine (ca. 4 Hz)
- Auffüllen des Gefäßes bis zur Halsverengung mit entm. Wasser und Zentrifugation bei 4000 Umdrehungen (U) min^{-1} für 10 min
- 1 ml des Überstandes in ein Vial überführen
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Rückstand in 100 µl THF (enthält 0.01 g/100 ml BHT) lösen und 900 µl abs. EtOH hinzufügen
- Injektion von 50 µl in die HPLC

A 2.1.1.2 Plasma

- Vorlage von 0.1 g Ascorbinsäure in einem Pyrexglas
- Zugabe von 500 µl Plasma (aufgetaut und sorgfältig durchmischt) und 500 µl abs. EtOH
- mit Stickstoff begasen, Gefäß dicht verschließen und kräftig schütteln
- 5 min bei 80 °C im Trockenschrank denaturieren, anschließend abkühlen lassen
- Zugabe von 1 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT)
- Schütteln für 10 min auf der Schüttelmaschine (ca. 4 Hz)
- Zentrifugation bei 2500 U min^{-1} für 2 min
- 0.5 ml des Überstandes in ein Vial überführen
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Rückstand in 50 µl THF (enthält 0.01 g/100 ml BHT) lösen und 450 µl abs. EtOH hinzufügen
- Injektion von 50 µl in die HPLC

A 2.1.2 Messbedingungen

A 2.1.2.1 Geräte

Pumpe	ConstaMetric 3000 (Milton Roy, Riviera Beach, USA) bzw. L-6000 (Merck/Hitachi, Darmstadt)
Probenaufgabesystem	AS-4000 Autosampler (Merck/Hitachi, Darmstadt) Injektionsvolumen: 50 µl
Säulenofen	T-6300 (Merck/Hitachi, Darmstadt) 30 °C
Detektor 1	F-1050 Fluorescence Spektrophotometer (Merck/Hitachi, Darmstadt) α-Tocopherol: Anregung: λ = 285 nm Emission: λ = 325 nm
Detektor 2	L-4250 UV-VIS Detektor (Merck/Hitachi, Darmstadt) β-Carotin: λ = 453 nm Retinol: λ = 320 nm
Auswertung	D-7000 Chromatography Data Station (Merck/Hitachi, Darmstadt)

A 2.1.2.2 Chromatographiebedingungen

Vorsäule	Nucleosil 100-5 C18 10 mm x 4 mm ID (Merck, Darmstadt)
Trennsäule	LiChrospher 100-5 C18 ec 250 mm x 4 mm ID (Merck, Darmstadt)
Eluent	ACN/DCM/MeOH (70:20:10; v:v:v) (Recyclingmodus)
Flussrate	1.0 ml/min
Laufzeit	15 min

Die Quantifizierung erfolgt über die Peakflächen nach der externen Standard-Methode. Zusammensetzung der Standards siehe Tab. A- 2.

A 2.2 Bestimmung des Fettsäuremusters

A 2.2.1 Extraktion

A 2.2.1.1 Leber- und Muskelgewebe

- Einwaage von ca. 5 g zerkleinertem, von den Randschichten befreiten Gewebe in 100 ml-Zentrifugenglas
- Zugabe von 15 ml DCM/MeOH (2:1; v:v)
- unter Eiskühlung ca. 2 min mit dem Ultra-Turrax dispergieren
- Zentrifugenglas mit Parafilm™ abdichten und Zentrifugation bei 4000 U min^{-1} für 10 min
- Überstand in 250 ml-Rundkolben dekantieren
- Extraktion des Rückstandes im Ultraschallbad jeweils zwei Mal mit 10 ml DCM/MeOH (2:1; v:v) und einmal mit 10 ml *n*-Hexan, nach jeder Extraktion erfolgt eine Zentrifugation bei 4000 U min^{-1} für 10 min, die Überstände werden jeweils in die entsprechenden Rundkolben abdekantiert
- gesammelte Extrakte am Rotationsverdampfer bis zur Trockne einengen (40 °C, Druck langsam von 600 mbar auf 40 mbar reduzieren)
- Rückstand in 5 ml wassergesättigtem DCM und 5 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) aufnehmen und im Ultraschallbad lösen
- Extraktionslösung über wasserfreiem Natriumsulfat trocknen, in einen 10 ml-Meßkolben filtrieren
- Filterrückstand mit *n*-Hexan nachwaschen und Kolben bis zur Marke auffüllen

A 2.2.1.2 Nierenfett

- Einwaage ca. 2 g von Randschichten befreites Nierenfett in ein Becherglas
- Fett bei 600 Watt für 3 min in der Mikrowelle ausschmelzen
- ca. 0.2 g Fett in ein Pyrexglas überführen und in 5 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) lösen

A 2.2.1.3 Plasma

- 1 ml Plasma (aufgetaut und sorgfältig durchmischt) in ein Pyrexglas geben
- Zugabe von 3 ml DCM/MeOH (2:1; v:v), kräftig schütteln
- Schütteln für 5 min auf der Schüttelmaschine (ca. 4 Hz)
- Zentrifugation bei 3000 U min^{-1} für 2 min
- Überstand durch wasserfreies Natriumsulfat in 10 ml-Braunglasflache filtrieren
- Extraktion des Rückstandes jeweils zwei Mal mit 3 ml DCM/MeOH (2:1; v:v), nach jeder Extraktion erfolgt eine Zentrifugation bei 3000 U min^{-1} für 2 min, die Überstände werden jeweils in die entsprechenden Braunglasflaschen filtriert.
- Zugabe von 200 µl methanolischer BHT-Lsg. (1 g/100 ml)
- gesammelte Extrakte unter dem Stickstoffstrom zur Trockne einengen
- Rückstand in 2 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) aufnehmen
- Extrakt zur Lipidfraktionierung einsetzen

A 2.2.2 Lipidfraktionierung mittels SPE

- Konditionieren der Silica-SPE-Kartusche mit 5 ml *n*-Hexan und 8 ml wassergesättigtem DCM
- Aufgabe von 2 ml des Rohextraktes (für Leber: Aufgabe von 0.5 ml des Rohextraktes)
- Elution der CE mit 9 ml *n*-Hexan/Chloroform (9:1; v:v) in Pyrexglas
- Elution der TG mit 6 ml *n*-Hexan/Diethylether (1:1; v:v) in Pyrexglas
- für Muskel und Leber: Elution der CE und TG mit 6 ml *n*-Hexan/Chloroform (9:1; v:v) und 4 ml *n*-Hexan/Diethylether (1:1; v:v), Fraktion verwerfen
- Elution der PL mit 30 ml MeOH/Wasser (98:2; v:v) in 50 ml-Braunglasgefäß (Schott ®)

A 2.2.3 Lipidfraktionierung mittels semipräparativer HPLC

- 2 ml des Rohextraktes in ein Probenvial geben
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Rückstand in 150 µl *n*-Hexan/Chloroform (1:2; v:v) aufnehmen
- Injektion von 100 µl in die HPLC (***System A***)

Die Trennung der CE und TG in den Leberproben erfolgt wie folgt:

- CE und TG enthaltende Mischfraktion sammeln
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Rückstand in 110 µl *n*-Hexan aufnehmen
- Injektion von 100 µl in die HPLC (***System B***)

A 2.2.3.1 Messbedingungen

A 2.2.3.1.1 Geräte

Pumpe	L-6200 Niederdruck-Gradientenpumpe (Merck/Hitachi, Darmstadt)
Probenaufgabesystem	manuell, Rheodyne-Ventil, Probenschleife: 100 µl
Split-Ventil	1:9 (Detektion/Fraktionierung)
Detektor	Model 750/14 Mass-Detector ACS Massen-Detektor Zerstäuber-Gas: Pressluft (1.4 bar) Temperatur: 60 °C
Auswertung	D-2500 Chromato-Integrator (Merck/Hitachi, Darmstadt)

A 2.2.3.1.2 Chromatographiebedingungen

System A

Vorsäule LiChrospher Si 60-5 10 mm x 4 mm ID (Merck, Darmstadt)

Trennsäule LiChrospher Si 60-5 250 mm x 4 mm ID (Merck, Darmstadt)

Eluent Gradient

A: Isooctan/THF (99:1; v:v)

B: 2-Propanol/Chloroform (4:1; v:v)

C: 2-Propanol/bidestilliertes Wasser (1:1; v:v)

t [min]	*Eluent A [%]*	*Eluent B [%]*	*Eluent C [%]*
0	100		
1	100		
5	80	20	
5.1	42	52	6
20	32	52	16
25	32	52	16
25.1	30	70	
30	100		
35	100		

Flussrate 2.0 ml/min

Laufzeit 35 min

System B

Vorsäule wie ***System A***

Trennsäule wie ***System A***

Eluent isokratisch

n-Hexan/THF/Eisessig (500:52:0.1; v:v:v)

(Säule ca. 1 Stunde äquilibrieren)

Flussrate 0.5 ml/min

Laufzeit 12 min

Die Retentionszeiten der zu untersuchenden Fraktionen wurden zuvor mit Hilfe externer Standards (Zusammensetzung siehe Tab. A- 7) bestimmt. Die Fraktionen werden wie in Abschnitt A 2.2.4.4 beschrieben derivatisiert.

A 2.2.4 Derivatisierung

A 2.2.4.1 Umesterung des Nierenfettes

- Zugabe von 0.2 ml methanolischer KOH-Lsg. (11 g/100 ml) zum Rohextrakt, Gefäße dicht verschließen und kräftig schütteln
- 10 min bei Raumtemperatur stehen lassen, gelegentlich schütteln
- mit Salzsäure (2 N) unter gegen Methylorange (0.1 g/100 ml) neutralisieren
- Schütteln für 10 min auf der Schüttelmaschine (ca. 4 Hz)
- 100 µl der organischen Phase mit 1 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) verdünnen
- Injektion von 1 µl in den GC

A 2.2.4.2 Umesterung der CE und TG des Plasmas

- Eluate mit CE und TG unter dem Stickstoffstrom bis zur Trockne einengen und mit 1 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) aufnehmen
- Zugabe von 0.5 ml methanolischer Kaliummethylat-Lsg. (5 g/100 ml), Gefäße dicht verschließen und kräftig schütteln
- 90 min (für TG: 60 min) bei 60 °C im Trockenschrank derivatisieren
- nach dem Abkühlen mit Schwefelsäure (2 ml/100 ml) gegen Methylorange (0.1 g/100 ml) neutralisieren
- Zentrifugation bei 4500 U min^{-1} für 10 min
- organische Phase in Probenvial transferieren
- Injektion von 2 µl in den GC

A 2.2.4.3 Umesterung der PL

- Zugabe von 1.2 ml methanolischer KOH-Lsg. (11 g/100 ml), Gefäße dicht verschließen und kräftig schütteln
- 15 min bei Raumtemperatur stehen lassen, gelegentlich schütteln
- mit Salzsäure (2 N) unter Verwendung von Universalindikatorpapier neutralisieren
- Zugabe von 1 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT)
- Schütteln für 10 min auf der Schüttelmaschine (ca. 4 Hz)
- Probengefäß bis zur Halsverengung mit entm. Wasser auffüllen
- Zentrifugation bei 4000 U min^{-1} für 10 min
- organische Phase in Probenvial transferieren und Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- für PL Muskel: Rückstand in 2 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) aufnehmen
- für PL Leber: Rückstand in 1 ml *n*-Hexan aufnehmen und 1:5 mit *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) verdünnen
- Injektion von 2 µl in den GC

A 2.2.4.4 Umesterung der HPLC-Fraktionen

- Eluate unter dem Stickstoffstrom bis zur Trockne einengen und mit 1 ml *n*-Hexan (enthält 0.01 g/100 ml BHT) aufnehmen
- Zugabe von 0.5 ml methanolischer Kaliummethylat-Lsg. (5 g/100 ml), Gefäße dicht verschließen und kräftig schütteln
- 60 min bei 60 °C im Trockenschrank derivatisieren
- nach dem Abkühlen mit Schwefelsäure (2 ml/100 ml) gegen Methylorange (0.1 g/100 ml) neutralisieren
- Zentrifugation bei 4500 U min^{-1} für 10 min
- organische Phase in Probenvial transferieren und Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- für PE und PC Leber: Rückstand in 1.5 ml *n*-Hexan aufnehmen
- für PI+PS Leber und CE+TG Muskel: Rückstand in 1 ml *n*-Hexan aufnehmen
- für PE, PI+PS und PC Muskel; CE und TG Leber: Rückstand in 100 µl *n*-Hexan aufnehmen
- Injektion von 5 µl in den GC

A 2.2.5 Messbedingungen

A 2.2.5.1 Geräte

GC	HP 6890 Series GC-System (Hewlett Packard, Palo Alto, USA)
Probenauf-	HP 6890 Series Injector (Autosampler) (Hewlett Packard, Palo Alto, USA)
gabesystem	Injektionsvolumen: 1 bis 5 µl
Injektor	Split 1:10 240 °C
Detektor	FID 260 °C
	Brenngase: Wasserstoff (50 ml/min), Pressluft (400 ml/min)
	Make-up-Gas: Stickstoff (30 ml/min)
Auswertung	ChemStation Version A 07.01 (Hewlett Packard, Palo Alto, USA)

A 2.2.5.2 Chromatographiebedingungen

Vorsäule	fused silica 1 m x 0.25 mm ID; unbelegt
Trennsäule	CP-Sil 88 100 m x 0.25 mm ID; 0.2 µm Filmdicke
	(Chrompack, Middelborg, Niederlande)
Trägergas	Wasserstoff
Flussrate	1.5 ml/min
Temperatur-	70 °C, 2 min isotherm
programm	2 °C/min auf 175 °C, 15 min isotherm
	5 °C/min auf 200 °C, 5 min isotherm
	2 °C/min auf 235 °C, 10 min isotherm
Laufzeit	107 min

Die Quantifizierung erfolgt über die Peakflächen nach der normalisierten Prozent-Methode. Zusammensetzung des Standards siehe Tab. A- 6 und Tab. A- 8.

A 2.3 Bestimmung von Malondialdehyd

A 2.3.1 Extraktion

A 2.3.1.1 Muskelgewebe

- Einwaage von ca. 8 g grob zerkleinertem, von den Randschichten befreiten Gewebe in der Moulinette genau 1 min zerkleinern
- Einwaage von 5 g des Fleischbreis in ein braunes 50 ml-Schraubdeckelgefäß
- Zugabe von 5 ml Trichloressigsäure-Lsg. (10 g/100 ml) und 150 µl ethanolischer BHT-Lsg. (0.3 g/100 ml)
- auf 20 g mit entm. Wasser auffüllen
- Gefäßinhalt mit Stickstoff begasen und fest verschließen
- Schütteln für 30 min auf der Schüttelmaschine (ca. 4 Hz)
- Zentrifugation bei 3000 U min^{-1} für 10 min
- Extraktionslösung durch einen Faltenfilter filtrieren
- Gefäßinhalt mit Stickstoff begasen und fest verschließen
- Extrakte bis zur Messung bei -21 ± 2 °C lagern

A 2.3.1.2 Plasma

- 1 ml des Plasmas (aufgetaut und sorgfältig durchmischt) in Pyrexglas pipettieren
- Zugabe von 1 ml Trichloressigsäure-Lsg. (10 g/100 ml) und 10 µl ethanolischer BHT-Lsg. (0.3 g/100 ml)
- Gefäßinhalt mit Stickstoff begasen und fest verschließen
- Schütteln für 1 min auf dem Vortex-Mixer
- Zentrifugation bei 3000 U min^{-1} für 10 min
- Überstand in 1.5 ml-Eppendorf-Tube überführen
- Gefäßinhalt mit Stickstoff begasen und fest verschließen
- Extrakte bis zur Messung bei -21 ± 2 °C lagern

A 2.3.2 Derivatisierung

- 1 ml des aufgetauten Extraktes in Pyrexglas pipettieren
- Zugabe von 250 µl Lsg. A (siehe unten), 100 µl ethanolischer BHT-Lsg. (0.3 g/100 ml), 500 µl DETBA-Lsg. (siehe unten) und 200 µl Lsg. B (siehe unten)
- Schütteln für 1 min auf dem Vortex-Mixer
- 30 min bei 95 °C unter gelegentlichem Schütteln inkubieren
- 10 min im Eisbad abkühlen
- Zugabe von 2 ml Ethylacetat
- Schütteln für 1 min auf dem Vortex-Mixer
- Zugabe von 200 µl KOH-Lsg. (60 g/100 ml)
- Schütteln für 1 min auf dem Vortex-Mixer
- Zentrifugation bei 3000 U min^{-1} für 10 min
- Überstand in ein Vial überführen
- Injektion von 10 µl in die HPLC

Verwendete Lösungen:

Lsg. A

8.1 g Brij 35
1.81 g Natriumchlorid
0.95 g reduziertes Glutathion in 100 ml entm. Wasser

Lsg. B

0.17 g Eisen(III)chlorid-Hexahydrat
3.26 ml *ortho*-Phosphorsäure (85 %) in 100 ml entm. Wasser

DETBA-Lsg.

1.5 g DETBA
Natriumhydrogencarbonat zur Lösung
Salzsäure (37 %) ad pH 6.5 in 10 ml entm. Wasser

A 2.3.3 Messbedingungen

A 2.3.3.1 Geräte

Pumpe	L-6000 (Merck/Hitachi, Darmstadt)
Probenauf-	AS-4000 Autosampler (Merck/Hitachi, Darmstadt)
gabesystem	Injektionsvolumen: 10 µl
Detektor	F-1050 Fluorescence Spektrophotometer (Merck/Hitachi, Darmstadt)
	Anregung: λ = 515 nm Emission: λ = 547 nm
Auswertung	Millennium^{32} Version 3.20 (Waters, Eschborn)

A 2.3.3.2 Chromatographiebedingungen

Vorsäule	Nucleosil 120-5 C18 10 mm x 4 mm ID (Macherey & Nagel, Düren)
Trennsäule	Nucleosil 120-5 C18 250 mm x 4 mm ID (Macherey & Nagel, Düren)
Eluent	isokratisch
	ACN/bidestilliertes Wasser (85:15; v:v) (Recyclingmodus)
Flussrate	1.6 ml/min
Laufzeit	5 min

Die Quantifizierung erfolgt über die Peakflächen nach der externen Standard-Methode. Zusammensetzung der Standards siehe Tab. A- 4.

A 2.4 Bestimmung der antioxidativen Kapazität

A 2.4.1 Extraktion

A 2.4.1.1 Muskelgewebe

- Einwaage von ca. 8 g grob zerkleinertem, von den Randschichten befreiten Gewebe in der Moulinette genau 1 min zerkleinern
- Einwaage von 5 g des Fleischbreis in ein braunes 50 ml-Schraubdeckelgefäß (Schott ®)
- Zugabe von 20 ml Extraktionslsg. (siehe unten) und 5 ml Trichloressigsäure-Lsg. (10 g/100 ml)
- Gefäßinhalt mit Stickstoff begasen und fest verschließen
- Schütteln für 30 min auf der Schüttelmaschine (ca. 4 Hz)
- Zentrifugation bei 3000 U min^{-1} für 10 min
- Extraktionslösung durch zwei Faltenfilter filtrieren
- Gefäßinhalt mit Stickstoff begasen und fest verschließen
- Extrakt wird bis zur Messung bei -21 ± 2 °C gelagert.

Verwendete Lösungen:

Extraktionslsg.

500 ml Aceton
400 ml EtOH
100 ml entm. Wasser

A 2.4.1.2 Plasma

Das Plasma kann nach dem Auftauen und Mischen direkt zur Betimmung eingesetzt werden.

A 2.4.2 Messbedingungen

A 2.4.2.1 Gerät

Spektral-photometer Kontron Uvikon, Zweistrahlphotometer

A 2.4.2.2 Photometriebedingungen

Methode konstante Wellenlänge
Wellenlänge 734 nm
Schichtdicke 1 cm
Temperatur 37 °C
Referenz Luft

- 1960 µl der auf 37 °C temperierten Arbeitslösung in eine Einmal-Küvette geben
- Messung der Extinktion vor und nach Zugabe von 40 µl Probenextrakt bzw. Standard
- Berechnung der Extinktionsdifferenz

Verwendete Lösungen:

Phosphatpuffer

0.218 g Kaliumdihydrogenphosphat
1.494 g Di-natriumhydrogenphosphat-Dihydrat
8.766 g Natriumchlorid in 1 l entm. Wasser

Arbeitslsg.

67.8 mg ABAP
109.7 mg ABTS in 100 ml Phosphatpuffer
12 Minuten bei 60 °C inkubieren, anschließend im Eisbad abkühlen und filtrieren. Das Filtrat soll eine Extinktion zwischen 0.35 und 0.45 Extinktions-Einheiten aufweisen.

Die Quantifizierung erfolgt über die Extinktionsdifferenzen einer Kalibriergeraden mit Trolox. Zusammensetzung der Standards siehe Tab. A- 5.

A 2.5 Bestimmung der 2*R*-Stereoisomere des α-Tocopherols

A 2.5.1 Isolierung des α-Tocopherols

Die Hydrolyse der Muskelgewebeproben erfolgt wie in A 2.1.1.1 beschrieben.

- Hydrolyseansatz in einen Scheidetrichter überführen und zwei Mal mit je 5 ml *n*-Hexan extrahieren
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Rückstand in ca. 50 µl *n*-Hexan lösen
- Injektion in die HPLC

A 2.5.2 Reinigung des α-Tocopherols mittels HPLC

A 2.5.2.1 Messbedingungen

A 2.5.2.1.1 Geräte

Pumpe	2249 Gradient Pump (LKB, Bromma, Schweden)
Probenauf-gabesystem	manuell, Rheodyne-Ventil, Probenschleife: 100 µl
Detektor 1	F-1050 Fluorescence Spektrophotometer (Merck/Hitachi, Darmstadt) Anregung: λ = 285 nm Emission: λ = 325 nm
Detektor 2	484 Tunable Absorbance Detector (Waters/Millipore, Eschborn) λ = 290 nm
Fraktionen-sammler	Model 201 Fraction Collector (Gilson Abimed, Villiers-le-Bel, Frankreich)
Auswertung	Chromstar Version 4.0 (SCPA GmbH, Stuhr)

A 2.5.2.1.2 Chromatographiebedingungen

Vorsäule	LiChrosorb Si 60-5 10 mm x 4 mm ID (Merck, Darmstadt)
Trennsäule	LiChrosorb Si 60-7 250 mm x 4 mm ID (Merck, Darmstadt)
Eluent	isokratisch *n*-Hexan/Ethylacetat (95:5; v:v) (Recyclingmodus)
Flussrate	1.0 ml/min
Laufzeit	18 min

Die Retentionszeit von α-Tocopherol wird zuvor mit Hilfe eines externen Standards (Zusammensetzung siehe Tab. A- 3) bestimmt. Nach Injektion der Extrakte wird jeweils die α-Tocopherol-enthaltende Fraktion gesammelt.

A 2.5.3 Derivatisierung

- HPLC-Eluat in 2 ml Eppendorf-Tube überführen
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Rückstand in 50 µl Ethylenglycoldimethylether
- Zugabe von 25 µl wässrig-methanolischer KOH-Lsg. (ca. 50 %; 5 g KOH-Plätzchen in wenig entm. Wasser lösen und auf 10 ml mit MeOH auffüllen) und 30 µl Dimethylsulfat
- 60 min bei Raumtemperatur rühren
- Zugabe von 15 µl Dimethylsulfat
- 90 min bei Raumtemperatur rühren
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Zugabe von 100 µl entm. Wasser
- Extraktion des α-Tocopherylmethylethers mit zwei Mal mit je 500 µl *n*-Hexan
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Rückstand in 50 µl *n*-Hexan lösen
- Injektion in die HPLC

A 2.5.4 Reinigung des α-Tocopherylmethylethers mittels HPLC

A 2.5.4.1 Messbedingungen

A 2.5.4.1.1 Geräte

Siehe Kapitel A 2.5.2.1.1

A 2.5.4.1.2 Chromatographiebedingungen

Siehe Kapitel A 2.5.2.1.2

Die Retentionszeit des α-Tocopherylmethylethers wird zuvor mit Hilfe eines derivatisierten α-Tocopherol-Standards bestimmt. Nach Injektion der Extrakte wird jeweils die α-Tocopherylmethylether-enthaltende Fraktion gesammelt.

A 2.5.5 Trennung der Isomeren des α-Tocopherylmethylethers

- HPLC-Eluat in 2 ml Braunglas-Vial überführen
- Lösungsmittel unter dem Stickstoffstrom entfernen
- Rückstand in 150 µl *n*-Hexan lösen
- Injektion von 100 µl in die HPLC

A 2.5.6 Messbedingungen

A 2.5.6.1 Geräte

Pumpe	L-6000 (Merck/Hitachi, Darmstadt)
Probenauf-gabesystem	AS-4000 Autosampler (Merck/Hitachi, Darmstadt) Injektionsvolumen: 100 µl
Detektor 1	F-1050 Fluorescence Spektrophotometer (Merck/Hitachi, Darmstadt) Anregung: λ = 285 nm Emission: λ = 325 nm
Detektor 2	996 Photodiodenarray-Detektor (Waters, Eschborn) Meßbereich: 200 - 400 nm
Auswertung	Millennium^{32} Version 3.20 (Waters, Eschborn)

A 2.5.6.2 Chromatographiebedingungen

Vorsäule	-
Trennsäule	Chiralcel OD-H 250 mm x 4.6 mm ID (Daicel Chemical Industries, Tokyo, Japan)
Eluent	*n*-Hexan (Recyclingmodus)
Flussrate	1.5 ml/min
Laufzeit	60 min

Die Elutionsreihenfolge entspricht der von RISS et al. (1994) angegebenen. Die Quantifizierung erfolgt über die relativen Peakflächen der 2*R*-Isomerenpeaks.

A 3 Weitere Geräte

Zentrifuge	Heraeus Instruments UJ III, Hanau
Trockenschrank	Heraeus Instruments BI 3645 E, Hanau
Ultraschallbad	Elma Transonic Digital T 480/H-2
Grobwaage	Sartorius Universal U 6100 D $\pm$ 0.01 g, Göttingen
Analysenwaage	Sartorius 2474 $\pm$ 0.01 mg, Göttingen
Ultra Turrax	Janke & Kunkel T 25, IKA-Werke, Staufen
Rotationsverdampfer	Heidolph VV 60 bzw. VV 2000, Schwabach
Schüttelmaschine	Edmund Bühler SM B5, Johanna Otto GmbH, Hechingen
Mikrowellengerät	Sharp Electronics R-730 A, Hamburg
SPE-Kartuschenhalter	Macherey-Nagel GmbH, Düren
Bidestillationsapparat	
Wasserbad	
Thermostat	

A 4 Ergebnisse Fütterungsversuch I (Färsen)

Tab. A- 11: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der α-Tocopherol-Gehalte in den untersuchten Geweben und im Plasma; MLD und Leber [mg/kg], Plasma [mg/l] (n = 12)

	MW	***Stabw.***	***Median***
		MS K	
MLD	0.66 [a]	0.17	0.70
Plasma	0.54 [a]	0.21	0.53
Leber	0.60 [a]	0.18	0.66
		MS T	
MLD	2.21 [b]	0.67	2.22
Plasma	1.83 [b]	0.68	1.72
Leber	5.66 [b]	1.45	5.98
		Weide	
MLD	3.52 [c]	0.71	3.26
Plasma	3.55 [c]	1.45	3.60
Leber	9.46 [c]	2.17	9.04

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb desselben Gewebes an. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Tab. A- 12: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der β-Carotin-Gehalte in den untersuchten Geweben und im Plasma; MLD und Leber [mg/kg], Plasma [mg/l] (n = 12)

	MW	***Stabw.***	***Median***
		MS K	
MLD	n. b. [a]	0.01	n. b.
Plasma	0.30 [a]	0.13	0.31
Leber	0.87 [a]	0.14	0.86
		MS T	
MLD	n. b. [a]	0.01	n. b.
Plasma	0.23 [a]	0.15	0.25
Leber	0.94 [a]	0.36	0.86
		Weide	
MLD	0.27 [b]	0.05	0.27
Plasma	4.09 [b]	1.46	4.08
Leber	14.52 [b]	4.58	15.21

n. b. nicht bestimmbar

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb desselben Gewebes an. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Tab. A- 13: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der Retinol-Gehalte im Plasma; [mg/l] (n = 12)

	Mittelwert	***Stabw.***	***Median***
		MS K	
Plasma	0.70 [a]	0.18	0.71
		MS T	
Plasma	0.92 [a]	0.41	0.86
		Weide	
Plasma	0.53 [b]	0.21	0.50

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb desselben Gewebes an. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Tab. A- 14: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der CE+TG-Fraktion des MLD; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		MS K			***MS T***			***Weide***	
C 14	1.77	0.36	1.88	2.29	0.83	2.11	1.77	0.17	1.76
C 14:1 c9	0.42	0.18	0.34	0.40	0.16	0.42	0.25	0.08	0.25
C 15	0.21	0.03	0.23	0.24	0.12	0.17	0.46	0.15	0.41
C 16	24.63	2.49	24.51	27.77	6.37	25.10	22.02	1.34	21.81
C 16:1 c9	3.10	1.62	3.39	3.61	2.58	3.22	3.53	0.55	3.45
C 17	0.50	0.42	0.67	0.89	0.56	0.83	0.99	0.50	1.07
C 17:1 c10	0.90	0.06	0.89	0.70	0.43	0.81	0.85	0.12	0.81
C 18	14.33	1.23	14.71	15.15	3.28	15.22	18.38	2.90	17.36
C 18:1 c9	50.83	3.19	50.41	45.48	7.24	47.50	47.00	3.37	47.29
C 18:2 t9t12	0.45	0.09	0.42	0.60	0.35	0.52	0.24	0.15	0.22
C 18:2 c9c12	1.43	0.20	1.43	1.39	0.78	1.32	1.81	0.46	1.95
C 20	0.07	0.04	0.07	0.05	0.05	0.08	0.16	0.04	0.15
C 18:3 n-3	0.48	0.06	0.47	0.34	0.20	0.37	1.81	0.25	1.95
SFA	41.62	2.65	42.58	46.50	4.91	46.34	43.96	3.39	43.12
MUFA	55.25	2.52	54.59	50.19	5.15	51.04	52.00	3.92	53.39
PUFA	2.50	0.30	2.42	2.49	0.76	2.11	3.43	0.74	3.43
PUFA n-3	0.49	0.05	0.49	0.35	0.20	0.37	1.21	0.28	1.25
PUFA n-6	1.56	0.23	1.55	1.54	0.71	1.42	1.97	0.48	2.11
CLA	0.64	0.12	0.60	0.81	0.47	0.67	0.63	0.09	0.66

Tab. A- 15: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PL-Fraktion des MLD; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	0.31	0.56	0.05	0.05	0.07	0.00	0.24	0.39	0.06
C 16	17.92	0.74	17.84	18.70	1.08	19.02	19.23	1.56	19.25
C 16:1 c9	1.13	0.25	1.14	1.27	0.53	1.11	1.05	0.19	1.01
C 17	0.55	0.06	0.54	0.55	0.07	0.55	0.62	0.04	0.61
C 18	14.77	1.50	14.24	14.02	0.79	14.10	15.75	1.38	15.94
C 18:1 c9	26.31	4.34	27.64	24.67	2.78	25.05	22.43	2.02	21.86
C 18:2 c9c12	20.03	2.97	19.32	20.51	1.93	19.72	18.59	1.28	18.28
C 18:3 n-6	0.17	0.12	0.20	0.21	0.05	0.22	0.06	0.09	0.00
C 18:3 n-3	0.88	0.18	0.91	1.11	0.16	1.11	5.72	0.52	5.58
C 20:2 n-6	0.24	0.04	0.23	0.18	0.10	0.22	0.13	0.07	0.16
C 20:3 n-6	3.04	0.16	3.07	3.31	0.52	3.24	2.27	0.23	2.26
C 20:4 n-6	10.74	0.96	10.46	10.97	1.30	10.93	8.86	1.11	8.35
C 20:5 n-3	1.21	0.35	1.23	1.80	0.38	1.67	3.26	0.25	3.20
C 22:5 n-3	1.56	0.50	1.35	1.41	0.29	1.32	0.64	0.09	0.64
C 22:6 n-3	0.77	0.13	0.78	0.93	0.27	0.92	0.67	0.09	0.66
SFA	33.65	1.15	33.92	33.45	0.59	33.52	36.21	1.55	36.32
MUFA	27.59	4.48	29.04	26.07	3.29	26.47	23.53	2.21	22.82
PUFA	38.76	3.70	37.20	40.48	3.01	39.82	40.26	1.34	40.29
PUFA n-3	4.44	0.33	4.48	5.24	0.64	5.36	10.31	0.76	10.19
PUFA n-6	34.21	3.81	32.80	35.18	2.88	34.47	29.90	1.11	29.80

Tab. A- 16: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PE-Fraktion des MLD; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	0.26	0.12	0.19	0.49	0.54	0.26	0.20	0.10	0.18
C 16	2.30	0.35	2.21	2.24	0.60	2.48	1.98	0.46	2.11
C 16:1 c9	1.28	0.40	1.11	0.86	0.36	0.85	0.96	0.29	0.92
C 17	0.72	0.34	0.63	0.44	0.21	0.37	0.44	0.14	0.45
C 17:1 c10	2.02	1.86	1.46	3.71	3.64	3.35	0.90	0.85	0.47
C 18	13.81	6.68	14.93	11.74	3.92	12.87	16.21	2.03	16.76
C 18:1 t9	0.61	0.35	0.75	0.48	0.33	0.39	0.41	0.19	0.44
C 18:1 c9	12.55	1.91	12.73	13.11	2.86	12.29	11.42	0.77	11.31
C 18:2 c9c12	27.29	6.77	24.77	25.13	5.79	25.29	26.35	5.04	25.18
C 18:3 n-6	0.19	0.03	0.20	0.20	0.13	0.19	0.20	0.03	0.18
C 18:3 n-3	1.22	0.27	1.09	1.13	0.25	1.03	6.33	0.87	6.12
C 20:3 n-6	5.30	0.67	5.01	6.37	1.12	6.21	3.97	0.49	3.99
C 20:4 n-6	24.21	3.56	24.85	26.97	2.26	26.22	19.23	0.67	19.04
C 20:5 n-3	3.90	0.74	3.65	3.20	1.66	3.64	8.35	1.84	8.79
C 22:6 n-3	2.37	0.76	2.26	2.03	1.09	2.54	1.65	0.35	1.68
SFA	18.14	6.23	18.52	16.02	3.34	16.18	19.39	2.49	19.91
MUFA	16.52	2.76	16.27	18.28	5.05	17.57	13.81	1.40	13.52
PUFA	64.90	7.71	64.13	65.29	6.25	65.84	66.37	3.70	65.79
PUFA n-3	7.60	1.56	7.49	6.44	2.52	7.26	16.38	2.60	16.08
PUFA n-6	57.24	7.34	55.14	58.82	6.14	62.23	49.94	5.17	48.36
CLA	0.44	0.07	0.43	0.40	0.13	0.37	0.39	0.04	0.39

Tab. A- 17: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PI+PS-Fraktion des MLD; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 16	4.87	2.13	4.06	3.00	1.35	2.31	3.67	0.97	4.05
C 16:1 c9	0.83	0.41	0.64	0.47	0.14	0.45	0.60	0.16	0.61
C 17	0.82	0.48	0.65	0.50	0.07	0.47	0.60	0.08	0.59
C 18	36.89	13.52	41.70	41.47	2.86	43.18	47.72	5.09	45.29
C 18:1 t9	1.99	1.31	1.93	2.39	1.21	2.85	1.22	0.34	1.24
C 18:1 c9	12.71	4.49	14.49	14.15	1.92	13.76	13.96	1.81	14.71
C 18:2 c9c12	9.16	7.16	6.26	5.98	2.16	5.28	6.80	1.40	6.36
C 20	0.27	0.05	0.28	0.21	0.13	0.25	0.35	0.06	0.34
C 18:3 n-3	0.67	0.38	0.53	0.48	0.08	0.52	1.49	0.19	1.42
C 20:2 n-6	0.45	0.21	0.37	0.35	0.12	0.34	0.25	0.05	0.25
C 20:3 n-6	4.94	1.30	4.57	4.78	0.97	4.46	3.29	0.63	3.42
C 20:4 n-6	17.18	5.91	15.29	14.73	3.61	14.85	12.37	1.09	12.60
C 20:5 n-3	2.27	0.81	2.05	1.64	0.41	1.70	3.17	0.56	3.32
C 22:6 n-3	1.53	0.29	1.51	1.29	0.39	1.40	0.91	0.18	0.81
SFA	44.46	10.47	48.12	48.84	2.40	48.04	53.75	4.82	51.27
MUFA	18.06	6.43	18.79	20.94	4.69	20.27	16.92	3.29	17.01
PUFA	36.48	16.06	30.33	29.42	6.46	32.99	28.60	3.00	28.71
PUFA n-3	4.60	1.46	4.03	3.45	0.84	3.81	5.79	0.75	5.75
PUFA n-6	31.79	14.55	26.37	25.86	5.63	28.63	22.73	2.95	22.52
CLA	1.00	0.29	0.96	0.80	0.14	0.84	0.73	0.11	0.75

Tab. A- 18: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PC-Fraktion des MLD; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	0.24	0.04	0.25	1.20	2.07	0.22	0.18	0.05	0.17
C 16	18.66	5.00	20.98	23.05	1.54	23.35	21.86	0.94	21.70
C 16:1 c9	1.70	0.57	1.95	1.96	0.32	1.83	1.87	0.26	1.76
C 17	0.93	0.16	0.90	0.84	0.18	0.81	0.90	0.10	0.88
C 17:1 c10	1.99	0.86	1.67	1.35	0.25	1.28	1.54	0.40	1.41
C 18	2.91	1.27	2.98	4.67	2.42	3.89	4.10	1.59	4.14
C 18:1 c9	37.16	6.17	35.58	32.21	3.64	30.84	31.90	2.37	32.65
C 18:2 t9t12	0.24	0.06	0.24	0.16	0.10	0.17	0.20	0.04	0.21
C 18:2 c9c12	21.51	2.78	21.59	20.39	3.80	21.41	19.41	2.20	18.22
C 18:3 n-6	0.22	0.13	0.25	0.21	0.12	0.24	0.21	0.01	0.21
C 18:3 n-3	1.36	0.11	1.40	1.13	0.19	1.06	5.74	0.42	5.59
C 20:3 n-6	2.14	1.47	2.59	2.82	0.70	2.73	1.95	0.23	1.93
C 20:4 n-6	7.45	0.90	7.83	6.43	1.07	6.73	5.64	0.38	5.57
C 20:5 n-3	1.28	0.21	1.20	1.02	0.22	1.03	2.60	0.47	2.73
C 22:6 n-3	0.70	0.04	0.68	0.48	0.30	0.53	0.43	0.06	0.44
SFA	23.26	4.36	24.47	30.34	5.52	28.69	27.68	0.94	27.85
MUFA	41.17	5.51	40.62	36.42	3.86	34.17	35.51	2.71	36.20
PUFA	35.14	3.95	35.10	32.88	5.80	36.65	36.41	2.01	35.97
PUFA n-3	3.38	0.22	3.34	2.65	0.60	2.88	8.82	0.80	8.86
PUFA n-6	31.52	4.02	31.40	30.07	5.19	33.35	27.40	2.53	26.40
CLA	0.43	0.13	0.41	0.36	0.05	0.36	0.41	0.05	0.41

Tab. A- 19: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der CE-Fraktion der Leber; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	1.06	0.51	0.96	1.04	0.58	1.14	1.05	0.69	1.04
C 15	0.49	0.06	0.51	0.55	0.17	0.48	0.60	0.30	0.69
C 16	15.92	3.23	13.98	18.01	3.01	18.12	19.31	4.53	20.76
C 16:1 c9	2.32	0.84	1.93	2.55	1.05	2.48	1.41	0.95	1.41
C 17	1.29	0.25	1.32	1.31	0.28	1.21	0.94	0.68	1.13
C 17:1 c10	1.59	0.57	1.40	1.59	1.57	0.89	0.63	0.36	0.68
C 18	19.71	4.68	20.15	22.45	4.84	21.30	24.00	4.37	23.25
C 18:1 c9	23.60	6.34	24.84	24.31	4.12	25.68	26.44	9.65	28.85
C 18:2 t9t12	0.46	0.56	0.26	0.30	0.30	0.18	0.21	0.16	0.24
C 18:2 c9c12	16.48	4.93	17.00	13.45	5.23	11.31	9.87	4.27	8.75
C 18:3 n-6	1.42	0.85	1.56	1.18	1.22	0.55	0.38	0.40	0.21
C 18:3 n-3	1.09	1.02	0.62	0.62	0.11	0.59	2.07	2.73	1.11
C 20:3 n-6	2.94	1.64	1.92	3.24	2.17	2.41	2.91	1.93	2.66
C 20:4 n-6	2.49	0.61	2.57	3.22	0.90	3.46	6.32	5.54	4.63
C 22:6 n-3	1.27	1.00	0.93	0.86	0.89	0.56	0.76	0.97	0.31
SFA	39.10	7.13	39.19	43.54	7.57	43.07	46.32	6.85	44.75
MUFA	32.12	6.13	34.44	32.29	5.27	32.08	29.57	10.38	33.81
PUFA	27.20	6.78	29.65	23.36	5.71	20.90	23.36	12.85	18.40
PUFA n-3	2.71	1.85	1.98	1.81	0.83	1.58	3.35	3.51	2.33
PUFA n-6	24.02	5.43	25.84	21.25	6.12	19.14	19.80	9.82	17.14
CLA	1.57	2.64	0.56	0.81	0.24	0.76	0.76	0.22	0.80

Tab. A- 20: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der TG-Fraktion der Leber; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	1.69	0.76	1.56	2.28	0.50	2.40	1.83	0.29	1.71
C 16	23.23	5.86	19.80	27.22	5.78	26.58	32.27	6.80	36.13
C 16:1 c9	3.13	0.60	3.11	2.60	1.14	2.95	1.36	1.04	1.29
C 17	1.29	0.36	1.31	1.07	0.64	1.09	1.21	0.248	1.16
C 17:1 c10	0.92	0.46	0.96	0.78	0.47	1.04	0.56	0.17	0.50
C 18	14.54	4.44	14.40	16.21	4.93	16.41	13.86	2.41	13.38
C 18:1 c9	25.85	3.46	26.67	25.88	4.67	25.82	19.17	2.32	19.58
C 18:2 c9c12	6.89	1.13	6.96	6.81	2.40	5.89	6.13	2.65	4.99
C 18:3 n-6	0.31	0.40	0.10	0.13	0.15	0.13	0.63	0.25	0.64
C 18:3 n-3	0.63	0.12	0.69	0.63	0.14	0.63	3.80	2.92	3.57
C 20:3 n-6	3.68	1.18	4.09	3.31	1.31	3.20	2.77	1.49	2.16
C 20:4 n-6	6.54	5.09	4.08	4.99	2.97	3.89	10.64	5.14	13.28
C 20:5 n-3	1.00	0.94	0.51	0.92	0.69	0.66	0.08	0.07	0.05
C 22:6 n-3	2.14	0.77	2.25	1.41	0.72	1.39	2.03	1.88	1.31
SFA	41.94	6.96	39.74	51.03	6.02	53.12	50.68	9.48	56.51
MUFA	35.30	5.18	36.76	32.31	3.32	31.42	21.38	3.03	20.93
PUFA	21.98	8.24	18.52	15.81	3.18	15.58	26.58	8.20	21.74
PUFA n-3	3.78	1.54	4.01	2.97	1.31	2.72	6.04	3.50	7.10
PUFA n-6	17.63	7.06	14.88	15.50	6.31	13.52	20.32	8.01	21.12
CLA	0.78	0.12	0.83	0.89	0.31	0.82	1.31	0.39	1.48

Tab. A- 21: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PL-Fraktion der Leber; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 16	9.00	1.11	8.81	10.87	1.37	10.61	12.26	0.67	12.56
C 16:1 c9	0.36	0.12	0.34	0.49	0.03	0.48	0.48	0.07	0.48
C 17	1.40	0.17	1.32	1.20	0.08	1.20	1.30	0.13	1.32
C 18	39.11	1.27	38.74	38.21	1.87	37.96	40.69	1.07	40.67
C 18:1 c9	11.94	1.53	11.90	13.10	1.70	12.86	13.04	1.24	12.68
C 18:2 c9c12	8.39	0.99	7.89	7.64	1.31	7.79	7.32	0.54	7.32
C 18:3 n-6	0.24	0.05	0.25	0.25	0.03	0.24	0.28	0.06	0.26
C 18:3 n-3	0.38	0.04	0.37	0.83	1.15	0.41	2.96	0.32	2.96
C 20:2 n-6	0.21	0.05	0.20	0.17	0.04	0.18	0.16	0.04	0.16
C 20:3 n-6	8.58	1.14	8.43	6.70	1.84	7.52	4.38	0.58	4.31
C 20:4 n-6	12.18	1.48	12.05	11.07	1.72	11.61	8.05	0.42	8.19
C 20:5 n-3	0.70	0.22	0.61	1.53	1.72	0.72	3.83	0.71	3.74
C 22:5 n-3	3.02	0.57	3.12	2.72	1.47	2.81	1.22	0.31	1.26
C 22:6 n-3	3.87	0.33	3.95	4.23	1.02	4.35	2.99	0.46	2.82
SFA	49.79	1.38	49.57	50.73	2.97	49.81	54.88	0.97	55.10
MUFA	12.53	1.85	12.33	13.91	1.76	13.65	13.69	1.42	13.31
PUFA	37.69	2.49	37.53	35.36	2.72	36.13	31.43	1.05	31.57
PUFA n-3	7.97	0.38	8.13	9.36	1.23	9.43	11.11	0.79	11.13
PUFA n-6	29.59	2.17	29.27	25.83	3.77	27.66	20.19	0.58	20.13

Tab. A- 22: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PE-Fraktion der Leber; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 16	4.44	0.65	4.20	5.04	0.27	5.10	5.91	0.51	5.81
C 16:1 c9	0.95	0.07	0.97	0.83	0.37	0.78	0.35	0.17	0.30
C 17	1.18	0.18	1.15	1.13	0.10	1.11	1.32	0.13	1.30
C 17:1 c10	0.16	0.16	0.18	0.15	0.03	0.15	0.15	0.05	0.16
C 18	33.22	2.56	33.55	34.25	1.26	34.28	39.43	0.45	39.34
C 18:1 t9	1.60	0.69	1.32	1.29	0.90	1.31	0.08	0.04	0.08
C 18:1 c9	9.17	1.40	8.94	9.65	0.93	9.77	10.03	1.47	9.81
C 18:2 t9t12	0.37	0.15	0.38	0.23	0.20	0.23	0.08	0.01	0.08
C 18:2 c9c12	8.74	3.06	8.18	7.13	1.67	6.85	7.36	1.16	6.92
C 18:3 n-6	0.00	0.00	0.00	0.03	0.06	0.00	0.20	0.03	0.19
C 18:3 n-3	0.28	0.17	0.30	0.32	0.07	0.31	2.53	0.34	2.47
C 20:3 n-6	6.38	0.80	6.59	5.76	1.17	5.67	3.39	1.69	4.01
C 20:4 n-6	22.64	1.42	22.93	22.25	1.67	22.18	20.08	1.31	19.69
C 20:5 n-3	1.28	0.50	1.20	1.52	0.46	1.29	0.07	0.07	0.06
C 22:6 n-3	9.04	1.74	8.99	9.58	1.02	9.26	7.07	1.29	6.77
SFA	38.98	2.46	39.10	40.53	1.20	40.54	47.58	1.17	47.27
MUFA	11.89	1.19	11.59	11.97	1.92	12.83	10.73	1.44	10.57
PUFA	48.79	2.50	49.31	46.91	1.76	46.64	40.96	2.10	41.33
PUFA n-3	10.60	1.75	10.68	11.44	1.30	11.50	9.73	1.47	9.47
PUFA n-6	37.82	2.34	37.78	35.24	2.64	35.57	31.16	3.00	31.78
CLA	0.33	0.31	0.51	0.60	0.22	0.60	0.71	0.15	0.69

Tab. A- 23: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PI+PS-Fraktion der Leber; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 16	2.69	0.42	2.55	2.99	0.16	2.91	3.79	0.49	3.74
C 16:1 c9	0.48	0.11	0.41	0.60	0.14	0.61	0.52	0.08	0.53
C 17	1.21	0.18	1.12	1.12	0.14	1.13	1.04	0.09	1.05
C 17:1 c10	0.06	0.08	0.00	0.18	0.16	0.17	0.21	0.02	0.21
C 18	43.03	0.54	42.79	45.03	2.35	46.07	42.33	1.75	42.56
C 18:1 t9	3.09	1.42	2.33	1.76	1.47	1.79	0.15	0.08	0.13
C 18:1 c9	8.06	0.78	7.73	9.36	0.65	9.67	8.42	0.71	8.35
C 18:2 t9t12	0.18	0.24	0.00	0.20	0.13	0.19	0.05	0.05	0.05
C 18:2 c9c12	9.66	2.00	8.33	8.65	1.93	8.81	12.88	1.23	13.20
C 18:3 n-3	0.19	0.20	0.21	0.30	0.05	0.30	3.03	0.31	3.07
C 20:2 n-6	0.44	0.09	0.46	0.31	0.07	0.30	0.47	0.09	0.45
C 20:3 n-6	12.25	1.28	12.06	11.36	1.54	11.47	9.28	1.04	9.15
C 20:4 n-6	14.71	1.09	14.41	13.45	0.71	13.21	10.02	1.26	9.60
C 20:5 n-3	0.72	0.50	0.71	0.80	0.20	0.83	3.63	0.42	3.51
C 22:6 n-3	2.26	0.48	2.34	2.47	0.47	2.30	1.88	0.33	1.92
SFA	47.18	0.56	47.15	49.49	2.57	49.90	47.89	1.66	47.88
MUFA	11.69	1.34	12.35	11.91	1.89	12.34	9.29	0.80	9.30
PUFA	40.40	1.21	40.22	37.56	2.07	38.14	41.93	1.61	41.66
PUFA n-3	3.17	0.99	3.52	3.56	0.61	3.56	9.01	0.21	8.99
PUFA n-6	37.06	2.20	36.90	33.81	2.40	33.71	32.87	1.59	32.55
CLA	0.73	0.13	0.78	1.02	0.35	0.89	0.89	0.18	0.87

Tab. A- 24: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PC-Fraktion der Leber; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 16	9.70	1.39	8.94	11.01	0.69	11.32	15.20	1.23	15.14
C 16:1 c9	1.06	0.09	1.08	1.10	0.28	1.17	0.72	0.05	0.72
C 17	1.21	0.22	1.14	1.11	0.12	1.18	1.28	0.15	1.27
C 17:1 c10	0.22	0.04	0.22	0.25	0.04	0.25	0.26	0.03	0.25
C 18	32.91	2.24	33.02	34.01	2.09	34.60	36.99	1.99	36.52
C 18:1 t9	1.62	1.23	1.63	0.25	0.39	0.00	0.08	0.01	0.08
C 18:1 c9	13.50	1.92	13.15	14.35	1.55	14.80	15.55	1.16	15.59
C 18:2 t9t12	0.57	0.36	0.63	0.18	0.04	0.18	0.18	0.01	0.18
C 18:2 c9c12	7.41	1.56	6.54	7.09	1.56	7.18	6.60	0.77	6.35
C 18:3 n-6	0.25	0.17	0.33	0.30	0.03	0.31	0.43	0.10	0.39
C 18:3 n-3	0.36	0.08	0.33	0.37	0.06	0.37	1.64	1.23	2.27
C 20:3 n-6	11.46	1.36	11.44	9.85	1.42	10.40	6.07	0.71	6.18
C 20:4 n-6	10.31	1.47	10.50	10.00	1.07	9.96	6.82	0.68	6.72
C 20:5 n-3	1.27	0.42	1.22	1.45	0.45	1.37	1.59	2.37	0.07
C 22:6 n-3	6.74	1.32	6.27	7.11	1.03	7.14	4.87	0.44	4.76
SFA	44.14	1.20	43.55	46.56	1.74	47.26	54.19	1.72	54.35
MUFA	16.43	2.67	16.52	16.01	1.28	16.25	16.68	1.17	16.66
PUFA	38.69	1.80	38.74	36.62	1.48	37.21	28.44	2.09	28.06
PUFA n-3	8.37	1.46	7.75	8.95	1.23	9.53	8.22	2.23	7.92
PUFA n-6	29.76	2.58	29.16	27.50	1.96	28.32	20.04	0.67	20.11
CLA	0.74	0.14	0.66	0.81	0.11	0.82	0.70	0.26	0.73

Tab. A- 25: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der CE-Fraktion des Plasmas; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	0.91	0.31	1.11	1.16	0.28	1.08	0.87	0.12	0.88
C 15	0.78	0.19	0.85	0.67	0.41	0.67	0.78	0.39	0.89
C 16	11.71	2.34	12.02	12.58	3.34	11.66	10.40	1.43	9.99
C 16:1 c9	1.60	0.33	1.72	1.93	0.51	1.92	1.63	0.22	1.60
C 17	0.58	0.08	0.61	0.55	0.34	0.54	0.51	0.08	0.51
C 18	9.01	2.36	8.06	11.87	6.08	10.17	8.73	2.83	7.59
C 18:1 t9	0.35	0.34	0.29	0.56	0.50	0.45	0.19	0.27	0.09
C 18:1 c9	10.33	1.39	10.05	11.53	2.42	11.99	8.34	2.61	7.82
C 18:2 c9c12	53.65	6.23	55.53	51.16	6.57	48.23	38.25	4.57	38.89
C 18:3 n-6	2.40	0.62	2.70	2.15	0.30	2.13	1.69	0.58	1.53
C 18:3 n-3	2.28	0.44	2.19	2.91	1.34	2.49	25.18	2.08	25.24
C 20:3 n-6	0.99	0.11	0.97	0.91	0.19	0.92	0.60	0.34	0.48
C 20:4 n-6	3.83	0.49	3.68	3.94	0.63	4.02	2.49	1.15	2.21
C 20:5 n-3	0.53	0.21	0.49	0.54	0.37	0.49	2.22	0.90	2.34
C 22:6 n-3	0.18	0.19	0.22	0.23	0.12	0.26	0.16	0.10	0.15
SFA	23.27	4.95	23.13	27.30	10.29	24.46	21.79	4.40	19.94
MUFA	12.32	1.58	12.23	14.05	2.51	14.65	10.20	2.99	9.40
PUFA	64.41	5.81	65.88	58.65	12.38	60.90	68.02	6.94	70.82
PUFA n-3	3.32	0.76	2.87	4.60	2.57	3.57	29.10	1.89	27.93
PUFA n-6	60.88	6.06	62.74	58.17	6.60	55.27	43.02	6.13	42.85

Tab. A- 26: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der TG-Fraktion des Plasmas; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	1.65	2.31	1.72	4.36	2.49	4.41	5.13	2.07	4.92
C 15	2.23	2.63	1.72	3.23	2.83	3.52	6.22	3.71	8.13
C 16	11.80	11.78	6.98	16.87	16.62	10.24	38.97	9.49	44.78
C 16:1 c9	0.99	0.83	1.14	1.47	1.13	1.38	4.22	2.56	3.95
C 17	2.59	2.47	1.77	1.71	2.16	0.77	2.43	1.77	1.50
C 18	31.55	11.91	34.32	28.90	17.26	32.10	8.97	3.31	8.01
C 18:1 t9	3.80	7.41	0.00	3.89	6.05	0.56	3.32	2.28	3.01
C 18:1 c9	23.74	2.94	23.75	20.83	8.15	21.61	13.91	3.82	13.49
C 18:2 t9t12	1.00	0.60	1.17	0.66	0.72	0.64	0.51	0.90	0.00
C 18:2 c9c12	3.15	2.02	2.51	2.35	0.72	2.17	7.88	5.33	7.91
C 18:3 n-3	0.11	0.20	0.00	0.03	0.06	0.00	0.28	0.18	0.28
C 20:4 n-6	3.45	2.58	3.14	2.48	1.08	2.55	1.72	1.38	1.15
C 22:5 n-3	4.14	2.43	4.69	2.74	2.90	2.36	0.06	0.10	0.00
C 22:6 n-3	3.37	2.38	3.76	3.06	2.86	2.68	0.93	0.93	0.80
SFA	53.16	6.48	54.48	59.58	6.05	57.20	67.19	6.99	69.06
MUFA	28.64	5.91	28.50	27.03	2.95	27.80	20.77	3.92	20.79
PUFA	18.20	6.99	17.46	13.39	4.13	14.43	12.04	4.68	10.16
PUFA n-3	7.62	3.70	8.65	7.00	3.80	7.83	1.70	0.87	1.53
PUFA n-6	9.44	5.44	7.93	5.50	1.51	5.16	9.85	4.71	8.99

Tab. A- 27: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PL-Fraktion des Plasmas; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	0.13	0.26	0.00	0.56	0.53	0.48	0.39	0.35	0.27
C 15	0.36	0.07	0.36	0.37	0.06	0.35	0.47	0.08	0.49
C 16	14.99	1.25	14.41	15.65	1.81	15.23	16.14	1.40	15.93
C 16:1 c9	0.43	0.24	0.49	0.54	0.14	0.53	0.48	0.05	0.48
C 17	1.40	0.21	1.41	1.30	0.17	1.24	1.28	0.15	1.35
C 18	29.48	1.64	29.82	30.73	1.95	29.98	30.64	0.41	30.61
C 18:1 t9	0.59	0.35	0.49	0.28	0.36	0.25	0.24	0.33	0.14
C 18:1 c9	15.84	2.45	15.77	17.67	3.24	16.13	16.06	1.99	15.15
C 18:2 t9t12	0.04	0.09	0.00	0.05	0.11	0.00	0.10	0.11	0.10
C 18:2 c9c12	21.95	3.72	21.16	18.23	5.04	19.87	17.20	1.09	17.00
C 18:3 n-6	0.07	0.12	0.00	0.10	0.14	0.00	0.18	0.14	0.25
C 18:3 n-3	0.58	0.10	0.56	1.23	1.06	0.89	4.20	1.95	4.83
C 20:3 n-6	5.40	0.74	5.55	4.42	1.14	3.76	3.80	0.94	3.66
C 20:4 n-6	5.73	1.37	5.74	5.96	1.02	6.15	4.56	0.78	4.72
C 20:5 n-3	0.31	0.21	0.27	0.86	0.54	0.85	2.26	0.97	2.59
C 22:5 n-3	1.00	0.37	0.95	0.89	0.18	0.96	0.70	0.37	0.63
C 22:6 n-3	0.92	0.31	0.78	1.11	0.26	1.05	0.92	0.10	0.93
SFA	46.97	1.97	46.41	48.63	2.64	47.39	49.09	1.73	49.08
MUFA	16.98	2.51	16.76	18.50	3.30	16.68	16.88	1.96	16.32
PUFA	36.05	2.93	36.76	32.87	5.28	35.99	34.04	1.98	34.13
PUFA n-3	2.81	0.79	2.77	4.08	1.43	3.81	8.08	2.43	8.78
PUFA n-6	33.21	2.86	33.67	28.74	6.46	32.17	25.85	2.39	26.13

Tab. A- 28: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA im Nierenfett; [% der gesamten FA] (n = 5 - 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS T***			***Weide***		
C 14	2.68	0.42	2.83	2.85	0.59	2.79	3.36	0.38	3.30
C 14:1 c9	0.28	0.09	0.26	0.21	0.11	0.18	0.19	0.07	0.19
C 15	0.41	0.10	0.39	0.43	0.13	0.43	0.78	0.15	0.81
C 16	26.00	1.65	26.11	26.85	3.20	27.62	27.21	1.78	27.17
C 16:1 c9	1.87	0.33	1.83	1.73	0.29	1.75	1.38	0.38	1.42
C 17	1.35	0.14	1.39	1.38	0.25	1.42	1.58	0.18	1.69
C 17:1 c10	0.08	0.19	0.00	0.02	0.05	0.00	0.07	0.14	0.00
C 18	28.90	1.78	29.14	30.31	2.72	30.25	33.64	3.56	34.34
C 18:1 t9	0.34	0.18	0.38	0.27	0.30	0.20	0.22	0.13	0.27
C 18:1 c9	36.01	1.99	35.65	33.74	5.31	34.54	28.89	4.37	27.83
C 18:2 t9t12	0.24	0.12	0.28	0.19	0.15	0.27	0.21	0.12	0.24
C 18:2 c9c12	1.11	0.24	1.07	1.36	0.35	1.28	1.06	0.21	0.98
C 18:3 n-3	0.19	0.12	0.20	0.19	0.13	0.20	0.86	0.30	0.81
SFA	59.58	1.91	59.32	62.03	5.09	61.01	66.99	4.27	68.47
MUFA	38.82	1.99	38.86	36.13	5.32	37.00	30.84	4.71	29.39
PUFA	1.60	0.31	1.65	1.83	0.43	1.85	2.17	0.55	2.14
PUFA n-3	0.19	0.12	0.20	0.19	0.13	0.20	0.87	0.30	0.81
PUFA n-6	1.17	0.24	1.23	1.46	0.43	1.38	1.08	0.19	0.98

Tab. A- 29: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der TEAC-Werte im MLD und im Plasma; MLD [mg/g], Plasma [mmol/l] (n = 9 - 12)

	MW	***Stabw.***	***Median***
		MS K	
MLD	0.304 [a]	0.092	0.292
Plasma	1.910 [a]	0.277	1.839
		MS T	
MLD	0.330 [a]	0.044	0.339
Plasma	1.994 [a]	0.168	1.950
		Weide	
MLD	0.290 [a]	0.082	0.308
Plasma	1.940 [a]	0.246	1.873

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb des MLD bzw. Plasmas an. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Tab. A- 30: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der MDA-Gehalte im MLD und im Plasma; MLD [µg/g], Plasma [µmol/l] (n = 9 - 12)

	MW	***Stabw.***	***Median***
		MS K	
MLD	0.298 [a]	0.163	0.231
Plasma	1.500 [a]	0.280	1.525
		MS T	
MLD	0.158 [b]	0.085	0.169
Plasma	1.317 [a]	0.160	1.296
		Weide	
MLD	0.161 [b]	0.093	0.124
Plasma	2.036 [b]	0.579	1.985

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb des MLD bzw. Plasmas an. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

A 5 Ergebnisse Fütterungsversuch II (Jungbullen)

Tab. A- 31: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der α-Tocopherol-Gehalte in den untersuchten Geweben und im Plasma; MLD, Leber und Nierenfett [mg/kg], Plasma [mg/l] (n = 9)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***	
Nierenfett	0.34 $^{a\,A}$	0.11	0.30	0.31 $^{a\,A}$	0.13	0.28
MLD	0.95 $^{a\,A}$	0.41	1.08	1.00 $^{a\,A}$	0.45	1.08
Plasma	1.89 $^{a\,b\,A}$	1.50	2.17	0.64 $^{a\,A}$	0.74	0.50
Leber	3.57 $^{a\,b\,A}$	0.88	3.58	2.93 $^{a\,A}$	0.68	3.08
		GS Asc.			***GS T***	
Nierenfett	0.29 $^{a\,A}$	0.09	0.31	0.34 $^{a\,A}$	0.10	0.39
MLD	1.28 $^{a\,A}$	0.46	1.14	1.16 $^{a\,A}$	0.49	1.25
Plasma	1.71 $^{a\,b\,A}$	1.44	1.22	1.79 $^{b\,A}$	1.22	1.51
Leber	3.35 $^{a\,b\,A}$	1.03	3.20	4.77 $^{b\,A}$	1.97	3.96
		MS K			***MS C***	
Nierenfett	0.22 $^{m\,A}$	0.13	0.25	0.16 $^{m\,B}$	0.07	0.17
MLD	0.30 $^{m\,B}$	0.14	0.32	0.24 $^{m\,B}$	0.16	0.24
Plasma	0.38 $^{m\,B}$	0.35	0.38	0.43 $^{m\,A}$	0.29	0.42
Leber	0.45 $^{m\,B}$	0.11	0.44	0.58 $^{m\,B}$	0.18	0.57
		MS Asc.			***MS T***	
Nierenfett	0.20 $^{m\,B}$	0.08	0.21	0.43 $^{n\,A}$	0.21	0.35
MLD	0.27 $^{m\,B}$	0.21	0.38	1.15 $^{n\,A}$	0.68	1.29
Plasma	0.40 $^{m\,B}$	0.31	0.34	1.80 $^{n\,A}$	2.20	0.96
Leber	0.62 $^{m\,B}$	0.24	0.66	2.15 $^{n\,B}$	0.80	2.18

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb derselben Grundfutterart und desselben Gewebes an, verschiedene Großbuchstaben zeigen Unterschiede zwischen den Grundfutterarten bei gleicher Supplementierung auf. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Tab. A- 32: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der β-Carotin-Gehalte in den untersuchten Geweben und im Plasma; MLD, Leber und Nierenfett [mg/kg], Plasma [mg/l] (n = 9)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***	
Nierenfett	0.06 $^{a\,A}$	0.08	n. b.	0.13 $^{a\,A}$	0.11	0.14
MLD	0.11 $^{a\,A}$	0.07	0.12	0.15 $^{a\,A}$	0.09	0.13
Plasma	2.57 $^{a\,A}$	1.92	2.97	2.03 $^{a\,A}$	2.49	0.80
Leber	5.61 $^{a\,A}$	1.87	5.20	5.51 $^{a\,A}$	1.40	5.61
		GS Asc.			***GS T***	
Nierenfett	0.11 $^{a\,A}$	0.10	0.15	0.09 $^{a\,A}$	0.07	0.12
MLD	0.08 $^{a\,A}$	0.09	0.11	0.12 $^{a\,A}$	0.05	0.12
Plasma	2.28 $^{a\,A}$	2.49	1.25	2.01 $^{a\,A}$	1.35	1.69
Leber	4.86 $^{a\,A}$	1.63	4.76	6.36 $^{a\,A}$	3.04	5.93
		MS K			***MS C***	
Nierenfett	0.01 $^{m\,A}$	0.04	n. b.	0.33 $^{n\,B}$	0.10	0.35
MLD	n. b. $^{m\,o\,p\,B}$	0.00	n. b.	0.18 $^{n\,o\,p\,A}$	0.11	0.20
Plasma	0.44 $^{m\,B}$	0.44	0.35	3.17 $^{n\,A}$	3.00	2.44
Leber	0.65 $^{m\,B}$	0.25	0.68	5.63 $^{n\,A}$	1.89	6.36
		MS Asc.			***MS T***	
Nierenfett	0.05 $^{m\,A}$	0.12	0.00	n. b. $^{m\,B}$	0.00	n. b.
MLD	0.14 $^{m\,n\,o\,A}$	0.41	0.00	n. b. $^{m\,n\,p\,B}$	0.00	n. b.
Plasma	0.57 $^{m\,A}$	0.59	0.50	0.37 $^{m\,B}$	0.40	0.16
Leber	0.85 $^{m\,B}$	0.32	0.79	0.66 $^{m\,B}$	0.40	0.73

n. b. nicht bestimmbar

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb derselben Grundfutterart und desselben Gewebes an, verschiedene Großbuchstaben zeigen Unterschiede zwischen den Grundfutterarten bei gleicher Supplementierung auf. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Tab. A- 33: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der Retinol-Gehalte im Plasma; [mg/l] (n = 9)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***	
Plasma	0.77 $^{a\,A}$	0.02	0.77	0.77 $^{a\,A}$	0.07	0.77
		GS Asc.			***GS T***	
Plasma	0.77 $^{a\,A}$	0.13	0.78	0.84 $^{a\,A}$	0.09	0.85
		MS K			***MS C***	
Plasma	0.73 $^{m\,A}$	0.06	0.75	0.83 $^{n\,A}$	0.08	0.83
		MS Asc.			***MS T***	
Plasma	0.77 $^{m\,A}$	0.08	0.76	0.77 $^{m\,A}$	0.05	0.75

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb derselben Grundfutterart an, verschiedene Großbuchstaben zeigen Unterschiede zwischen den Grundfutterarten bei gleicher Supplementierung auf. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Tab. A- 34: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der CE+ TG-Fraktion des MLD der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 14	2.33	0.47	2.13	2.19	0.18	2.12	2.14	0.36	2.10	2.55	0.44	2.46
C 14:1 c9	0.48	0.13	0.47	0.30	0.12	0.31	0.27	0.08	0.28	0.44	0.28	0.39
C 15	0.36	0.03	0.37	0.40	0.10	0.43	0.40	0.11	0.37	0.41	0.07	0.40
C 16	25.29	1.86	24.63	26.47	1.75	26.69	24.32	2.72	24.63	24.26	4.71	25.93
C 16:1 c9	3.53	0.46	3.74	2.55	1.35	3.07	3.05	0.64	2.89	3.69	1.07	3.25
C 17	1.07	0.07	1.07	1.18	0.23	1.17	1.12	0.19	1.07	0.93	0.24	0.99
C 17:1 c10	0.77	0.07	0.76	0.72	0.12	0.71	0.77	0.10	0.74	0.63	0.15	0.69
C 18	18.37	0.89	18.45	18.67	4.36	18.96	20.07	3.11	20.14	18.90	1.27	19.24
C 18:1 c9	43.26	2.22	43.92	40.73	2.38	40.25	41.67	1.17	41.99	43.03	3.37	41.70
C 18:2 t9t12	0.45	0.16	0.46	0.39	0.12	0.37	0.45	0.16	0.39	0.49	0.20	0.47
C 18:2 c9c12	2.31	0.28	2.27	2.33	0.43	2.32	2.63	0.41	2.57	1.73	0.99	2.17
C 20	0.10	0.07	0.13	0.15	0.03	0.17	0.15	0.02	0.16	0.11	0.08	0.15
C 18:3 n-3	0.79	0.11	0.76	0.56	0.34	0.71	0.56	0.43	0.61	0.84	0.18	0.84
C 20:5 n-3	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.02	0.04	0.00
C 22:6 n-3	0.02	0.03	0.00	0.30	0.27	0.32	0.25	0.41	0.07	0.14	0.12	0.16
SFA	47.65	2.66	47.29	49.16	5.49	49.34	48.32	4.47	49.92	47.44	5.33	49.34
MUFA	48.04	2.15	48.33	46.69	5.80	46.58	47.21	3.83	46.27	48.56	5.94	46.03
PUFA	3.67	0.56	3.61	3.66	0.72	3.74	3.97	0.92	3.94	3.41	0.55	3.53
PUFA n-3	0.82	0.13	0.82	0.86	0.32	0.80	0.82	0.54	1.00	1.01	0.30	1.01
PUFA n-6	2.40	0.30	2.36	2.42	0.43	2.46	2.71	0.46	2.63	1.91	0.89	2.26
CLA	0.64	0.10	0.64	0.49	0.05	0.49	0.50	0.07	0.50	0.60	0.28	0.58
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 14	2.48	0.55	2.35	2.26	0.33	2.36	2.06	0.19	2.11	2.03	0.39	2.11
C 14:1 c9	0.41	0.23	0.34	0.32	0.18	0.29	0.30	0.14	0.23	0.50	0.25	0.51
C 15	0.33	0.01	0.34	0.23	0.03	0.23	0.25	0.02	0.25	0.33	0.09	0.35
C 16	26.44	2.10	26.22	24.75	1.48	25.29	25.15	0.51	25.41	25.05	2.45	25.20
C 16:1 c9	3.51	0.51	3.35	3.59	0.56	3.84	3.23	0.62	3.30	2.71	1.66	3.12
C 17	1.06	0.10	1.04	0.90	0.09	0.89	0.89	0.09	0.84	1.04	0.19	0.99
C 17:1 c10	0.72	0.06	0.73	0.72	0.03	0.73	0.56	0.18	0.55	0.82	0.08	0.82
C 18	19.97	2.06	20.35	19.88	2.98	19.14	18.77	2.64	18.30	18.53	3.86	17.92
C 18:1 c9	41.14	0.85	41.52	43.98	0.86	43.71	41.29	4.26	41.39	44.85	2.11	44.38
C 18:2 t9t12	0.22	0.15	0.28	0.19	0.14	0.22	0.22	0.09	0.18	0.44	0.04	0.45
C 18:2 c9c12	2.17	0.38	2.15	1.96	0.49	1.75	1.81	0.02	1.80	2.24	0.29	2.34
C 20	0.13	0.03	0.13	0.13	0.03	0.13	0.13	0.02	0.12	0.13	0.04	0.12
C 18:3 n-3	0.30	0.07	0.27	0.24	0.13	0.27	0.28	0.04	0.27	0.30	0.16	0.36
C 20:5 n-3	0.00	0.00	0.00	0.23	0.47	0.00	0.35	0.61	0.00	0.00	0.00	0.00
C 22:6 n-3	0.31	0.56	0.04	0.00	0.00	0.00	1.21	1.71	1.21	0.12	0.10	0.11
SFA	50.63	0.37	50.58	48.21	1.59	48.44	47.27	2.55	46.40	47.19	1.84	47.35
MUFA	45.81	0.10	45.81	48.64	1.33	48.70	45.58	4.65	44.86	48.96	1.82	48.88
PUFA	3.05	0.33	3.01	2.72	0.41	2.72	3.62	1.53	3.62	3.31	0.27	3.37
PUFA n-3	0.61	0.54	0.38	0.47	0.56	0.27	1.51	1.68	1.51	0.48	0.29	0.57
PUFA n-6	2.23	0.39	2.21	2.06	0.46	1.92	1.85	0.04	1.83	2.39	0.14	2.41
CLA	0.51	0.12	0.45	0.44	0.09	0.46	0.41	0.11	0.41	0.56	0.10	0.56

Tab. A- 35: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PL-Fraktion des MLD der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***	
C 14	0.11	0.06	0.11	0.12	0.03	0.12	0.13	0.02	0.12	0.12	0.02	0.11
C 16	16.00	0.97	16.10	15.46	1.30	15.57	16.02	1.14	16.15	15.52	1.36	15.34
C 16:1 c9	1.31	0.27	1.27	1.28	0.25	1.29	1.35	0.19	1.33	1.42	0.17	1.51
C 17	0.48	0.06	0.48	0.59	0.21	0.51	0.50	0.09	0.50	0.51	0.05	0.51
C 17:1 c10	0.22	0.33	0.00	0.21	0.31	0.02	0.24	0.38	0.00	0.33	0.45	0.00
C 18	12.19	1.45	11.79	12.62	0.54	12.76	12.07	0.66	12.36	12.88	0.86	12.39
C 18:1 t9	0.34	0.28	0.24	0.41	0.40	0.23	0.50	0.35	0.39	0.91	0.07	0.95
C 18:1 c9	25.49	3.90	24.90	26.40	5.68	27.42	25.98	2.84	24.82	28.44	1.52	29.32
C 18:2 t9t12	0.10	0.08	0.14	0.10	0.09	0.13	0.12	0.07	0.13	0.14	0.06	0.14
C 18:2 c9c12	24.01	4.34	23.51	23.15	3.95	22.61	24.87	2.47	25.05	22.86	2.31	23.37
C 18:3 n-3	4.05	0.81	3.75	3.83	0.57	3.79	3.07	1.69	4.03	3.20	1.40	3.56
C 20:3 n-6	1.68	0.28	1.71	1.17	0.69	1.51	1.12	0.89	1.52	1.19	0.74	1.30
C 20:4 n-6	8.89	1.11	8.75	8.54	1.08	8.35	8.14	2.23	8.94	7.10	1.91	8.03
C 20:5 n-3	1.27	0.26	1.36	1.02	0.57	1.11	1.14	0.36	1.20	1.07	0.17	1.10
C 24:1	0.28	0.63	0.00	0.34	0.53	0.00	0.42	0.68	0.00	0.39	0.54	0.00
C 22:5 n-3	2.76	0.71	3.05	2.80	0.55	2.75	2.60	0.61	2.70	2.48	0.31	2.47
C 22:6 n-3	0.25	0.09	0.27	0.26	0.09	0.23	0.21	0.12	0.22	0.20	0.03	0.20
SFA	28.57	0.68	28.72	29.71	1.01	29.55	29.83	1.93	29.47	29.86	2.24	29.12
MUFA	28.35	3.93	29.53	30.72	2.18	30.75	28.32	4.49	25.40	31.63	2.54	31.84
PUFA	43.08	3.98	42.75	39.55	2.27	38.13	41.85	6.08	45.13	38.51	4.69	39.04
PUFA n-3	8.33	0.57	8.43	7.92	1.31	7.87	7.82	1.80	8.38	6.98	1.40	6.88
PUFA n-6	34.70	3.68	35.05	33.07	3.88	31.97	34.35	4.48	36.02	31.38	3.68	30.51
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***	
C 14	0.09	0.05	0.09	0.11	0.03	0.10	0.09	0.06	0.11	0.14	0.06	0.13
C 16	16.55	2.65	15.83	16.48	1.52	16.20	15.54	0.76	15.65	16.07	1.05	16.11
C 16:1 c9	1.53	0.49	1.36	1.56	0.21	1.55	1.50	0.25	1.44	1.60	0.51	1.44
C 17	0.42	0.22	0.48	0.42	0.04	0.41	0.41	0.03	0.42	0.42	0.02	0.43
C 17:1 c10	0.33	0.33	0.34	0.33	0.37	0.08	0.45	0.32	0.62	0.17	0.29	0.04
C 18	12.24	1.14	11.91	12.83	1.20	13.36	11.33	0.74	11.53	11.88	1.43	11.69
C 18:1 t9	0.75	0.62	0.96	0.37	0.35	0.21	0.52	0.35	0.38	0.44	0.24	0.39
C 18:1 c9	27.19	3.42	27.79	30.40	4.43	27.77	27.90	3.42	28.68	30.08	5.51	27.75
C 18:2 t9t12	0.07	0.08	0.07	0.10	0.07	0.13	0.07	0.08	0.05	0.09	0.07	0.13
C 18:2 c9c12	26.28	4.66	27.09	25.37	4.66	24.51	23.61	3.78	22.89	22.30	4.72	21.45
C 18:3 n-3	1.56	2.50	0.56	0.49	0.19	0.42	1.75	3.00	0.68	0.39	0.25	0.47
C 20:3 n-6	0.64	0.34	0.72	0.67	0.70	0.56	0.98	0.79	0.74	0.51	0.47	0.76
C 20:4 n-6	6.71	3.18	5.89	6.29	2.29	5.11	7.36	2.30	6.63	6.21	0.84	5.79
C 20:5 n-3	0.40	0.23	0.48	0.44	0.11	0.44	0.53	0.21	0.47	0.48	0.22	0.41
C 24:1	1.37	0.71	1.54	1.38	0.78	1.80	1.31	0.67	1.46	1.39	0.84	1.52
C 22:5 n-3	1.85	0.61	2.08	1.63	0.22	1.58	1.69	0.34	1.66	1.73	0.19	1.69
C 22:6 n-3	0.15	0.13	0.18	0.18	0.06	0.14	0.17	0.09	0.19	0.15	0.09	0.17
SFA	29.38	1.44	29.52	30.29	0.80	30.08	30.42	5.34	28.65	32.69	4.80	30.86
MUFA	30.51	3.49	31.62	34.25	4.98	32.31	31.70	4.05	33.22	34.33	6.97	31.91
PUFA	40.11	4.30	40.95	35.45	5.41	36.74	37.88	5.65	35.67	32.99	5.45	33.71
PUFA n-3	4.01	2.51	3.33	2.77	0.42	2.65	4.17	3.36	2.84	2.78	0.12	2.83
PUFA n-6	33.82	5.96	33.04	32.58	5.32	33.99	32.14	4.19	33.06	29.31	5.20	28.57

Tab. A- 36: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PE-Fraktion des MLD der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***	
C 14	0.26	0.29	0.13	0.10	0.03	0.09	0.18	0.13	0.13	0.08	0.05	0.07
C 15	0.14	0.16	0.07	0.12	0.16	0.06	0.07	0.02	0.07	0.03	0.03	0.02
C 16	3.47	2.30	2.45	4.96	3.39	4.95	2.76	2.03	1.91	3.25	2.78	2.10
C 16:1 c9	0.96	0.19	0.94	1.02	0.42	1.17	0.86	0.44	0.79	0.99	0.23	0.95
C 17	0.67	0.20	0.70	0.74	0.32	0.79	0.50	0.27	0.50	0.65	0.35	0.64
C 17:1 c10	0.66	0.27	0.64	0.62	0.27	0.60	0.70	0.23	0.77	0.71	0.17	0.73
C 18	18.65	3.66	18.08	22.92	5.83	21.16	16.84	3.34	15.74	21.07	5.12	20.81
C 18:1 t9	0.90	0.44	0.88	1.06	0.77	1.21	0.52	0.28	0.50	1.85	1.43	1.54
C 18:1 c9	14.15	1.66	13.60	12.33	3.37	12.83	13.68	1.35	13.34	16.09	2.99	16.82
C 18:2 t9t12	0.19	0.16	0.18	0.02	0.04	0.00	0.03	0.06	0.00	0.30	0.27	0.21
C 18:2 c9c12	28.97	3.60	29.05	26.48	7.61	26.30	32.73	4.53	33.95	27.22	2.48	27.68
C 18:3 n-3	4.31	0.55	4.26	3.94	0.61	4.04	3.55	1.64	4.14	4.70	0.54	4.80
C 22	0.36	0.09	0.36	0.40	0.14	0.37	0.46	0.19	0.45	0.50	0.18	0.52
C 20:3 n-6	2.80	0.44	2.95	2.49	0.55	2.39	2.68	0.63	2.70	2.14	0.15	2.14
C 20:4 n-6	17.51	2.08	16.80	16.55	4.51	14.64	19.72	3.89	19.57	15.55	2.84	16.03
SFA	23.82	3.28	23.90	29.45	8.66	28.21	20.87	5.49	18.79	25.85	6.89	25.57
MUFA	16.74	1.36	16.28	15.14	3.82	15.59	15.81	1.66	15.00	19.76	1.36	20.07
PUFA	58.49	3.16	57.45	54.15	11.54	52.52	62.71	7.50	65.86	53.65	5.30	53.76
PUFA n-3	8.67	0.68	8.72	8.22	0.44	8.31	7.27	2.61	8.01	8.30	0.93	8.24
PUFA n-6	49.64	2.89	48.55	45.92	11.43	44.21	55.40	7.62	57.85	45.05	4.72	45.18
CLA	0.96	0.96	0.53	1.26	1.13	0.87	0.62	0.39	0.45	0.74	0.49	0.53
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***	
C 14	0.11	0.04	0.10	0.07	0.05	0.08	0.29	0.22	0.20	0.19	0.11	0.17
C 15	0.08	0.03	0.07	0.05	0.07	0.02	0.30	0.44	0.09	0.08	0.04	0.08
C 16	2.04	0.18	2.02	5.53	2.77	6.46	2.32	0.71	2.52	3.68	1.89	3.51
C 16:1 c9	1.08	0.19	1.06	1.33	0.28	1.38	1.04	0.18	1.12	1.15	0.42	1.27
C 17	0.47	0.17	0.48	0.75	0.34	0.85	1.24	1.34	0.59	0.66	0.34	0.66
C 17:1 c10	0.74	0.07	0.73	0.64	0.29	0.76	0.72	0.32	0.69	0.66	0.07	0.64
C 18	17.28	2.55	17.34	21.39	5.38	21.50	15.89	2.82	16.51	20.74	4.84	19.66
C 18:1 t9	0.61	0.11	0.57	1.52	1.77	0.85	0.98	0.30	0.99	0.51	0.46	0.45
C 18:1 c9	14.23	2.59	14.44	13.94	3.62	14.84	16.71	5.28	17.66	16.30	6.15	14.44
C 18:2 t9t12	0.14	0.12	0.09	0.16	0.22	0.09	0.16	0.13	0.18	0.17	0.19	0.12
C 18:2 c9c12	33.53	4.19	32.92	30.74	4.02	30.91	28.45	4.96	28.23	26.73	4.86	27.11
C 18:3 n-3	0.90	0.14	0.89	0.80	0.10	0.79	0.90	0.12	0.87	1.85	2.01	0.90
C 22	0.58	0.04	0.60	0.47	0.10	0.46	0.56	0.02	0.56	0.60	0.19	0.53
C 20:3 n-6	3.31	0.63	3.48	2.31	0.79	2.37	3.62	0.64	3.61	3.03	0.47	3.02
C 20:4 n-6	21.80	3.09	20.87	17.34	4.17	17.04	22.66	2.08	22.65	19.57	1.55	19.63
SFA	20.86	3.09	20.76	28.30	8.13	29.41	21.39	3.01	22.68	26.48	5.90	26.46
MUFA	16.70	2.75	16.83	17.55	2.44	17.75	19.47	5.76	20.37	18.81	6.04	16.47
PUFA	62.01	1.31	61.86	53.83	8.10	51.53	58.33	5.86	59.45	54.21	6.17	53.59
PUFA n-3	2.94	0.52	2.84	3.11	1.06	2.95	3.06	0.17	3.06	4.29	3.10	3.14
PUFA n-6	58.94	1.57	58.65	50.57	8.12	48.11	55.11	5.80	56.33	49.76	4.43	50.76
CLA	0.44	0.11	0.43	0.32	0.22	0.41	0.81	0.63	0.50	0.50	0.26	0.46

Tab. A- 37: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PI+PS-Fraktion des MLD der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 14	0.21	0.16	0.22	0.23	0.10	0.19	0.34	0.15	0.39	0.27	0.10	0.27
C 16	2.99	0.35	3.08	3.37	1.02	3.75	4.20	1.30	4.38	4.16	2.21	3.47
C 16:1 c9	0.56	0.12	0.54	0.61	0.19	0.68	0.70	0.18	0.75	0.72	0.14	0.71
C 17	0.60	0.08	0.60	0.70	0.13	0.77	0.73	0.28	0.62	0.70	0.13	0.66
C 17:1 c10	0.33	0.38	0.23	0.43	0.34	0.26	0.56	0.21	0.54	0.59	0.25	0.58
C 18	51.78	5.40	51.21	51.86	5.71	50.91	47.47	3.55	46.96	49.02	3.73	49.11
C 18:1 t9	1.35	0.14	1.32	1.41	0.17	1.36	1.70	0.74	1.52	1.13	0.76	1.50
C 18:1 c9	13.54	1.73	13.49	13.65	2.75	12.25	15.21	1.74	15.55	17.22	1.59	17.20
C 18:2 c9c12	8.71	1.50	8.49	8.37	2.14	7.67	10.08	1.45	10.12	8.64	1.39	8.43
C 18:3 n-3	1.28	0.30	1.17	1.23	0.23	1.26	1.14	0.42	1.25	1.43	0.38	1.37
C 20:2 n-6	0.44	0.08	0.44	0.43	0.18	0.42	0.52	0.19	0.46	0.43	0.12	0.46
C 20:3 n-6	3.14	0.41	3.11	2.66	0.78	2.49	2.57	0.32	2.57	2.02	0.40	1.93
C 20:4 n-6	12.16	1.55	12.40	10.88	1.50	10.93	11.31	1.00	10.88	9.58	1.04	9.32
C 20:5 n-3	1.00	0.69	1.23	1.24	0.39	1.13	1.07	0.24	1.10	1.15	0.23	1.08
C 22:6 n-3	0.37	0.28	0.42	0.40	0.17	0.35	0.44	0.32	0.49	0.36	0.26	0.24
SFA	56.25	5.09	55.70	57.58	5.62	55.09	53.89	1.95	53.56	55.39	3.06	56.25
MUFA	15.80	1.92	15.95	16.10	3.18	14.46	18.19	2.61	18.78	19.71	2.06	19.22
PUFA	27.31	3.37	27.15	25.46	4.66	25.64	27.25	1.69	27.70	24.00	3.93	23.08
PUFA n-3	2.82	1.26	2.96	3.00	0.78	2.63	2.76	1.01	3.11	3.14	0.87	2.85
PUFA n-6	24.45	2.86	24.97	22.34	4.56	21.51	24.47	2.30	24.25	20.67	2.88	20.14
CLA	0.65	0.45	0.77	0.85	0.10	0.80	0.68	0.19	0.75	0.92	0.27	0.85
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 14	0.23	0.08	0.22	0.31	0.12	0.30	0.24	0.08	0.24	0.26	0.09	0.25
C 16	4.30	2.81	3.26	2.96	0.58	3.02	3.25	1.16	3.12	3.58	1.08	3.49
C 16:1 c9	0.76	0.17	0.72	0.64	0.13	0.63	0.69	0.20	0.68	0.72	0.23	0.72
C 17	0.57	0.10	0.56	0.52	0.08	0.51	0.61	0.11	0.60	0.62	0.07	0.59
C 17:1 c10	0.42	0.09	0.39	0.33	0.17	0.27	0.42	0.26	0.36	0.34	0.19	0.29
C 18	44.81	4.04	43.50	52.51	5.45	52.00	47.80	2.25	48.37	47.47	3.52	48.36
C 18:1 t9	1.31	0.90	1.62	0.72	1.07	0.31	0.98	0.39	0.95	1.19	0.24	1.12
C 18:1 c9	17.29	2.49	16.54	15.40	2.33	15.56	16.67	3.56	15.86	16.85	3.06	17.55
C 18:2 c9c12	10.48	3.03	9.79	8.86	0.87	8.87	8.35	0.71	8.06	9.21	2.29	9.56
C 18:3 n-3	0.61	0.14	0.61	0.45	0.23	0.56	0.44	0.05	0.43	0.74	0.27	0.62
C 20:2 n-6	0.50	0.13	0.46	0.43	0.09	0.43	0.41	0.12	0.46	0.52	0.09	0.54
C 20:3 n-6	3.06	0.45	2.88	2.47	0.34	2.57	2.93	0.30	2.96	3.05	0.85	2.81
C 20:4 n-6	11.88	1.58	12.04	10.82	1.83	10.73	12.92	1.95	12.78	11.00	1.48	10.83
C 20:5 n-3	1.10	0.51	1.03	0.65	0.49	0.72	1.03	0.20	0.98	1.10	0.21	1.03
C 22:6 n-3	0.33	0.06	0.35	0.18	0.14	0.19	0.55	0.28	0.47	0.34	0.12	0.30
SFA	51.20	3.10	50.47	57.76	4.68	56.94	53.21	1.54	53.73	53.55	2.73	54.58
MUFA	19.78	2.88	18.64	17.11	3.32	16.95	18.76	4.14	18.00	19.13	3.42	20.12
PUFA	28.13	4.59	28.54	24.09	1.87	23.91	26.83	2.71	26.41	26.27	4.37	27.02
PUFA n-3	2.12	0.60	2.06	1.35	0.37	1.37	2.12	0.37	2.01	2.32	0.20	2.27
PUFA n-6	25.91	4.31	25.86	22.63	1.69	22.52	24.62	2.62	24.12	23.89	4.43	24.57
CLA	0.90	0.13	0.93	1.03	0.23	1.05	1.20	0.80	1.01	1.04	0.56	1.07

Tab. A- 38: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PC-Fraktion des MLD der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***	
C 14	0.14	0.04	0.13	0.15	0.03	0.16	0.15	0.02	0.16	0.17	0.04	0.17
C 14:1 c9	0.19	0.10	0.21	0.20	0.16	0.16	0.21	0.09	0.22	0.21	0.08	0.22
C 15	0.27	0.05	0.26	0.25	0.05	0.25	0.26	0.06	0.24	0.27	0.05	0.26
C 16	17.60	5.58	18.23	16.75	4.80	16.10	14.29	3.53	13.01	16.15	6.87	15.65
C 16:1 c9	2.17	0.33	2.27	2.35	0.30	2.25	2.33	0.12	2.32	2.12	0.96	2.48
C 17	1.16	0.26	1.19	1.12	0.21	1.12	1.10	0.17	1.13	1.16	0.12	1.15
C 17:1 c10	1.48	0.41	1.55	1.46	0.50	1.57	1.39	0.31	1.37	1.90	0.21	1.84
C 18	7.10	2.57	7.16	7.36	1.46	7.37	6.98	3.32	7.53	5.91	1.69	5.92
C 18:1 c9	32.77	2.95	33.53	33.20	8.44	34.42	34.70	1.15	34.71	40.38	5.93	40.21
C 18:2 c9c12	22.35	3.98	22.43	22.22	9.50	18.51	25.63	3.66	25.17	20.28	1.80	20.87
C 18:3 n-3	4.04	0.93	3.87	3.82	1.15	3.37	3.64	1.79	4.33	4.18	0.66	4.41
C 20:2 n-6	0.17	0.03	0.16	0.17	0.07	0.14	0.22	0.05	0.21	0.18	0.06	0.17
C 20:3 n-6	1.40	0.19	1.40	1.31	0.32	1.17	1.05	0.58	1.19	0.94	0.15	0.97
C 20:4 n-6	5.10	0.80	4.90	5.07	1.72	4.62	5.66	0.36	5.68	3.99	0.91	3.90
C 20:5 n-3	1.08	0.14	1.06	0.97	0.16	0.96	1.00	0.46	1.12	0.89	0.23	0.96
C 22:6 n-3	1.61	2.76	0.24	2.58	4.61	0.30	0.24	0.14	0.23	0.16	0.07	0.15
SFA	26.89	4.88	27.59	25.91	4.41	26.36	23.25	6.23	23.29	24.02	8.37	23.46
MUFA	36.61	3.69	37.53	37.20	9.04	38.36	38.62	1.55	38.60	44.60	5.62	44.90
PUFA	36.02	3.25	35.19	36.38	12.69	33.01	37.71	5.22	36.77	30.87	3.57	31.69
PUFA n-3	6.76	2.25	6.06	7.40	4.60	5.73	4.90	2.37	5.72	5.24	0.95	5.54
PUFA n-6	29.15	4.08	29.35	28.89	11.55	23.86	32.68	3.97	31.54	25.47	2.72	26.04
CLA	0.49	0.10	0.48	0.50	0.19	0.44	0.41	0.10	0.43	0.51	0.12	0.56
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***	
C 14	0.13	0.03	0.14	0.14	0.04	0.13	0.14	0.03	0.14	0.14	0.02	0.14
C 14:1 c9	0.12	0.05	0.11	0.14	0.06	0.14	0.19	0.11	0.22	0.28	0.01	0.28
C 15	0.18	0.03	0.19	0.19	0.01	0.19	0.19	0.03	0.19	0.23	0.07	0.23
C 16	15.11	6.23	15.52	15.30	5.59	15.22	18.74	3.14	19.18	10.70	1.69	10.70
C 16:1 c9	2.54	0.19	2.53	2.80	0.36	2.74	2.82	0.12	2.78	2.34	0.21	2.34
C 17	0.96	0.14	0.99	0.98	0.19	0.90	1.13	0.08	1.11	1.11	0.03	1.11
C 17:1 c10	1.17	0.10	1.14	1.21	0.19	1.26	1.15	0.11	1.11	1.44	0.65	1.44
C 18	4.65	0.72	4.72	4.42	0.89	4.26	5.56	1.66	5.04	7.10	3.42	7.10
C 18:1 c9	37.49	2.05	36.76	42.24	7.15	43.16	37.81	4.57	38.22	34.37	11.65	34.37
C 18:2 c9c12	25.42	4.75	26.79	23.74	4.90	24.44	22.66	6.17	21.01	29.36	7.69	29.36
C 18:3 n-3	0.94	0.09	0.97	0.87	0.24	0.89	0.84	0.22	0.77	2.51	2.04	2.51
C 20:2 n-6	0.22	0.07	0.25	0.15	0.04	0.15	0.14	0.02	0.15	0.23	0.06	0.23
C 20:3 n-6	1.63	0.41	1.71	1.14	0.24	1.07	1.41	0.16	1.40	1.42	0.40	1.42
C 20:4 n-6	6.16	1.66	5.87	5.04	0.85	5.01	5.59	0.90	5.49	6.23	2.11	6.23
C 20:5 n-3	0.48	0.14	0.48	0.38	0.15	0.33	0.39	0.06	0.38	0.61	0.21	0.61
C 22:6 n-3	1.73	3.07	0.24	0.18	0.04	0.20	0.18	0.04	0.18	0.36	0.07	0.36
SFA	21.49	5.41	22.07	21.53	6.35	21.99	26.05	2.98	27.39	19.92	4.90	19.92
MUFA	41.31	2.26	40.41	46.40	7.59	47.32	42.12	4.65	42.59	38.57	12.73	38.57
PUFA	36.82	4.40	36.19	31.73	6.01	33.15	31.46	7.39	29.68	41.08	8.01	41.08
PUFA n-3	3.16	3.08	1.71	1.43	0.36	1.41	1.43	0.28	1.33	3.50	2.21	3.50
PUFA n-6	33.61	6.58	34.61	30.20	5.72	31.54	29.93	7.10	28.26	37.40	10.29	37.40
CLA	0.39	0.11	0.37	0.35	0.08	0.33	0.36	0.07	0.37	0.43	0.20	0.43

Tab. A- 39: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der CE-Fraktion der Leber der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 14	0.70	0.52	0.77	0.36	0.31	0.52	0.69	0.26	0.65	0.96	0.27	0.85
C 14:1 c9	0.33	0.26	0.35	0.34	0.32	0.39	0.27	0.20	0.32	0.26	0.33	0.19
C 15	0.91	0.26	0.85	0.69	0.10	0.64	0.73	0.14	0.72	0.76	0.13	0.78
C 16	24.27	4.67	22.41	25.13	0.20	25.02	23.97	3.39	25.26	21.46	4.23	20.33
C 16:1 c9	1.60	1.63	0.89	1.31	1.33	0.71	0.65	0.26	0.64	0.77	0.21	0.78
C 17	1.95	0.61	1.88	2.23	0.47	2.00	2.07	0.15	2.06	1.88	0.23	1.80
C 17:1 c10	0.80	0.29	0.69	1.98	0.77	1.83	1.40	0.47	1.57	1.94	0.53	1.92
C 18	27.44	6.50	28.61	33.29	6.21	33.33	32.18	3.89	30.70	29.44	6.85	29.37
C 18:1 t9	2.73	1.83	3.55	3.12	1.26	2.94	2.93	2.10	3.60	3.04	1.99	3.31
C 18:1 c9	19.93	4.76	19.53	13.82	0.90	14.19	14.18	1.72	13.92	17.47	5.31	18.23
C 18:2 c9c12	10.50	5.98	7.75	7.59	2.00	6.84	10.79	2.18	10.72	11.69	3.85	10.26
C 18:3 n-3	2.15	0.82	2.27	2.67	1.13	2.10	3.97	0.42	3.96	3.27	2.01	2.33
C 20:3 n-6	0.96	0.12	0.96	1.03	0.26	0.93	0.89	0.17	0.93	0.99	0.11	0.97
C 20:4 n-6	1.70	0.43	1.78	1.88	0.34	1.93	2.15	0.44	2.22	2.12	0.35	2.14
C 20:5 n-3	0.55	0.21	0.56	1.13	1.96	0.00	0.66	0.17	0.66	0.48	0.22	0.52
C 22:6 n-3	0.37	0.47	0.24	0.08	0.14	0.00	0.14	0.28	0.00	0.40	0.32	0.43
SFA	55.78	8.20	59.41	63.27	4.65	60.99	59.92	0.84	59.94	55.68	4.95	54.52
MUFA	25.69	4.26	25.75	21.26	1.05	21.82	20.13	3.02	19.96	24.33	6.92	23.90
PUFA	17.91	5.22	16.56	15.13	3.27	16.95	19.21	3.00	18.73	19.36	5.38	16.84
PUFA n-3	4.37	2.78	3.27	3.89	1.90	3.97	4.77	0.79	4.64	4.15	1.88	3.28
PUFA n-6	13.28	5.78	10.47	11.19	1.86	11.07	14.39	2.36	14.09	15.11	3.57	13.51
CLA	0.62	0.19	0.63	0.35	0.60	0.00	0.74	0.21	0.73	0.64	0.27	0.64
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 14	1.04	0.92	0.65	0.61	0.31	0.56	0.69	0.11	0.72	0.69	0.28	0.80
C 14:1 c9	0.25	0.19	0.22	0.40	0.11	0.40	0.37	0.10	0.33	0.29	0.29	0.24
C 15	0.52	0.15	0.50	0.59	0.10	0.55	0.51	0.11	0.53	0.53	0.17	0.56
C 16	21.33	7.05	21.56	23.91	4.79	25.83	19.83	4.58	20.99	22.82	4.62	22.57
C 16:1 c9	0.63	0.17	0.58	0.98	0.61	0.86	0.77	0.38	0.74	0.87	0.60	0.68
C 17	1.57	0.18	1.64	1.76	0.50	1.93	1.65	0.32	1.62	1.70	0.47	1.92
C 17:1 c10	1.18	0.43	1.19	1.08	0.47	0.94	1.68	0.36	1.75	0.82	0.28	0.93
C 18	31.05	1.10	30.79	32.14	5.46	31.77	31.40	8.90	30.16	30.98	8.21	32.37
C 18:1 t9	2.75	0.80	2.49	3.21	1.06	2.81	3.45	0.69	3.48	2.75	0.81	2.55
C 18:1 c9	17.13	2.58	16.01	16.90	2.58	17.39	16.10	1.56	15.80	19.16	10.19	14.91
C 18:2 c9c12	12.75	5.50	12.41	12.06	5.44	9.81	14.29	5.35	13.60	11.53	1.78	11.61
C 18:3 n-3	1.10	0.37	1.05	0.88	0.28	0.95	1.09	0.29	1.04	1.13	0.39	0.97
C 20:2 n-6	0.28	0.09	0.28	0.41	0.14	0.37	0.30	0.06	0.32	0.30	0.07	0.31
C 20:3 n-6	2.16	1.64	1.77	2.32	2.88	0.93	2.12	0.98	1.85	1.04	0.31	0.91
C 20:4 n-6	3.90	2.47	4.06	1.65	0.32	1.69	3.17	1.37	2.99	2.09	0.40	1.94
C 20:5 n-3	0.30	0.39	0.18	0.00	0.00	0.00	0.11	0.22	0.00	0.04	0.08	0.00
C 22:6 n-3	0.56	0.60	0.50	0.00	0.00	0.00	0.08	0.16	0.00	0.17	0.20	0.16
SFA	56.33	7.26	57.42	59.59	9.26	62.54	54.47	6.08	55.03	57.54	10.87	62.39
MUFA	21.94	3.53	20.29	22.57	1.73	23.13	23.06	2.31	23.19	24.20	10.81	20.37
PUFA	21.28	9.57	22.14	17.59	7.94	14.26	22.04	6.28	23.04	17.89	1.59	17.57
PUFA n-3	1.98	1.31	1.90	0.88	0.28	0.95	1.27	0.64	1.04	1.51	0.92	1.13
PUFA n-6	19.18	9.42	18.97	16.64	8.12	13.12	20.69	6.24	21.36	16.09	1.74	15.44
CLA	0.45	0.13	0.43	0.28	0.39	0.15	0.43	0.24	0.44	0.39	0.60	0.14

Tab. A- 40: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der TG-Fraktion der Leber der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***	
C 14	1.79	0.46	1.84	2.11	0.36	2.04	2.08	0.68	2.16	1.58	0.65	1.59
C 15	0.98	0.18	0.96	1.16	0.24	1.15	1.15	0.26	1.20	0.93	0.27	0.97
C 16	28.43	9.36	28.59	29.23	1.81	30.01	25.68	9.06	23.28	25.76	2.53	25.41
C 16:1 c9	1.73	1.11	1.54	1.77	0.99	1.42	1.98	0.94	2.08	2.02	1.06	2.05
C 17	0.93	0.59	0.97	1.73	0.63	2.08	1.37	0.37	1.44	1.40	0.20	1.41
C 17:1 c10	0.47	0.20	0.41	0.72	0.49	0.87	0.60	0.24	0.64	0.80	0.34	0.85
C 18	14.00	2.32	14.30	15.76	3.90	17.19	13.20	2.89	12.21	19.44	7.63	16.87
C 18:1 t9	1.91	1.31	2.35	2.38	1.91	2.93	1.66	1.92	1.64	3.19	2.29	3.94
C 18:1 c9	22.67	6.39	24.23	25.90	5.10	23.71	21.90	4.02	22.57	24.67	3.76	25.52
C 18:2 t9t12	0.21	0.14	0.27	0.38	0.06	0.40	0.39	0.06	0.39	0.28	0.21	0.32
C 18:2 c9c12	9.03	3.01	9.13	8.72	2.79	8.47	11.59	3.76	12.05	8.56	2.34	9.30
C 18:3 n-3	2.71	1.12	2.67	2.41	1.13	1.92	3.35	1.15	3.41	2.29	0.85	2.52
C 20:3 n-6	1.98	1.87	1.35	1.40	0.25	1.32	2.37	1.17	2.39	1.25	0.51	1.41
C 20:4 n-6	6.21	6.02	4.76	3.28	2.26	2.68	7.02	4.68	7.57	2.89	1.89	2.94
C 20:5 n-3	1.92	2.13	1.29	0.47	0.47	0.36	2.32	1.62	2.05	1.87	2.34	1.04
C 22:6 n-3	2.32	3.07	1.08	0.39	0.35	0.47	0.83	0.52	0.74	0.72	0.65	0.61
SFA	49.85	9.59	47.77	50.48	4.58	49.69	53.32	3.23	53.32	50.11	6.55	47.64
MUFA	29.80	2.45	28.76	30.93	6.16	28.47	27.70	3.00	27.70	30.89	3.49	30.71
PUFA	19.46	9.54	18.91	17.53	6.28	17.28	17.92	6.05	17.92	18.12	7.19	19.48
PUFA n-3	7.07	3.61	7.77	3.36	1.31	3.54	6.73	3.25	6.28	4.97	3.58	4.30
PUFA n-6	17.52	10.68	16.02	13.79	5.03	13.31	21.37	9.78	22.40	12.88	4.22	14.73
CLA	0.89	0.24	0.82	1.06	0.15	1.01	1.14	0.17	1.14	0.89	0.32	0.90
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***	
C 14	1.79	0.47	1.81	1.43	0.59	1.52	1.83	0.62	2.09	1.47	0.43	1.55
C 15	0.57	0.08	0.56	0.63	0.19	0.72	0.69	0.15	0.69	0.61	0.43	0.71
C 16	27.29	1.92	26.47	25.39	4.25	26.60	27.60	5.87	27.65	24.60	3.57	25.57
C 16:1 c9	2.55	1.33	2.65	1.11	0.30	1.24	2.41	1.47	2.47	1.35	0.34	1.44
C 17	0.98	0.06	0.96	1.12	0.41	1.10	1.11	0.18	1.09	0.97	0.86	0.89
C 17:1 c10	0.60	0.31	0.54	0.64	0.49	0.44	0.55	0.24	0.55	0.36	0.33	0.34
C 18	16.04	3.49	15.66	18.11	5.64	18.13	15.86	4.02	14.96	18.61	3.69	17.84
C 18:1 t9	2.05	1.65	2.11	2.76	0.99	2.94	3.12	0.17	3.16	2.36	1.95	2.59
C 18:1 c9	30.86	5.02	31.47	28.38	3.24	28.55	27.90	3.75	27.35	27.32	5.26	25.43
C 18:2 t9t12	0.27	0.04	0.28	0.16	0.18	0.14	0.28	0.03	0.27	0.24	0.30	0.18
C 18:2 c9c12	8.15	3.15	8.27	10.32	5.97	8.44	8.70	2.71	8.68	10.36	1.58	10.67
C 18:3 n-3	0.84	0.23	0.78	0.71	0.56	0.74	0.76	0.13	0.78	0.89	0.27	0.93
C 20:3 n-6	1.54	0.58	1.53	1.71	1.30	1.85	1.90	0.98	1.91	2.48	0.87	2.53
C 20:4 n-6	3.50	4.87	1.65	5.98	6.07	3.96	5.12	5.43	3.03	5.64	3.47	5.75
C 20:5 n-3	0.21	0.23	0.17	0.30	0.29	0.26	0.24	0.27	0.23	0.16	0.32	0.00
C 22:6 n-3	0.20	0.18	0.19	0.25	0.29	0.18	0.27	0.27	0.22	0.12	0.24	0.00
SFA	47.02	4.21	47.50	51.67	5.06	49.32	47.33	2.74	46.92	46.89	6.74	44.51
MUFA	36.23	5.01	37.57	34.87	1.45	35.46	34.14	4.36	33.38	31.72	6.04	29.58
PUFA	15.97	8.41	14.09	12.95	3.22	14.18	17.64	6.40	17.71	20.09	6.10	20.77
PUFA n-3	2.04	1.59	1.57	1.26	1.10	1.17	1.28	0.64	1.23	1.16	0.53	1.11
PUFA n-6	13.66	8.17	11.31	11.96	2.37	12.77	16.09	5.86	15.90	18.69	5.82	19.49
CLA	0.79	0.13	0.80	0.37	0.46	0.28	0.89	0.14	0.85	0.60	0.42	0.74

Tab. A- 41: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PL-Fraktion der Leber der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 16	10.23	2.49	10.39	9.60	0.71	9.69	8.43	1.59	8.21	9.44	1.84	9.76
C 16:1 c9	0.42	0.17	0.35	0.40	0.06	0.42	0.33	0.10	0.32	0.34	0.06	0.33
C 17	2.03	0.40	1.93	1.65	0.50	1.40	1.60	0.67	1.90	1.84	0.68	1.90
C 17:1 c10	0.54	0.07	0.53	0.56	0.06	0.57	0.52	0.08	0.54	0.38	0.22	0.43
C 18	20.16	8.17	17.53	18.14	3.09	18.72	21.68	8.01	19.12	21.33	7.52	20.59
C 18:1 c9	18.84	3.85	17.93	19.56	1.53	19.10	19.96	4.00	22.52	21.47	3.86	22.56
C 18:2 t9t12	0.27	0.13	0.28	0.34	0.22	0.27	0.26	0.16	0.34	0.17	0.16	0.08
C 18:2 c9c12	13.22	2.65	13.50	15.54	2.05	16.31	12.59	2.01	12.77	14.38	1.78	14.21
C 18:3 n-3	2.83	0.40	2.78	1.32	1.46	0.77	2.92	1.27	2.62	2.29	1.14	2.57
C 20:2 n-6	0.21	0.07	0.23	0.21	0.14	0.26	0.23	0.11	0.22	0.11	0.11	0.06
C 22	2.29	2.59	1.93	4.18	0.76	4.07	4.33	0.80	4.36	4.66	2.31	4.36
C 20:4 n-6	8.22	0.83	8.31	8.98	0.83	9.10	7.24	0.64	7.04	9.12	2.41	8.35
C 23	1.15	0.87	1.07	1.42	0.63	1.66	1.72	0.48	1.79	1.06	0.62	1.18
C 20:5 n-3	2.51	0.98	2.58	2.07	0.87	2.20	2.58	0.69	2.47	1.61	1.11	1.96
C 24:1	1.69	0.20	1.77	2.03	0.44	1.91	1.62	0.29	1.63	1.60	1.27	1.45
C 22:5 n-3	10.74	3.19	11.32	8.66	2.71	9.09	10.54	1.22	11.17	6.46	4.25	7.92
C 22:6 n-3	2.87	0.93	3.33	2.56	0.96	2.09	2.65	0.62	2.73	1.73	1.02	1.80
SFA	36.31	5.51	36.55	35.40	3.13	34.57	38.16	6.59	35.81	38.81	5.09	37.87
MUFA	22.01	4.69	20.33	22.91	1.96	22.60	22.55	3.78	24.43	24.26	4.41	25.70
PUFA	41.69	3.94	41.47	41.69	4.50	42.91	39.28	3.37	39.53	36.93	4.29	37.43
PUFA n-3	18.97	4.80	19.71	14.64	4.28	15.28	18.72	2.56	19.20	12.98	5.61	14.63
PUFA n-6	22.43	2.84	23.62	25.00	2.76	25.78	20.29	1.69	19.87	23.77	3.95	22.60
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 16	9.57	0.52	9.40	10.15	0.96	10.10	9.89	1.52	10.02	9.81	1.03	9.73
C 16:1 c9	0.38	0.13	0.33	0.33	0.08	0.31	0.48	0.16	0.43	0.38	0.16	0.32
C 17	0.92	0.42	1.02	1.10	0.27	0.99	1.10	0.10	1.12	1.01	0.40	0.92
C 17:1 c10	0.46	0.17	0.44	0.49	0.10	0.49	0.52	0.08	0.50	0.50	0.10	0.49
C 18	19.59	5.39	21.13	21.33	9.10	20.08	21.80	8.78	21.44	16.65	5.74	15.67
C 18:1 c9	23.85	1.33	24.49	19.15	3.96	19.47	20.57	4.20	20.77	18.54	4.66	16.16
C 18:2 t9t12	0.23	0.05	0.26	0.12	0.05	0.13	0.14	0.11	0.13	0.08	0.10	0.06
C 18:2 c9c12	16.90	2.47	16.44	18.24	5.15	18.64	18.26	4.44	17.76	17.55	2.18	18.03
C 18:3 n-3	0.69	0.18	0.60	0.56	0.40	0.64	0.69	0.27	0.60	1.24	1.45	0.69
C 20:2 n-6	0.21	0.09	0.22	0.14	0.13	0.10	0.22	0.10	0.22	0.16	0.12	0.15
C 22	5.24	1.30	4.88	5.26	2.50	5.39	4.56	1.54	3.88	4.79	1.45	4.56
C 20:4 n-6	10.03	1.16	9.87	12.21	5.67	10.42	11.01	2.78	10.93	16.37	5.36	16.85
C 23	0.40	0.14	0.37	0.36	0.17	0.31	0.35	0.16	0.33	0.54	0.36	0.44
C 20:5 n-3	0.51	0.26	0.60	0.51	0.32	0.60	0.50	0.25	0.53	1.01	0.75	0.75
C 24:1	3.50	1.08	3.00	3.08	0.86	3.24	3.04	0.63	2.95	2.34	1.32	2.66
C 22:5 n-3	4.81	0.79	5.12	4.44	0.44	4.60	4.31	0.54	4.13	5.86	2.74	5.08
C 22:6 n-3	1.81	0.27	1.77	1.82	0.17	1.77	1.72	0.34	1.66	2.05	0.39	2.23
SFA	36.01	3.90	36.43	38.55	8.18	40.18	38.06	7.64	38.24	33.13	4.51	31.97
MUFA	28.39	0.44	28.15	23.20	3.47	22.77	24.78	4.11	24.96	22.10	5.23	19.74
PUFA	35.60	4.29	35.42	38.25	11.16	36.20	37.16	5.22	37.98	44.78	6.39	46.33
PUFA n-3	7.88	1.02	8.24	7.37	1.21	7.76	7.26	0.89	7.03	10.16	5.13	8.79
PUFA n-6	27.49	3.56	26.92	30.76	10.20	28.37	29.76	5.45	30.88	34.52	6.11	35.41

Tab. A- 42: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PE-Fraktion der Leber der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***	
C 16	4.88	1.00	4.92	3.81	0.42	3.70	3.88	0.43	3.88	2.93	1.55	3.26
C 16:1 c9	0.24	0.04	0.22	0.37	0.17	0.31	0.22	0.07	0.24	0.29	0.09	0.27
C 17	1.29	0.26	1.24	1.49	0.28	1.51	1.35	0.10	1.40	1.27	0.21	1.25
C 17:1 c10	0.18	0.04	0.17	0.16	0.02	0.17	0.12	0.08	0.14	0.14	0.02	0.15
C 18	36.26	1.94	35.78	37.36	1.12	37.66	37.48	2.05	36.88	37.29	0.63	37.17
C 18:1 t9	1.64	0.36	1.64	1.67	0.15	1.60	1.12	0.75	1.48	1.48	0.27	1.43
C 18:1 c9	11.32	2.09	11.01	9.19	1.02	8.88	9.81	1.25	9.97	8.29	0.89	7.96
C 18:2 t9t12	0.23	0.22	0.23	0.30	0.26	0.42	0.20	0.23	0.19	0.29	0.19	0.36
C 18:2 c9c12	10.57	2.34	10.56	12.59	2.16	11.78	12.32	1.82	12.15	12.68	1.65	12.30
C 18:3 n-3	2.20	0.19	2.24	2.45	0.16	2.51	2.44	0.45	2.26	2.65	0.57	2.82
C 22	0.13	0.03	0.13	0.17	0.02	0.16	0.13	0.08	0.16	0.16	0.03	0.16
C 20:3 n-6	2.23	0.70	1.94	2.59	0.52	2.82	2.56	0.42	2.67	2.20	0.47	2.15
C 20:4 n-6	19.98	1.47	20.10	19.98	1.76	20.95	19.43	1.62	19.73	21.38	0.60	21.24
C 23	0.17	0.03	0.17	0.19	0.05	0.18	0.18	0.12	0.23	0.21	0.04	0.22
C 20:5 n-3	3.32	0.83	3.39	2.88	0.60	3.07	3.48	0.83	3.23	3.17	0.52	3.16
C 22:6 n-3	4.17	1.19	4.65	3.59	0.48	3.51	4.16	1.54	3.80	4.21	0.67	4.03
SFA	42.78	1.61	42.97	43.07	1.00	43.00	43.13	2.12	42.31	41.89	1.08	42.04
MUFA	13.66	2.30	13.13	11.71	1.00	11.26	11.41	1.74	11.46	10.75	1.39	10.27
PUFA	42.77	2.50	43.08	44.48	1.91	45.03	44.72	3.29	45.52	46.67	1.65	46.82
PUFA n-3	9.72	1.74	10.32	8.96	0.88	9.15	10.15	2.34	9.74	11.02	2.13	10.30
PUFA n-6	32.83	1.77	32.03	35.23	2.68	34.88	34.37	2.52	33.53	35.37	2.23	35.56
CLA	0.80	0.16	0.78	0.73	0.06	0.72	0.75	0.14	0.78	0.70	0.09	0.68
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***	
C 16	3.38	0.26	3.36	3.29	0.18	3.31	3.60	0.33	3.63	3.18	0.54	3.13
C 16:1 c9	0.45	0.31	0.39	0.47	0.15	0.54	0.44	0.18	0.42	0.49	0.17	0.49
C 17	0.95	0.17	0.89	0.94	0.14	0.95	1.03	0.13	1.05	0.90	0.22	0.84
C 17:1 c10	0.13	0.03	0.13	0.11	0.01	0.12	0.14	0.04	0.13	0.10	0.02	0.11
C 18	37.59	1.21	37.09	38.20	1.21	37.91	37.29	1.11	37.34	38.76	1.94	39.08
C 18:1 t9	0.95	0.26	0.97	0.85	0.19	0.82	1.29	0.24	1.31	0.74	0.30	0.63
C 18:1 c9	8.69	0.97	8.67	7.42	0.83	7.39	8.81	1.41	8.16	6.78	0.36	6.78
C 18:2 t9t12	0.20	0.14	0.25	0.22	0.05	0.21	0.28	0.07	0.28	0.20	0.14	0.24
C 18:2 c9c12	15.09	1.05	15.47	16.17	2.66	16.86	14.37	4.79	14.56	14.70	1.83	14.55
C 18:3 n-3	0.48	0.01	0.48	0.55	0.13	0.58	0.52	0.20	0.45	0.46	0.04	0.47
C 22	0.20	0.03	0.21	0.19	0.04	0.18	0.16	0.03	0.17	0.19	0.04	0.19
C 20:3 n-6	2.79	0.50	2.66	2.60	1.48	2.47	3.28	0.98	3.60	2.76	0.71	2.66
C 20:4 n-6	24.60	0.54	24.64	24.75	1.09	24.41	24.52	1.50	25.14	26.00	1.42	25.77
C 23	0.21	0.25	0.16	0.13	0.14	0.11	0.03	0.03	0.02	0.00	0.00	0.00
C 20:5 n-3	0.82	0.09	0.83	0.74	0.19	0.79	0.75	0.16	0.70	0.82	0.12	0.82
C 22:6 n-3	2.73	0.45	2.64	2.62	0.62	2.71	2.53	0.32	2.54	3.13	0.62	3.25
SFA	42.40	0.85	42.08	42.84	1.17	42.56	42.12	1.13	42.10	43.05	1.75	43.01
MUFA	10.39	0.87	10.54	9.02	0.81	9.18	11.01	1.92	10.21	8.33	0.58	8.26
PUFA	46.80	1.19	46.50	47.74	0.55	47.64	46.32	2.72	47.02	48.20	1.67	48.17
PUFA n-3	4.06	0.56	3.94	3.91	0.69	4.06	3.81	0.30	3.78	4.41	0.63	4.44
PUFA n-6	42.54	0.99	42.60	43.60	0.44	43.59	42.23	3.07	42.99	43.59	1.49	43.85
CLA	0.43	0.13	0.43	0.41	0.05	0.42	0.57	0.11	0.57	0.41	0.06	0.41

Tab. A- 43: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PI+PS-Fraktion der Leber der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 16	2.88	0.54	2.80	2.05	0.28	1.94	2.44	0.40	2.50	2.04	0.38	2.07
C 16:1 c9	0.19	0.05	0.17	0.21	0.09	0.18	0.15	0.03	0.16	0.14	0.03	0.13
C 17	1.27	0.18	1.25	1.33	0.19	1.30	1.32	0.05	1.31	1.13	0.07	1.14
C 18	47.67	1.02	47.50	49.64	2.79	49.84	49.52	2.04	48.92	50.17	2.14	49.52
C 18:1 t9	1.30	0.25	1.29	1.44	0.33	1.33	1.04	0.70	1.33	1.26	0.11	1.27
C 18:1 c9	8.35	2.06	7.92	6.83	0.71	6.54	8.04	2.28	8.37	7.42	1.23	7.53
C 18:2 t9t12	0.18	0.21	0.15	0.14	0.24	0.00	0.20	0.23	0.20	0.19	0.21	0.18
C 18:2 c9c12	9.85	0.44	10.03	11.00	0.93	10.77	9.85	0.39	9.80	9.57	2.39	9.53
C 20	0.12	0.14	0.10	0.06	0.10	0.00	0.08	0.09	0.08	0.11	0.12	0.10
C 18:3 n-3	1.62	0.14	1.65	1.62	0.01	1.63	1.64	0.29	1.57	1.59	0.54	1.69
C 20:2 n-6	0.55	0.09	0.53	0.83	0.09	0.83	0.77	0.07	0.79	0.59	0.33	0.69
C 22	0.14	0.16	0.12	0.15	0.16	0.12	0.11	0.16	0.06	0.31	0.09	0.28
C 20:3 n-6	5.76	1.36	5.39	6.86	1.55	7.44	6.54	1.52	6.65	5.94	1.30	5.64
C 20:4 n-6	14.97	1.92	15.17	13.65	1.98	13.31	12.96	1.05	13.15	14.79	0.99	14.93
C 20:5 n-3	2.26	0.59	2.34	1.68	0.34	1.59	2.22	0.66	2.11	2.02	0.31	2.00
C 22:6 n-3	1.29	0.29	1.33	0.89	0.31	0.85	1.11	0.44	0.99	1.10	0.14	1.13
SFA	52.31	1.60	51.84	53.36	2.31	53.30	53.74	1.95	53.27	53.94	2.20	53.31
MUFA	10.16	2.28	9.77	8.71	1.10	8.20	9.66	2.13	9.61	9.06	1.30	9.19
PUFA	36.82	3.69	38.33	37.12	1.18	37.57	35.74	4.10	36.18	36.22	3.03	36.19
PUFA n-3	5.48	0.94	5.64	4.60	0.59	4.28	5.36	1.21	5.22	5.41	0.35	5.21
PUFA n-6	31.17	2.68	32.40	32.38	1.21	31.87	30.18	2.75	30.76	31.63	2.38	31.81
CLA	0.70	0.13	0.70	0.80	0.21	0.92	0.87	0.21	0.80	0.80	0.10	0.76
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 16	2.32	0.43	2.22	2.02	0.12	2.02	2.27	0.41	2.21	2.16	0.65	1.91
C 16:1 c9	0.23	0.13	0.25	0.22	0.14	0.16	0.24	0.12	0.24	0.23	0.14	0.17
C 17	0.92	0.16	0.89	0.89	0.12	0.90	0.98	0.19	0.96	0.85	0.15	0.87
C 18	47.23	2.15	48.14	49.09	1.57	49.06	47.80	0.64	48.03	48.30	1.18	48.37
C 18:1 t9	1.07	0.62	0.88	0.71	0.30	0.64	1.14	0.21	1.14	0.74	0.15	0.73
C 18:1 c9	7.86	0.91	8.02	8.01	0.57	7.97	8.72	2.04	8.28	7.60	0.66	7.66
C 18:2 t9t12	0.12	0.14	0.11	0.11	0.13	0.10	0.07	0.14	0.00	0.17	0.12	0.20
C 18:2 c9c12	11.61	2.76	10.99	11.85	2.52	12.00	11.39	2.18	11.15	10.71	1.37	10.46
C 20	0.13	0.09	0.17	0.08	0.10	0.07	0.04	0.08	0.00	0.18	0.01	0.18
C 18:3 n-3	0.49	0.05	0.48	0.47	0.12	0.44	0.45	0.10	0.44	0.44	0.04	0.44
C 20:2 n-6	0.97	0.15	0.99	1.05	0.43	0.94	0.79	0.22	0.87	0.79	0.48	0.87
C 22	0.27	0.08	0.27	0.21	0.16	0.22	0.16	0.13	0.17	0.22	0.16	0.26
C 20:3 n-6	7.43	0.90	7.27	7.06	3.00	6.66	8.64	1.74	9.16	7.23	0.90	7.51
C 20:4 n-6	16.58	1.72	15.94	15.59	1.01	15.32	14.98	1.08	15.06	17.58	1.92	16.89
C 20:5 n-3	0.54	0.15	0.51	0.31	0.21	0.37	0.45	0.05	0.46	0.54	0.11	0.51
C 22:6 n-3	0.58	0.10	0.59	0.59	0.14	0.54	0.60	0.18	0.55	0.68	0.16	0.70
SFA	51.19	1.87	51.96	52.59	1.31	52.67	51.46	0.34	51.39	52.02	1.41	52.46
MUFA	9.37	0.52	9.38	9.16	0.69	9.35	10.23	2.30	9.76	8.75	0.43	8.72
PUFA	38.40	1.67	38.16	37.14	1.78	36.93	37.43	2.50	37.41	38.16	1.60	37.69
PUFA n-3	1.62	0.22	1.65	1.42	0.43	1.37	1.55	0.26	1.60	1.66	0.22	1.61
PUFA n-6	36.66	1.69	36.48	35.61	2.15	35.14	35.81	2.77	35.78	36.33	1.68	36.04
CLA	1.05	0.23	1.13	1.11	0.33	1.16	0.88	0.33	0.97	1.08	0.26	1.10

Tab. A- 44: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PC-Fraktion der Leber der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 4)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***	
C 16	11.53	1.69	11.36	9.45	1.15	8.78	10.28	0.44	10.44	9.12	1.98	9.03
C 16:1 c9	0.40	0.23	0.32	0.32	0.04	0.32	0.33	0.06	0.34	0.32	0.12	0.30
C 17	1.24	0.33	1.17	1.47	0.26	1.55	1.42	0.21	1.43	1.27	0.15	1.28
C 17:1 c10	0.24	0.18	0.27	0.30	0.02	0.31	0.33	0.07	0.35	0.29	0.02	0.29
C 18	35.05	2.67	35.32	38.11	2.13	38.27	37.75	1.49	37.27	38.31	0.77	38.26
C 18:1 t9	1.35	0.92	1.73	2.15	0.21	2.17	0.49	0.99	0.00	1.53	1.07	1.81
C 18:1 c9	17.40	3.59	17.44	14.39	0.54	14.68	16.74	2.91	17.72	14.16	0.91	13.96
C 18:2 t9t12	0.25	0.05	0.24	0.24	0.01	0.23	0.28	0.05	0.30	0.21	0.02	0.22
C 18:2 c9c12	10.78	1.14	10.97	12.31	1.84	11.46	11.25	0.46	11.29	12.28	2.23	12.87
C 18:3 n-6	0.21	0.06	0.21	0.17	0.02	0.17	0.16	0.04	0.17	0.17	0.06	0.18
C 18:3 n-3	2.44	0.06	2.45	2.87	0.09	2.92	2.29	1.52	2.88	3.15	1.03	3.25
C 20:2 n-6	0.19	0.04	0.19	0.25	0.04	0.23	0.24	0.07	0.26	0.16	0.02	0.16
C 20:3 n-6	3.89	1.29	3.53	4.65	0.99	5.17	4.41	0.69	4.71	4.11	0.81	4.13
C 20:4 n-6	7.39	1.22	7.85	7.16	0.88	7.63	6.94	1.08	6.94	7.68	0.76	7.48
C 20:5 n-3	2.74	0.72	2.87	1.92	0.38	1.80	2.44	0.85	2.13	2.47	0.56	2.46
C 22:6 n-3	3.06	0.92	3.30	2.23	0.65	2.08	2.73	1.23	2.43	2.81	0.51	2.95
SFA	48.43	1.48	48.34	49.67	1.46	49.36	50.00	1.02	49.67	49.41	1.13	49.47
MUFA	19.47	4.13	18.71	17.24	0.53	17.30	17.98	3.62	18.47	16.37	0.47	16.43
PUFA	31.01	2.85	31.92	31.98	1.39	32.65	30.85	3.84	29.95	33.14	1.44	32.92
PUFA n-3	8.27	1.56	8.68	7.09	0.94	6.84	7.52	2.79	7.00	8.47	0.72	8.26
PUFA n-6	22.50	1.43	22.88	24.66	1.42	24.55	23.05	1.59	23.39	24.45	0.91	24.63
CLA	1.09	0.18	1.11	1.12	0.11	1.07	1.17	0.21	1.18	1.10	0.12	1.12
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***	
C 16	9.79	1.00	9.83	10.18	1.51	10.39	10.45	1.20	10.32	9.87	1.17	10.34
C 16:1 c9	0.39	0.07	0.37	0.33	0.06	0.33	0.43	0.15	0.42	0.37	0.07	0.37
C 17	1.01	0.09	1.00	1.05	0.12	1.05	1.09	0.19	1.12	1.00	0.25	0.95
C 17:1 c10	0.26	0.02	0.26	0.26	0.04	0.26	0.28	0.06	0.27	0.23	0.01	0.24
C 18	36.99	0.40	36.90	36.06	1.33	35.85	35.23	1.61	35.02	37.79	2.55	37.40
C 18:1 t9	0.85	0.62	0.95	0.84	0.59	0.99	1.70	0.35	1.66	1.00	0.43	0.85
C 18:1 c9	17.69	2.67	18.40	15.24	0.81	15.28	16.14	2.27	15.75	13.73	0.71	13.89
C 18:2 t9t12	0.20	0.03	0.21	0.19	0.03	0.20	0.19	0.03	0.18	0.21	0.07	0.19
C 18:2 c9c12	13.94	1.00	14.06	16.85	4.14	17.42	14.41	4.54	14.78	15.07	1.94	15.50
C 18:3 n-6	0.21	0.06	0.23	0.21	0.08	0.21	0.30	0.21	0.24	0.31	0.15	0.33
C 18:3 n-3	0.61	0.03	0.61	0.78	0.24	0.77	0.65	0.27	0.60	0.65	0.12	0.66
C 20:2 n-6	0.14	0.03	0.14	0.18	0.08	0.17	0.18	0.08	0.17	0.17	0.07	0.15
C 20:3 n-6	5.70	1.19	5.22	5.57	2.70	5.42	6.55	1.86	7.01	6.03	1.12	5.77
C 20:4 n-6	8.86	0.71	8.94	9.02	0.89	8.84	9.02	1.54	9.30	10.01	1.25	10.05
C 20:5 n-3	0.44	0.29	0.57	0.53	0.15	0.56	0.58	0.15	0.54	0.66	0.16	0.59
C 22:6 n-3	1.44	0.19	1.45	1.31	0.38	1.27	1.38	0.32	1.48	1.64	0.36	1.68
SFA	48.25	1.00	48.48	47.73	0.77	47.78	47.13	0.72	47.45	49.05	1.85	49.16
MUFA	19.29	2.25	19.69	16.84	0.51	16.94	18.63	2.78	18.13	15.40	1.12	15.43
PUFA	31.65	2.51	31.56	34.69	0.42	34.72	33.31	2.19	33.50	34.78	0.85	34.70
PUFA n-3	2.55	0.49	2.70	2.64	0.30	2.60	2.63	0.21	2.64	2.98	0.43	2.97
PUFA n-6	28.91	2.19	28.53	31.86	0.66	32.06	30.49	2.30	30.86	31.60	0.50	31.52
CLA	0.82	0.10	0.79	0.74	0.16	0.72	0.94	0.12	0.94	0.77	0.11	0.73

Tab. A- 45: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der CE-Fraktion des Plasmas der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 14	0.52	0.19	0.48	0.55	0.21	0.51	0.49	0.08	0.46	0.52	0.08	0.54
C 16	10.80	2.11	10.10	9.92	0.93	10.22	9.38	1.40	8.93	10.17	0.87	9.95
C 16:1 c9	0.45	0.13	0.42	0.48	0.28	0.55	0.42	0.10	0.43	0.47	0.10	0.44
C 17	0.96	0.58	0.99	0.73	0.41	0.63	1.26	0.64	1.42	1.28	0.59	1.47
C 17:1 c10	2.10	0.32	2.14	1.90	1.05	1.82	2.33	0.56	2.10	2.19	0.39	2.09
C 18	13.79	2.16	13.41	13.58	4.31	12.96	12.22	3.04	12.51	12.66	1.32	13.07
C 18:1 t9	0.62	0.73	0.22	0.98	1.11	0.26	0.76	0.86	0.27	0.27	0.02	0.27
C 18:1 c9	11.46	3.61	11.90	8.51	1.44	8.11	7.88	1.75	7.70	9.25	2.38	8.52
C 18:2 c9c12	36.03	4.77	36.16	38.62	3.83	39.21	40.02	2.64	40.58	38.02	3.25	37.61
C 20	0.29	0.06	0.29	0.27	0.10	0.30	0.30	0.07	0.28	0.28	0.02	0.27
C 18:3 n-3	15.61	3.29	14.58	15.67	4.54	16.29	18.48	3.93	18.82	17.58	2.16	17.86
C 20:2 n-6	0.34	0.22	0.34	0.35	0.58	0.10	0.61	0.21	0.55	0.60	0.16	0.60
C 20:3 n-6	0.44	0.49	0.33	0.23	0.24	0.14	0.47	0.39	0.58	0.40	0.45	0.33
C 20:4 n-6	2.75	0.57	2.58	2.36	0.40	2.35	2.37	0.20	2.37	2.76	0.85	2.53
C 20:5 n-3	0.63	0.76	0.31	0.72	0.56	0.76	0.48	0.74	0.02	0.58	0.88	0.04
C 22:5 n-3	1.46	0.65	1.22	1.19	0.45	1.05	1.20	0.21	1.21	1.35	0.44	1.13
C 22:6 n-3	0.36	0.18	0.28	0.31	0.11	0.29	0.27	0.06	0.26	0.30	0.14	0.29
SFA	27.17	2.76	25.86	26.71	4.35	25.54	24.10	4.60	23.63	25.71	1.28	25.74
MUFA	15.73	3.70	17.16	12.67	2.21	12.89	12.18	1.34	11.94	12.93	2.45	12.77
PUFA	58.68	5.10	58.72	60.21	5.41	61.17	64.55	5.11	65.88	62.28	2.84	62.08
PUFA n-3	18.23	2.41	17.89	17.98	4.53	17.90	20.61	3.99	21.18	19.99	1.73	19.99
PUFA n-6	39.68	4.83	40.47	41.73	3.80	41.37	43.55	2.82	43.78	41.93	2.75	41.64
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 14	0.73	0.22	0.73	0.62	0.18	0.61	0.48	0.24	0.55	0.49	0.24	0.50
C 16	10.74	2.43	10.67	10.41	1.11	10.01	11.13	1.43	11.45	10.69	0.97	11.07
C 16:1 c9	0.70	0.44	0.62	0.66	0.12	0.65	0.89	0.39	0.76	0.59	0.30	0.67
C 17	0.44	0.32	0.57	0.34	0.22	0.37	0.41	0.21	0.53	0.35	0.20	0.38
C 17:1 c10	2.70	0.71	2.66	2.55	0.39	2.62	1.71	0.98	2.02	1.63	1.07	2.31
C 18	12.33	3.61	13.00	14.47	1.75	14.59	14.29	1.64	14.01	14.68	1.96	15.01
C 18:1 t9	0.72	0.42	0.61	1.31	0.19	1.39	0.60	0.92	0.29	0.41	0.38	0.26
C 18:1 c9	10.25	3.52	8.79	9.73	1.81	9.77	12.26	2.72	12.72	9.10	3.69	7.10
C 18:2 c9c12	51.04	8.16	50.02	49.57	4.57	50.51	45.15	6.21	45.06	50.16	8.07	53.08
C 20	0.43	0.62	0.05	0.39	0.68	0.02	0.03	0.03	0.05	0.35	0.72	0.04
C 18:3 n-3	3.91	2.10	3.43	3.01	0.72	2.99	2.64	1.28	2.85	3.58	0.70	3.58
C 20:2 n-6	0.20	0.13	0.19	0.36	0.34	0.27	0.41	0.32	0.29	0.20	0.21	0.13
C 20:3 n-6	1.05	0.67	0.77	0.48	0.31	0.41	0.76	0.80	0.63	0.99	0.23	1.05
C 20:4 n-6	3.18	0.97	3.13	2.49	0.84	2.31	3.67	1.10	3.14	2.89	0.47	2.81
C 20:5 n-3	0.26	0.17	0.32	0.12	0.13	0.05	0.12	0.13	0.08	0.18	0.16	0.25
C 22:5 n-3	0.52	0.38	0.33	0.53	0.28	0.40	0.56	0.38	0.52	0.40	0.26	0.43
C 22:6 n-3	0.16	0.10	0.13	0.16	0.13	0.09	0.17	0.14	0.17	0.05	0.05	0.06
SFA	25.86	6.10	26.58	27.65	2.75	27.27	26.49	1.92	26.81	27.46	1.76	27.38
MUFA	15.27	4.46	14.00	15.27	1.67	15.74	14.19	4.27	11.56	11.02	2.22	11.02
PUFA	60.91	7.90	60.59	57.16	4.36	56.99	59.51	5.90	61.45	61.78	3.55	61.75
PUFA n-3	4.92	1.76	4.14	3.88	0.36	3.71	4.15	0.43	4.27	4.23	0.45	4.27
PUFA n-6	55.66	7.08	54.15	52.96	4.20	52.52	50.24	6.68	50.30	54.34	8.01	57.19

Tab. A- 46: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der TG-Fraktion des Plasmas der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 14	3.32	1.75	2.43	1.97	1.37	2.39	3.24	1.01	2.88	2.57	0.65	2.49
C 14:1 c9	0.51	0.56	0.48	0.24	0.49	0.00	0.23	0.35	0.00	0.40	0.49	0.21
C 15	2.15	1.09	1.62	1.78	0.36	1.71	1.95	0.73	1.72	1.56	0.53	1.47
C 16	16.20	2.60	14.96	20.46	5.69	21.71	19.76	6.21	17.30	17.78	6.20	16.25
C 16:1 c9	6.74	1.61	6.98	4.36	0.99	4.16	4.41	0.89	4.41	3.90	0.56	3.86
C 17	1.05	1.28	0.63	0.13	0.27	0.00	0.45	0.86	0.00	0.55	0.44	0.76
C 17:1 c10	1.54	1.42	1.30	0.16	0.31	0.00	1.56	3.43	0.00	0.79	1.32	0.29
C 18	13.40	4.21	12.94	13.57	4.91	14.22	14.54	3.97	13.25	15.93	4.10	16.26
C 18:1 t9	0.55	0.88	0.00	0.37	0.75	0.00	0.09	0.15	0.00	0.54	0.78	0.09
C 18:1 c9	10.81	2.22	10.92	14.41	5.67	11.82	13.48	3.35	13.22	12.25	3.01	10.80
C 18:2 t9t12	0.59	0.56	0.78	0.18	0.37	0.00	0.33	0.52	0.00	0.42	0.47	0.35
C 18:2 c9c12	35.15	8.21	35.49	38.33	10.45	43.11	36.51	8.80	37.04	38.82	8.37	39.32
C 18:3 n-3	0.12	0.28	0.00	0.30	0.59	0.00	0.12	0.30	0.00	0.27	0.48	0.00
C 20:4 n-6	4.64	3.79	5.47	2.08	4.17	0.00	1.97	3.07	0.00	2.64	3.01	1.87
C 22:5 n-3	0.14	0.20	0.00	0.08	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C 22:6 n-3	0.37	0.38	0.43	0.14	0.28	0.00	0.08	0.20	0.00	0.21	0.32	0.00
SFA	37.74	4.04	37.74	39.13	9.84	39.30	41.18	8.09	41.75	39.68	7.56	40.32
MUFA	20.44	4.00	20.87	19.65	4.54	17.85	19.81	3.77	20.84	17.92	2.74	17.84
PUFA	41.39	5.57	40.97	41.22	13.27	43.98	39.02	9.76	38.83	42.40	9.38	42.52
PUFA n-3	0.94	1.01	0.87	0.51	1.02	0.00	0.21	0.50	0.00	0.48	0.55	0.34
PUFA n-6	39.80	6.72	40.96	40.53	12.41	43.98	38.48	9.31	38.27	41.50	8.81	42.35
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 14	1.88	0.45	1.94	1.37	0.96	1.72	1.26	0.21	1.25	1.38	0.51	1.29
C 14:1 c9	0.37	0.83	0.00	0.70	0.82	0.31	0.58	1.09	0.05	0.51	0.84	0.07
C 15	2.79	3.83	1.27	0.91	0.45	1.15	0.78	0.26	0.79	0.85	0.30	0.86
C 16	19.18	2.40	20.29	17.86	3.15	18.95	18.16	3.45	18.36	15.89	2.91	14.93
C 16:1 c9	6.52	1.15	6.04	3.83	2.14	4.76	2.44	1.20	2.81	3.32	2.34	3.61
C 17	0.00	0.00	0.00	0.45	0.40	0.60	0.13	0.25	0.00	0.49	0.47	0.49
C 17:1 c10	2.64	3.15	1.10	3.16	4.16	2.19	0.79	1.57	0.00	2.35	2.82	1.83
C 18	8.76	3.22	7.05	13.61	5.16	15.92	19.72	6.56	20.24	15.49	7.28	16.18
C 18:1 t9	0.61	1.36	0.00	0.71	1.47	0.10	1.25	2.39	0.08	0.99	1.33	0.32
C 18:1 c9	18.59	4.79	18.35	17.21	6.47	13.50	14.99	5.74	13.91	13.14	3.14	12.83
C 18:2 t9t12	0.35	0.78	0.00	0.65	0.72	0.22	0.37	0.60	0.11	0.51	0.58	0.28
C 18:2 c9c12	33.88	11.20	37.36	28.62	11.92	24.24	29.61	11.62	32.41	35.61	6.70	34.86
C 18:3 n-3	0.00	0.00	0.00	0.67	0.96	0.00	0.54	1.09	0.00	1.01	1.65	0.00
C 20:4 n-6	3.16	7.07	0.00	7.02	7.46	2.75	5.79	9.89	1.33	4.57	4.77	3.35
C 22:5 n-3	0.00	0.00	0.00	0.24	0.40	0.00	0.12	0.24	0.00	0.41	0.49	0.24
C 22:6 n-3	0.27	0.60	0.00	0.55	0.60	0.21	0.49	0.88	0.08	0.46	0.51	0.30
SFA	33.47	3.21	33.29	35.50	3.78	34.77	42.41	7.17	43.49	36.00	7.63	34.94
MUFA	28.86	3.32	29.06	26.09	5.88	24.77	20.29	5.85	21.26	20.83	6.99	20.10
PUFA	37.66	3.56	37.36	38.32	6.82	36.26	37.27	8.23	38.45	43.28	2.79	43.64
PUFA n-3	0.27	0.60	0.00	1.59	1.34	1.25	1.20	1.46	0.91	1.99	2.18	1.62
PUFA n-6	37.04	4.62	37.36	36.16	6.94	33.83	35.66	7.04	36.92	40.84	3.14	40.08

Tab. A- 47: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA in der PL-Fraktion des Plasmas der GS- und MS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 14	0.28	0.18	0.24	0.30	0.20	0.20	0.25	0.24	0.16	0.21	0.09	0.20
C 15	0.36	0.05	0.34	0.35	0.00	0.35	0.36	0.05	0.37	0.32	0.04	0.34
C 16	12.07	0.58	12.29	11.02	1.70	10.86	11.12	0.82	11.35	10.34	0.41	10.18
C 16:1 c9	0.42	0.22	0.52	0.44	0.20	0.52	0.23	0.24	0.22	0.10	0.19	0.02
C 17	5.22	2.38	4.11	5.89	0.52	5.81	6.67	2.17	5.98	6.47	0.89	6.07
C 17:1 c10	0.22	0.20	0.30	0.34	0.05	0.33	0.30	0.16	0.33	0.32	0.03	0.31
C 18	25.76	1.38	25.82	25.24	0.83	25.39	24.41	3.36	25.89	25.84	0.55	26.06
C 18:1 t9	1.75	0.20	1.81	1.15	0.95	1.49	1.31	0.86	1.80	1.74	0.18	1.72
C 18:1 c9	16.18	2.83	15.85	13.75	1.42	13.56	14.24	3.06	14.07	12.82	1.37	12.59
C 18:2 c9c12	20.49	1.64	19.86	23.55	1.36	23.36	23.97	1.36	23.80	23.73	2.44	24.07
C 18:3 n-3	3.87	2.32	3.80	4.60	1.05	5.19	4.48	2.30	5.08	5.41	1.26	5.39
C 20:2 n-6	0.89	0.74	1.31	1.36	0.69	1.53	1.45	0.20	1.48	1.09	0.50	1.29
C 20:3 n-6	1.75	0.40	1.85	1.17	0.81	1.29	1.10	0.90	1.39	1.80	0.42	1.99
C 20:3 n-3	0.56	0.70	0.31	0.45	0.71	0.21	0.23	0.23	0.18	0.22	0.26	0.06
C 20:4 n-6	3.79	0.32	3.74	3.71	0.20	3.74	3.23	0.56	2.99	3.86	0.88	3.81
C 22:5 n-3	3.53	1.06	3.33	3.28	0.33	3.42	3.59	0.49	3.56	3.48	0.68	3.19
C 22:6 n-3	0.59	0.19	0.60	0.47	0.33	0.44	0.50	0.26	0.58	0.59	0.17	0.53
SFA	44.31	1.42	44.36	43.88	1.60	43.47	43.66	1.17	43.19	43.61	1.32	43.00
MUFA	20.00	3.51	19.55	17.03	1.70	17.54	16.91	3.04	16.17	15.70	1.11	15.84
PUFA	36.61	3.39	36.56	39.62	1.88	39.76	39.43	3.65	40.15	41.17	1.48	41.20
PUFA n-3	8.98	2.48	9.64	9.09	1.56	8.90	9.08	2.03	9.47	10.11	0.97	10.13
PUFA n-6	26.97	2.20	27.05	29.84	1.03	29.86	29.78	2.28	29.74	30.53	1.49	30.75
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 14	0.18	0.06	0.17	0.91	1.36	0.42	0.63	0.39	0.75	0.44	0.34	0.34
C 15	0.23	0.05	0.20	0.30	0.04	0.30	0.28	0.06	0.30	0.29	0.05	0.30
C 16	11.75	0.90	11.48	12.91	1.22	13.09	12.43	0.89	12.25	12.47	0.80	12.19
C 16:1 c9	0.68	0.38	0.81	0.54	0.41	0.71	0.33	0.29	0.43	0.36	0.36	0.32
C 17	0.96	0.09	0.91	0.96	0.52	0.81	2.83	4.27	0.98	1.11	0.30	1.06
C 17:1 c10	0.39	0.08	0.39	0.34	0.20	0.35	1.79	2.73	0.42	0.44	0.37	0.35
C 18	28.61	2.07	28.38	26.17	3.07	26.52	25.17	5.71	26.11	28.09	2.98	28.80
C 18:1 t9	1.05	0.14	1.09	1.04	0.20	0.99	0.91	0.28	0.86	0.91	0.22	0.94
C 18:1 c9	19.23	1.88	18.94	16.86	1.71	16.79	17.48	3.23	17.98	16.51	3.44	16.53
C 18:2 c9c12	23.45	2.07	23.25	25.34	1.99	25.18	20.71	4.72	20.62	24.73	4.63	24.25
C 18:3 n-3	0.49	0.21	0.46	0.69	0.63	0.40	0.81	0.16	0.81	0.86	0.30	0.95
C 20:2 n-6	1.51	0.54	1.25	1.54	0.09	1.56	1.62	0.46	1.44	1.55	0.18	1.53
C 20:3 n-6	2.68	0.69	2.32	2.00	0.92	1.91	1.90	0.59	2.03	2.28	0.48	2.22
C 20:3 n-3	0.06	0.02	0.06	0.50	0.86	0.06	0.94	0.88	0.55	0.31	0.25	0.27
C 20:4 n-6	4.37	0.73	4.06	3.93	0.96	3.86	3.76	0.86	4.10	4.10	0.45	4.00
C 22:5 n-3	1.88	0.53	1.60	1.55	0.55	1.60	2.55	1.28	1.98	1.63	0.38	1.69
C 22:6 n-3	0.47	0.11	0.44	0.65	0.83	0.41	0.67	0.31	0.61	0.60	0.32	0.57
SFA	42.04	1.65	41.93	43.29	1.10	42.80	43.25	1.57	42.81	43.91	1.11	43.73
MUFA	22.86	1.75	22.55	20.16	1.09	19.85	22.59	1.35	22.74	19.70	3.78	20.98
PUFA	35.23	1.15	35.07	36.56	1.58	36.53	34.16	2.51	33.99	36.39	3.99	35.32
PUFA n-3	2.92	0.67	2.85	3.45	1.67	2.98	5.22	2.32	4.16	3.45	0.73	3.34
PUFA n-6	32.07	1.12	32.16	32.85	2.06	32.73	28.01	5.23	28.95	32.70	4.61	31.72

Tab. A- 48: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der einzelnen FA im Nierenfett der MS- und GS-Jungbullen; [% der gesamten FA] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	GS K			***GS C***			***GS Asc.***			***GS T***		
C 14	3.46	0.71	3.41	3.26	0.66	2.98	3.31	0.37	3.44	3.02	0.45	2.82
C 14:1 c9	0.67	0.08	0.67	0.71	0.13	0.65	0.65	0.09	0.65	0.59	0.06	0.60
C 16	27.61	1.70	27.41	27.28	2.39	26.90	26.90	1.98	27.52	26.14	1.73	26.73
C 16:1 c9	1.46	0.15	1.42	1.40	0.41	1.38	1.30	0.32	1.29	1.35	0.25	1.26
C 17	1.44	0.08	1.44	1.46	0.16	1.49	1.55	0.17	1.59	1.48	0.22	1.47
C 17:1 c10	0.48	0.14	0.42	0.36	0.20	0.38	0.36	0.05	0.35	0.43	0.09	0.42
C 18	30.67	1.05	30.63	32.68	3.65	33.07	33.14	3.70	33.74	31.38	2.90	31.19
C 18:1 t9	2.69	3.05	1.05	4.19	3.26	6.05	4.62	2.14	5.07	5.80	2.54	6.59
C 18:1 c9	27.92	4.95	29.62	25.45	5.26	24.22	24.52	4.76	23.62	26.02	3.69	25.11
C 18:2 t9t12	0.24	0.02	0.24	0.21	0.11	0.26	0.26	0.02	0.27	0.27	0.02	0.27
C 18:2 c9c12	1.66	0.33	1.55	1.96	0.35	1.83	1.65	0.17	1.60	1.78	0.26	1.78
C 20	0.25	0.02	0.25	0.21	0.10	0.25	0.29	0.05	0.28	0.26	0.03	0.26
C 20:1	0.47	0.18	0.43	0.48	0.20	0.40	0.41	0.06	0.40	0.47	0.05	0.47
C 18:3 n-3	0.57	0.13	0.63	0.61	0.11	0.64	0.76	0.10	0.73	0.73	0.08	0.70
SFA	64.28	2.69	64.19	65.27	2.59	66.51	65.94	3.42	67.40	62.97	1.97	63.02
MUFA	33.18	2.45	33.49	31.82	2.88	31.09	31.38	3.41	30.08	34.26	1.97	34.19
PUFA	2.54	0.43	2.42	2.90	0.51	2.72	2.68	0.28	2.60	2.77	0.31	2.69
PUFA n-3	0.57	0.13	0.63	0.61	0.11	0.64	0.76	0.10	0.73	0.73	0.08	0.70
PUFA n-6	1.66	0.33	1.55	1.96	0.35	1.83	1.65	0.17	1.60	1.78	0.26	1.78
	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
	MS K			***MS C***			***MS Asc.***			***MS T***		
C 14	3.25	0.58	3.25	3.33	0.53	3.47	3.56	0.21	3.51	3.30	0.31	3.27
C 14:1 c9	0.50	0.08	0.50	0.49	0.15	0.47	0.52	0.10	0.51	0.50	0.13	0.50
C 16	26.59	1.72	26.74	26.61	2.39	27.52	27.98	0.47	28.02	27.70	1.00	27.88
C 16:1 c9	1.38	0.25	1.28	1.30	0.32	1.22	1.56	0.20	1.49	1.57	0.54	1.69
C 17	1.38	0.14	1.34	1.29	0.17	1.37	1.32	0.05	1.31	1.27	0.14	1.31
C 17:1 c10	0.43	0.10	0.41	0.47	0.14	0.45	0.45	0.14	0.42	0.50	0.15	0.47
C 18	32.52	1.87	32.95	34.06	3.79	34.66	29.70	2.53	30.22	30.21	6.06	27.83
C 18:1 t9	1.04	0.67	1.04	0.71	0.48	0.90	0.83	0.46	1.03	0.99	0.11	0.99
C 18:1 c9	30.11	3.25	30.57	27.56	5.59	29.90	30.37	3.19	31.00	31.00	4.20	32.11
C 18:2 t9t12	0.17	0.04	0.16	0.19	0.02	0.20	0.20	0.05	0.20	0.21	0.06	0.22
C 18:2 c9c12	1.69	0.37	1.76	1.71	0.30	1.71	1.75	0.34	1.57	1.73	0.37	1.69
C 20	0.26	0.06	0.24	0.25	0.03	0.24	0.22	0.03	0.22	0.22	0.06	0.21
C 20:1	0.15	0.06	0.12	0.21	0.13	0.18	0.16	0.08	0.12	0.18	0.08	0.16
C 18:3 n-3	0.25	0.08	0.22	0.33	0.17	0.30	0.29	0.15	0.23	0.30	0.15	0.26
SFA	64.58	2.80	64.62	63.69	2.27	63.22	63.18	2.51	64.20	63.26	5.16	61.76
MUFA	33.31	2.89	33.38	34.13	2.16	34.22	34.71	2.20	33.95	34.49	5.04	35.87
PUFA	2.11	0.40	2.15	2.18	0.44	2.21	2.11	0.38	1.91	2.25	0.46	2.12
PUFA n-3	0.25	0.08	0.22	0.33	0.17	0.30	0.29	0.15	0.23	0.30	0.15	0.26
PUFA n-6	1.69	0.37	1.76	1.71	0.30	1.71	1.75	0.34	1.57	1.73	0.37	1.69

Tab. A- 49: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der TEAC-Werte im MLD und im Plasma; MLD [mg/g], Plasma [mmol/l] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***	
MLD	0.266 $^{a A}$	0.088	0.302	0.294 $^{a A}$	0.046	0.284
Plasma	1.850 $^{a A}$	0.195	1.832	1.900 $^{a b A}$	0.217	1.893
		GS Asc.			***GS T***	
MLD	0.317 $^{a A}$	0.039	0.321	0.326 $^{a A}$	0.053	0.325
Plasma	1.622 $^{a b A}$	0.243	1.890	2.055 $^{b A}$	0.031	2.067
		MS K			***MS C***	
MLD	0.306 $^{m A}$	0.057	0.292	0.325 $^{m A}$	0.017	0.317
Plasma	2.032 $^{m A}$	0.238	2.080	1.954 $^{m A}$	0.173	1.978
		MS Asc.			***MS T***	
MLD	0.334 $^{m A}$	0.077	0.340	0.302 $^{m A}$	0.053	0.305
Plasma	2.074 $^{m A}$	0.074	2.091	2.110 $^{m B}$	0.034	2.121

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb derselben Grundfutterart und des MLD bzw. Plasmas an, verschiedene Großbuchstaben zeigen Unterschiede zwischen den Grundfutterarten bei gleicher Supplementierung auf. Die Unterschiede sind signifikant ($p < 0.05$).

Tab. A- 50: Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der MDA-Gehalte im MLD und im Plasma; MLD [µg/g], Plasma [µmol/l] (n = 6)

	MW	***Stabw.***	***Median***	***MW***	***Stabw.***	***Median***
		GS K			***GS C***	
MLD	0.234 $^{a A}$	0.089	0.276	0.187 $^{a A}$	0.070	0.192
Plasma	1.597 $^{a A}$	0.397	1.625	1.849 $^{a A}$	0.547	1.812
		GS Asc.			***GS T***	
MLD	0.331 $^{a A}$	0.159	0.307	0.302 $^{a A}$	0.149	0.255
Plasma	1.607 $^{a A}$	0.367	1.549	1.614 $^{a A}$	0.366	1.623
		MS K			***MS C***	
MLD	0.307 $^{m A}$	0.108	0.275	0.276 $^{m B}$	0.050	0.263
Plasma	1.408 $^{m A}$	0.270	1.361	1.462 $^{m n A}$	0.238	1.395
		MS Asc.			***MS T***	
MLD	0.336 $^{m n A}$	0.186	0.350	0.171 $^{n A}$	0.059	0.177
Plasma	1.790 $^{m n A}$	0.395	1.704	1.703 $^{n A}$	0.164	1.743

Kleine Buchstaben zeigen Unterschiede innerhalb derselben Grundfutterart und des MLD bzw. Plasmas an, verschiedene Großbuchstaben zeigen Unterschiede zwischen den Grundfutterarten bei gleicher Supplementierung auf. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

A 6 Ergebnisse Lagerungsversuch

Tab. A- 51: Mittelwerte und Standardabweichungen der TEAC-Werte der im Kühlschrank bzw. in der Gefriertruhe gelagerten MLD-Proben; [mg/g] (n = 2)

Tag	MW Kühlschrank	Stabw. Kühlschrank	MW Gefriertruhe	Stabw. Gefriertruhe	MW Gefriertruhe + Vakuum	Stabw. Gefriertruhe + Vakuum
0	0.372 [a]	0.014	0.372 [a]	0.014	0.372 [a]	0.014
1	0.405 [a]	0.034	0.337 [a]	0.007	0.412 [a]	0.013
2	0.406 [a]	0.037	0.341 [a]	0.035	0.396 [a]	0.021
3	0.474 [a]	0.008	0.428 [a]	0.048	0.440 [a]	0.052
4	0.443 [a]	0.040	0.463 [a]	0.009	0.466 [a]	0.008
7	0.348 [a]	0.035	0.405 [a]	0.019	0.498 [a]	0.037
8	0.265 [b]	0.001	0.432 [a]	0.030	0.476 [a]	0.049
10	0.238 [b]	0.023	0.428 [a]	0.038	0.437 [a]	0.013
17	0.206 [b]	0.037	0.493 [a]	0.087	0.493 [a]	0.030
21			0.441 [a]	0.051	0.474 [a]	0.020
28			0.455 [a]	0.098	0.470 [a]	0.011
42			0.459 [a]	0.063	0.427 [a]	0.025
56			0.434 [a]	0.046	0.452 [a]	0.074
113			0.426 [a]	0.051	0.453 [a]	0.048

Verschiedene Buchstaben zeigen Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Lagerungsgruppen an. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Tab. A- 52: Mittelwerte und Standardabweichungen der MDA-Gehalte der im Kühlschrank bzw. in der Gefriertruhe gelagerten MLD-Proben; [µg/g] (n = 2)

Tag	MW Kühlschrank	Stabw. Kühlschrank	MW Gefriertruhe	Stabw. Gefriertruhe	MW Gefriertruhe + Vakuum	Stabw. Gefriertruhe + Vakuum
0	0.279 [a]	0.001	0.279 [a]	0.001	0.279 [a]	0.001
1	0.192 [a]	0.078	0.266 [a]	0.008	0.301 [a]	0.033
2	0.296 [a]	0.026	0.226 [a]	0.052	0.264 [a]	0.015
3	0.359 [a]	0.025	0.225 [a]	0.057	0.282 [a]	0.023
4	0.711 [b]	0.038	0.263 [a]	0.112	0.292 [a]	0.027
7	0.823 [b]	0.092	0.314 [a]	0.035	0.299 [a]	0.015
8	0.866 [b]	0.059	0.370 [a]	0.035	0.293 [a]	0.004
10	0.956 [b]	0.146	0.300 [a]	0.030	0.305 [a]	0.023
17	1.330 [b]	0.096	0.334 [a]	0.028	0.293 [a]	0.033
21			0.301 [a]	0.004	0.298 [a]	0.019
28			0.293 [a]	0.054	0.286 [a]	0.006
42			0.312 [a]	0.049	0.320 [a]	0.025
56			0.282 [a]	0.023	0.287 [a]	0.036
113			0.316 [a]	0.026	0.310 [a]	0.023

Verschiedene Buchstaben zeigen Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Lagerungsgruppen an. Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

A 7 Ergebnisse Stereoisomerenverteilung des α-Tocopherol

Tab. A- 53: Mittelwerte und Standardabweichungen der relativen Gehalte an 2*R*-Stereoisomeren des α-Tocopherols im MLD von Färsen und Jungbullen; [% der gesamten *2R*-Isomere] (n = 9 - 12)

	MW RSS	***Stabw.***	***MW RRS***	***Stabw.***	***MW RRR***	***Stabw.***	***MW RSR***	***Stabw.***
Färsen MS K	2.1 ^{aA}	0.3	1.4 ^{aA}	0.1	96.0 ^{aA}	0.4	0.5 ^{aA}	0.1
Färsen MS T	19.3 ^{bA}	1.3	19.9 ^{bA}	1.3	43.2 ^{bA}	2.9	17.5 ^{bA}	1.7
Färsen Weide	1.9 ^{cC}	0.1	1.2 ^{cC}	0.1	96.4 ^{cC}	0.2	0.4 ^{aC}	0.1
Jungbullen GS K	1.7 ^{dD}	0.2	1.4 ^{dD}	0.1	96.4 ^{dC}	0.4	0.5 ^{dC}	0.1
Jungbullen GS T	12.0 ^{eE}	2.5	9.8 ^{eE}	2.5	69.4 ^{eD}	6.6	8.7 ^{eD}	2.5
Jungbullen MS K	2.1 ^{fA}	0.4	1.7 ^{fA}	0.4	95.8 ^{fA}	0.8	0.5 ^{dA}	0.1
Jungbullen MS T	22.0 ^{gB}	1.5	21.1 ^{gB}	1.0	38.1 ^{gB}	1.7	18.8 ^{fB}	1.0

Die kleinen Buchstaben zeigen für jedes der vier 2*R*-Stereoisomere des α-Tocopherols getrennt nach Geschlecht (Färsen: a - c, Jungbullen: d - g) Unterschiede zwischen den Mittelwerten der relativen Gehalte an. Verschiedene Großbuchstaben zeigen Unterschiede zwischen den Grundfutterarten bei gleicher Supplementierung auf (MS-Tiere: A - B, GS-Tiere bzw. Weidetiere: C - E). Die Unterschiede sind mindestens signifikant ($p \leq 0.05$).

Lebenslauf

Name:	Sven Linden
Adresse:	Stormarnstr. 39
	D-22926 Ahrensburg
Geburtsdatum:	28. September 1972
Geburtsort:	Hamburg

Schulausbildung

08/1979 - 06/1983	Grundschule am Schloß, Ahrensburg
08/1983 - 05/1992	Gymnasium Stormarnschule, Ahrensburg
	Abschluß: Abitur, allgemeine Hochschulreife

Zivildienst

08/1992 - 10/1993	Zivildienst im Krankenhaus Großhansdorf

Studium und Praktika

10/1993 - 10/1998	Studium der Lebensmittelchemie an der Universität Hamburg
	Erste Lebensmittelchemische Staatsprüfung und
	Diplom in Lebensmittelchemie
04/1999 - 10/2001	Promotionsarbeit am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Universität Hamburg
	„α-Tocopherol, β-Carotin und L-Ascorbinsäure in der Rindermast - Einfluss auf Qualitätsparameter“
11/2001 - 06/2002	Hygiene Institut, Hamburg
	Zweite Lebensmittelchemische Staatsprüfung
04/2003	Promotion in Lebensmittelchemie

Praktische Tätigkeiten

11/1998 - 05/2002	Dr. Wiertz - Dipl.-Chem. Eggert - Dr. Jörissen GmbH, Handels- und Umweltschutzlaboratorium, Hamburg
04/1999 - 10/2001	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Universität Hamburg
07/2002 -	Laborleiter Mikrobiologie und Stabilitätsprüfung, Rotexmedica GmbH, Arzneimittelwerk, Trittau