

**Aus dem Institut Physiologische Chemie
der Tierärztlichen Hochschule Hannover**

**Interaktionen von Vitamin E und synthetischen
Antioxidantien im Hinblick auf den peroxidativen
Stoffwechsel des Broilers**

**INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
DOCTOR MEDICINAE VETERINARIAE
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover**

**Vorgelegt von
Ulvi Reha Fidancı
aus Ankara/Türkei**

Hannover 1990

**Angefertigt im Rahmen der Universitätspartnerschaft zwischen der
Tierärztlichen Hochschule Hannover und der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Universität Ankara**

Wissenschaftliche Betreuung : Univ. Prof. Dr. H.-P. SALLMANN

1. Gutachter : Univ. Prof. Dr. H.-P. SALLMANN
2. Gutachter : Univ. Prof. Dr. Dr. W. DROCHNER

Tag der mündlichen Prüfung : 12. Dezember 1990

Gedruckt mit Unterstützung
des Deutschen Akademischen Austauschdienstes

Meinen Eltern in Liebe
und Dankbarkeit gewidmet



Inhaltsverzeichnis

Seite

1.0	Einleitung	1
2.0	Literaturübersicht	3
2.1	Die Lipidperoxidation	3
2.1.1	Messung von Produkten der Lipidperoxidation	5
2.2	Antioxidantien	7
2.2.1	Molekulare Wirkung der Antioxidantien	9
2.2.2	Vitamin E (Tocopherole)	11
2.2.2.1	Struktur des Vitamin E (Tocopherole)	12
2.2.2.2	Physiologie des Vitamin E	14
2.2.2.3	Wirkung des Vitamin E als Antioxidans in vivo und in vitro	16
2.2.2.4	Weitere eventuelle biologische Wirkungsmechanismen des Vitamin E	20
2.2.2.5	Vitamin E und Immunität	21
2.2.2.6	Auswirkungen des Vitamin E Mangels	22
2.2.3	Synthetische Antioxidantien	25
2.2.3.1	Butylhydroxytoluol (BHT)	26
2.2.3.2	Propylgallat	31
2.2.3.3	Ethoxyquin	32
2.2.3.4	Immuneffekte der synthetischen Antioxidantien	34
2.3	Vergleichende Wirkung bzw. Interaktionen von Vitamin E mit Synergisten und synthetischen Antioxidantien in praxisnahen Versuchsansätzen	35
2.3.1	Lagerungsversuche (in vitro-Wirkung)	35
2.3.2	Fütterungsversuche (in vivo-Wirkung)	36
3.0	Eigene Untersuchungen	38
3.1	Prinzip der Versuche	38
3.2	Fütterungsschemata und Gruppeneinteilungen	38
3.2.1	Versuch I	38
3.2.2	Versuch II	40
3.2.3	Versuch III	41
3.3	Tiere und Tierhaltung	43
3.4	Diäten	43
3.4.1	Der Fettanteil der Diät	44
3.4.2	Antioxidantien-Vormischungen	46
3.4.3	Mineral-Mix	46
3.4.4	Vitamin-Mix	47
3.5	Versuchsdurchführung	48
3.6	Gewinnung des Probenmaterials	48
3.7	Chemische und biochemische Bestimmungsmethoden	49
3.7.1	Bestimmung des Proteingehaltes	49
3.7.2	Bestimmung der Peroxidzahl (POZ)	49
3.7.3	Bestimmung der Pentanbildung in Lebermikrosomen	50

3.7.4	Bestimmung der α -Tocopherolkonzentration im Lebergewebe	52
3.8	Statistische Verfahren	53
4.0	Ergebnisse	54
4.1	Versuch I	54
4.1.1	Zootechnische Resultate	54
4.1.1.1	Klinisches Bild	54
4.1.1.2	Futterverzehr	54
4.1.1.3	Körpergewichte	55
4.1.1.4	Futterverwertung	60
4.1.2	Pentanproduktion in Lebermikrosomen	61
4.1.3	Vitamin E-Gehalte im Lebergewebe	67
4.2	Versuch II	71
4.2.1	Zootechnische Resultate	71
4.2.1.1	Klinisches Bild	71
4.2.1.2	Futterverzehr	71
4.2.1.3	Körpergewichte	72
4.2.1.4	Futterverwertung	73
4.2.2	Pentanproduktion in Lebermikrosomen	74
4.2.3	Vitamin E-Gehalte im Lebergewebe	76
4.3	Versuch III	78
4.3.1	Zootechnische Resultate	78
4.3.1.1	Klinisches Bild	78
4.3.1.2	Futterverzehr	78
4.3.1.3	Körpergewichte	79
4.3.1.4	Futterverwertung	80
4.3.2	Pentanproduktion in Lebermikrosomen	80
4.3.3	Vitamin E-Gehalte im Lebergewebe	82
5.0	Diskussion	83
5.1	Wahl des Modells	83
5.2	Versuch I	84
5.3	Versuch II	88
5.4	Versuch III	88
5.5	Schlußfolgerung	88
6.0	Zusammenfassung	90
7.0	Summary	92
8.0	Özet	94
9.0	Anhang	96
10.0	Literaturverzeichnis	113

Abkürzungsverzeichnis

A*	Antioxdans Radikal
Abb.	Abbildung
ADI	Acceptable daily intake akzeptable tägliche Aufnahme
AH	Antioxdans
BHA	Butylhydroxyanisol
BHT	Butylhydroxytoluol
CO	Cyclooxygenase
CK	Creatinkinase
EQ	Ethoxyquin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EG	Europäische Gemeinschaft
ESR	Electron-spin-resonance
EWG-Nr. (E-Nr.)	Zahlencode für Lebensmittel-Zusatzstoffe
Fa.	Firma
FDA	Food and Drug Administration/USA
FG	Freiheitsgrade
fr	frisch
GLC	Gas-Liquid-Chromatography
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GSH	reduziertes Gluthation
GSH-Px	Gluthationperoxidase (Gesamtaktivität)
GSSG	Disulfidglutathion
H*	Wasserstoffradikal
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HPLC	High performance liquid chromatography
I.E.	Internationale Einheiten
i.m.	intramuskulär
i.p.	intraperitoneal
IUPAC-IUB	International Union of Pure and Applied Chemistry - International Biochemistry Commission on Biochemical Nomenclature
i.v.	intravenös
KGW	Körpergewicht
L-100	Loxidan TD-100 - Trockenpräparat (eine Mischung von EQ, PG und einem Synergisten)
L-400	Loxidan TL-400 - Flüssigpräparat (eine Mischung von EQ, PG und einem Synergisten)
LDH	Lactatdehydrogenase
LDL	low density lipoproteins
LPO	Lipoxygenase
m. Äqu.	Milliäquivalent
MDA	Malondialdehyd
MQ	Mittel-Quadrat
n	Anzahl der untersuchten Tiere
NADH(+H ⁺)	β-Nicotinamid-adenin-dinucleotid, reduziert
NADPH(+H ⁺)	β-Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat, reduziert

nm	Nanometer
nmol	Nanomol
n.s.	nicht signifikant ($p \geq 0.05$)
1O_2	Singulett-Sauerstoff
$O_2^{\cdot-}$	Superoxidradikal
OH^{\cdot}	Hydroxyradikal
ox	oxidiert
P	Signifikanz
PG	Propylgallat
pmol	Picomol
POZ	Peroxydzahl
ppm	parts per million
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren
R*	freies Radikal
Rel. Mit.	relative Mittelwerte
Rel. zu Stan.	relativ zu Standard
RES	reticulo-endotheliales System
RH	Fettsäuremolekül
RO*	Fettsäuresauerstoffradikal
ROO*	Fettsäureperoxidradikal
ROOH	Fettsäureperoxid
S	Schmalz
s.c.	subkutan
Se-GSH-Px	selenhaltige Glutathionperoxidase
Sig.	Signifikanz
SOD	Superoxiddismutase
SQ	Summe der Abweichungsquadrate
T	Talg
α -T*	α -Tocopherolradikal
Tab.	Tabelle
TBA	Thiobarbitursäure
α -TCH	α -Tocopherol-Chinon
Tg	Triglycerid
Tg-fr oder -frisch	frisches Triglycerid
Tg-ox oder -oxidiert	oxidiertes Triglycerid
α -TH	α -Tocopherol
TRIS	TRIS (hydroxymethyl)-amino-methan
U	Unit
UV	Ultraviolett
Vit.E	Vitamin E, in dieser Arbeit als Synonym für α -Tocopherol verwendet und umgekehrt
Vit.E+BHT	25 ppm Vitamin E + 150 ppm BHT
Vit.E+L-100	25 ppm Vitamin E + 100 ppm Loxidan TD-100
Vit.E+L-400	25 ppm Vitamin E + 40 ppm Loxidan TL-400
Vit.E+PG	25 ppm Vitamin E + 10 ppm PG
VLDL	very low density lipoproteins

Zeichen:

*	schwach signifikant ($p \leq 0.05$)
**	signifikant ($p \leq 0.01$)
***	hoch signifikant ($p \leq 0.001$)
x	arithmetischer Mittelwert
±	Standardabweichung

1.0 Einleitung

In den letzten Jahren werden vermehrt Schlachtfette - wie Schmalz und Talg - in Mischfuttern eingesetzt, weil einerseits übermäßige Angebote preiswert zur Verfügung stehen und andererseits Fett als konzentrierte Energiequelle zur Deckung des ausgeprägten Energiebedarfs hochleistender Nutztiere dienen kann. In der Regel sind Beimengungen bis zu 10 % der Diät vorteilhaft anwendbar.

Parallel zu dieser Entwicklung finden sich in der Literatur aber auch Berichte über Fütterungsschäden und Produktionseinbußen, bis hin zu Todesfällen, die unter Umständen in einem unkritischen bzw. nicht beabsichtigten Einsatz von eventuell autoxidativ verdorbenen Futter(-fett)-chargen begründet sein können (VORECK u. KIRCHGESSNER, 1981; HARTFIEL, 1981; ASTRUP, 1983). Der Verzehr derartig veränderter Fette ist als Ursache für morphologische und histologische Abweichungen in Geweben und Organen erkannt worden, was auch mit der ebenfalls beobachteten nachteiligen Einflußnahme auf erzeugte Lebensmittel zusammenhängt. Außerdem wurden Wachstumsdepressionen und Tierverluste im Zusammenhang mit der Aufnahme oxidierter Fette diskutiert (KAUNITZ, 1967; HARTFIEL u. TUSCHY, 1973; ALEXANDER, 1978; OERTEL, 1980; SALLMANN u. FUHRMANN, 1990).

Im Hinblick auf die molekularen Vorgänge gilt als gesicherte Erkenntnis, daß zellulär gehäuft auftretende Lipoperoxidradikale auf Grund hoher Reaktivität (Kettenreaktion) insbesondere gegenüber Proteinen und den ungesättigten Fettsäuren der Membranen zu starken Zell- und Gewebeschäden führen können (TAPPEL, 1972; BUS u. GIBSON, 1979). Dabei ist es unerheblich, ob die Störung des Gleichgewichts zwischen peroxidativen Stoffwechselprozessen und dem antioxidativen Schutz durch übermäßige Aufnahme von provozierenden Produkten (Sekundärprodukten) des Autoxidationsvorganges im Futter, oder durch Unterversorgung mit Antioxidantien erfolgt.

Vitamin E, als wichtigstes natürliches Antioxidans, ist bisher in allen Versuchsansätzen, in denen zelluläre Lipidperoxidationen ausgelöst wurden, als höchst kompetenter Hemmstoff erkannt worden. Es gibt jedoch noch andere natürlich vorkommende, aber auch synthetische Substanzen sehr verschiedenartiger Struktur, die die Oxidation gefährdeter Stoffe hemmen können oder sogar verhindern.

Gegenstand dieser Arbeit ist die Darstellung möglicher Effekte von Vitamin E im Zusammenspiel mit anderen Antioxidantien auf den pro- und antioxidativen Stoffwechsel des Broilers im Fütterungsversuch mit verschiedenen Fettqualitäten. Parameter

für die peroxidative Seite in der Leber soll die mikrosomale Pentanproduktion, für die antioxidative Seite die Vitamin E-Speicherung sein.

2.0 Literatur

2.1 Die Lipidperoxidation

Unter dem Begriff der "Lipidperoxidation" versteht man nicht einen einheitlichen Vorgang, sondern sehr komplexe Prozesse oder Umsetzungen in biologischen Geweben, in denen ungesättigte Fettsäuren mit molekularem Sauerstoff reagieren und Lipidhydroperoxide bilden (SLATER, 1984). Diese Reaktionen, die auch bei der Verarbeitung und sehr langer oder falscher Lagerung von fetthaltigen Erzeugnissen, Nahrungs- und Futtermitteln ablaufen und zur Bildung unerwünschter Geruchs- und Geschmackskomponenten führen, bezeichnet man als Autoxidation.

In zahlreichen physiologischen Prozessen sowie durch exogene Einflüsse entstehen im Organismus freie Radikale, die als Auslöser der peroxidativen Reaktionen betrachtet werden können. Diese Radikale zeigen eine hohe chemische Reaktivität gegenüber zellulären Bestandteilen, wie z.B. ungesättigten Fettsäuren in Lipidmembranen. Die so ausgelöste Lipidperoxidation läuft dann als Radikalkettenreaktion über die gesamte Membran, die dadurch in ihrer Eigenschaft als Barriere- und Transportsystem stark geschädigt wird. Der Ionentransport über die Zellmembran wird verändert und lytische Enzyme treten aus, was letztlich zum Tod der betroffenen Zelle führt. Es entstehen außerdem Zerfallsprodukte, die toxisch, mutagen und möglicherweise auch kanzerogen sind und negative Auswirkungen auf den Gesamtorganismus haben (KANNER u. KINSELLA, 1983; KAPPUS, 1989).

Die durch Radikale ausgelöste Lipidperoxidation kann in drei Reaktionsphasen eingeteilt werden (SMITH, 1981).

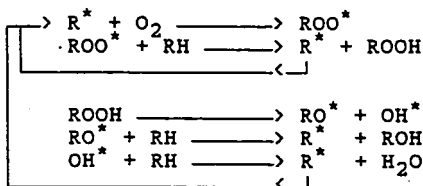
1. Startreaktion

Die erste Phase der oxidativen Veränderungen in biologischem Material zeichnet sich durch Abstraktion eines H-Atoms aus einer Methylengruppe (RH) (vornehmlich die der Doppelbindung benachbarte α -Methylengruppe) des Fettsäuremoleküls aus, wobei sich ein freies Radikal (R^*) bildet. Diese Startreaktion wird exogen durch Licht (UV-Strahlung) und Wärme, sowie endogen durch Porphyrin-Farbstoffe (Chlorophylle und Hämine) und eine Reihe von Metallionen katalytisch unterstützt (TÄUFEL, 1958; GROSCH, 1975; CHOW, 1979; GERTZ, 1983; SEVANIAN u. HOCHSTEIN, 1985).



2. Kettenreaktion

Das durch Wasserstoffabspaltung gebildete freie Fettsäureradikal reagiert schnell mit atmosphärischem Sauerstoff (O_2) und bildet ein Peroxidradikal (ROO^*), das sehr reaktionsfähig ist und mit einem weiteren Fettsäuremolekül zum Hydroperoxid ($ROOH$) und einem neuen Fettsäureradikal (R^*) reagiert. Dies ist tatsächlich die Initialphase einer Kettenreaktion. Das neu gebildete Fettsäureradikal kann entweder nach weiterer Reaktion in Radikale zerfallen oder mit einem zweiten Hydroperoxid reagieren. Die beginnende Kettenreaktion bewirkt einen immer schnelleren Verlauf der Oxydation (TÄUFEL, 1958; PRYOR, 1973; CHOW, 1979; KONG u. DAVIDSON, 1980; TAPPEL u. DILLARD, 1981; SEVANI u. HOCHSTEIN, 1985).

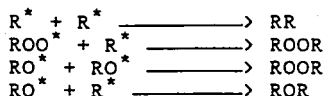


In vielen Fällen ist das so gebildete Peroxid eine außerordentlich labile Verbindung, welche unter Bildung von zwei Radikalen (RO^* und OH^*) spaltungsfähig ist, wovon jedes mit Substratmolekülen unter Bildung von neuen R^* -Radikalen reagieren kann und dadurch eine neue Kettenreaktion in Gang setzt. Somit führt die Bildung eines Radikals zur Bildung von vielen weiteren. Peroxide können daher als Initiatoren der Kettenreaktionen dienen.

Im Rahmen physiologischer Vorgänge, die nicht Gegenstand der Abhandlung sind, kommt es insbesondere während des Abbaus der membranständigen ungesättigten Phospholipide durch Einwirkung der sogenannten Cyclooxygenasen bzw. Lipoperoxidasen zur Entstehung intermediärer cyclischer Peroxide bzw. von Kettenperoxiden der Polyensäuren (Arachidonsäurekaskade). Diese werden in Mediatoren aus der Reihe der Prostanoiden oder der Leukotriene umgewandelt und haben vornehmlich die Entzündung unterhaltende Funktionen (HEMLER u. LANDS, 1980; HARMAN, 1982; MEAD, 1984).

3. Abbruch der Kettenreaktion und Bildung der Sekundärprodukte

Durch Metallkatalyse (insbesondere Übergangsmetalle wie Fe) können die Hydroperoxidmoleküle wiederum in Radikalverbindungen vom Typ ROO^* , RO^* und R^* überführt werden, diese bilden entweder inerte Kondensationsprodukte



oder reagieren weiter zu den vielfältigen Sekundärstoffen der Lipidautoxidation (GROSCHE, 1975; CHOW, 1979; NIKI, 1987). In jedem Fall kommt es dabei zum Abbruch der Kettenreaktionen.

Einen zusammenfassenden Überblick über den Gesamtprozeß der Lipidautoxidation gibt die Abb. 1 aus einer Arbeit von CLAVEL et al. 1985.

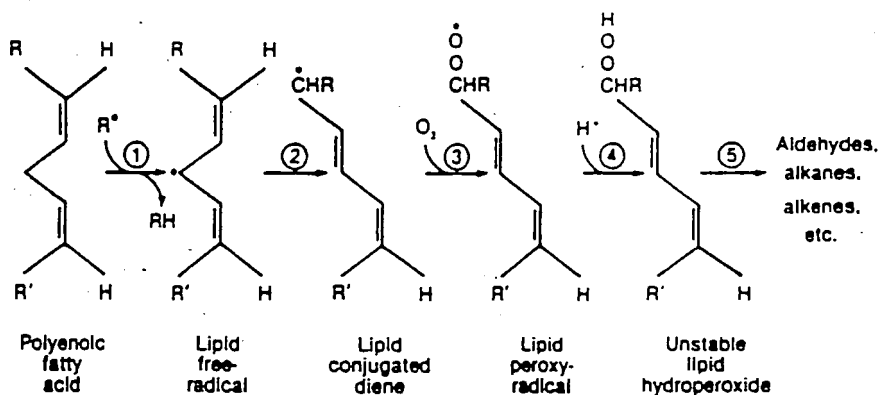


Abb. 1

2.1.1 Messung von Produkten der Lipidperoxidation

Entsprechend der weitreichenden physiologischen und pathophysiologischen Bedeutung der Lipidperoxidationsreaktionen in lebenden Organismen besteht ein sehr intensives Interesse, den Prozeß als solchen und seine Produkte quantitativ zu erfassen.

Wie die Abb. 2 (nach BEUTER, 1982) zeigt, dienen dabei Radikal-initiationsmessung (Chemilumineszenz; BOVERIS et al., 1981; CADENAS u. SIES, 1984; SLATER, 1984; FRAGA et al., 1987), die Erfassung der konjugierten Doppelbindungen im Fettsäuremolekül (Absorption im UV-Bereich; RECKNAGEL u. GHOSHAL, 1966; CHAN u. LAVETT, 1977; BUEGE u. AUST, 1978; SLATER, 1984), sowie der Sauerstoffverbrauch (Manometrie: HOCHSTEIN u. ERNSTER, 1963), die Messung der Radikale (ESR-Spektroskopie; MC CAY et al. 1980; JANZEN, 1984) und die Bestimmung der Lipidperoxide selbst (Jodometrie, GSH-Px; MEHLENBACHER, 1960; BUEGE u. AUST, 1978;

HICKS u. GEBICKI, 1979) als Verfahren zur Charakterisierung der einleitenden und Kettenreaktionsphase des Autoxidationsprozesses.

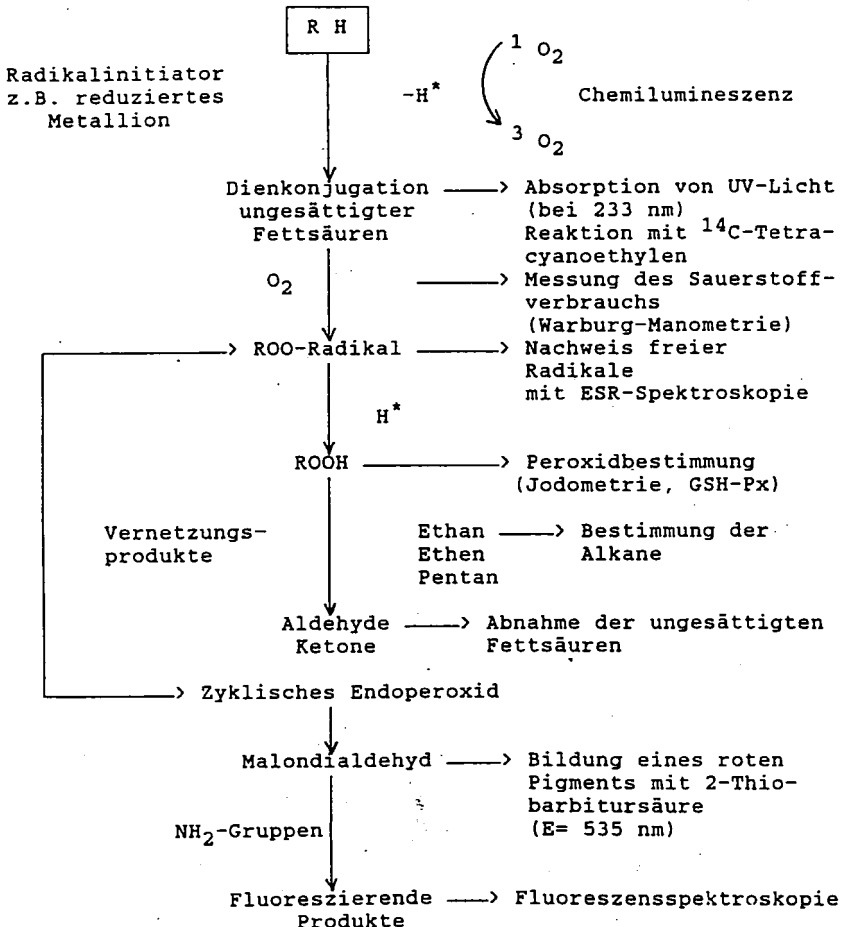


Abb. 2 : Methoden zur Erfassung der Lipidperoxidation

Darüber hinaus bieten die aus den Lipidperoxiden hervorgehenden eher stabilen Sekundärprodukte des Reaktionszyklus Möglichkeiten, den Gesamt Ablauf quantitativ zu erfassen. Dazu gehören diverse Aldehyde und Ketone, die pauschal über die spezifischen

Kennzahlen bestimmt werden können. Neben dem breit eingesetzten Verfahren zur Messung des Abbauproduktes Malondialdehyd durch Reaktion mit 2-Thiobarbitursäure sind GLC-Bestimmungen von Alkanen wie Ethan und/oder Pentan, die eindeutig dem Linolensäure- bzw. Linolsäurehydroperoxid zugeordnet werden können, sehr sensitive Indizes für die zelluläre Lipidperoxidation (DAHLE et al., 1962; RIELY et al., 1974; DUMELIN u. TAPPEL, 1977; BUEGE u. AUST, 1978; FRANK et al., 1980; KIVITS et al., 1981; TAPPEL u. DILLARD, 1981; KAPPUS u. MULIAWAN, 1982; SLATER, 1984; ESTERBAUER et al., 1984; LEMOYNE et al., 1987; PINCEMAIL et al., 1987)

Beim in vivo Verfahren, das zuerst von RIELY et al. (1974) beschrieben wurde, kann je nach Größe des zu vermessenden Individuums ein geschlossenes System zur Anwendung kommen, aus dem entsprechende Gasproben über geeignete Septen und Spritzen entnommen und anschließend der gaschromatographischen Analyse zugeführt werden (LAWRENCE u. COHEN, 1982; FILSER et al. 1983).

Die in vitro-Bestimmung kann in isolierten Organen, intakten Zellen und Zellpartikeln vorgenommen werden. Dabei lassen sich aus dem Headspace von Reaktionsgefäßen ebenfalls Gasproben ziehen, die anschließend der gaschromatographischen Analyse unterzogen werden (MÖLLER u. SIES, 1984).

Da die Alkane unter physiologischen Bedingungen häufig in nur sehr geringen Mengen meßbar sind, erscheint deren Erfassung im in vitro Test nach Provokation häufig als das validere Verfahren. Man verwendet dabei als Elektronendonatoren meist NADPH und/oder Fe^{2+} bzw. Cystein. Zur Steigerung der Peroxidationsraten in vivo und in vitro führen insbesondere Xenobiotika wie CCl_3Br , CCl_4 , $CHCl_3$ etc. (RIELY et al. 1974; GEE u. TAPPEL, 1981; RUITER et al., 1982; MÖLLER u. SIES, 1984; KAPPUS u. MULIAWAN, 1982; STACEY et al. 1982; GAVINO et al., 1984; MINOTTI u. AUST, 1987; ARUOMA et al. 1989).

2.2 Antioxidantien

Es ist seit langem bekannt, daß einige natürliche und synthetische Substanzen (Organika und Anorganika) sehr verschiedenartiger Struktur die Fähigkeit haben, in kleiner Konzentration unerwünschte, durch Sauerstoffeinwirkung bedingte Veränderungen an leicht oxidierbaren Stoffen zu hemmen oder zu verhindern. Sie wirken der Oxidation bzw. Autoxidation entgegen und werden deshalb als Antioxidantien bezeichnet (TÄUFEL, 1958; SALLMANN, 1965; TIEWS u. ZUCKER, 1969; ZUCKER, 1969; BALTES, 1983).

Dies ist sowohl im Hinblick auf Gesundheit, Ernährung und Haltung der Haustiere (endogene Stoffwechselfunktion), als auch bezüglich der Produktion und Lagerung der von diesen Tieren stammenden Lebensmittel außerordentlich bedeutsam. Neben der reinen Stabilisierung tierischer Produkte nach deren Gewinnung,

insbesondere durch die Notwendigkeit, auch das Futterfett gegen Ranzigkeit zu schützen, hat (HARTFIEL, 1981; 1982; LÖBBE, 1982) vor allem die Frage der intermediären Wirkung und Verträglichkeit zusätzlich aufgenommenen natürlicher und synthetischer Antioxidantien erheblichen Stellenwert gewonnen. Die in der eigenen Arbeit mitgeteilten Experimente sind dieser Fragestellung gewidmet.

Als Antioxidantien wirksam sind u.a. verschiedene substituierte Phenole, Hydrochinone, Benzcathechine und aromatische Amine sowie deren Komplexe mit Metallen. Für Fette u.a. Lebensmittel eignen sich Tocopherole, BHA, BHT, Octyl-, Dodecyl- und Propylgallat sowie Ascorbin-, Milch-, Citronen- und Weinsäure sowie deren Salze (SALLMANN, 1965; TIEWS u. ZUCKER, 1969; ROSS, 1974; DEWDNEY u. MEARA, 1977; RANNEY, 1979; DUGAN, 1980; LÖBBE, 1982; BALTES, 1983; DANIEL, 1986; BELITZ u. GROSCH, 1987; SÜLFLOHN, 1988).

Antioxydants	BHT 2,6-Di-tert. Butyl- 4-Methylphenol	BHA 3-tert. Butyl- 4-Hydroxy-Anisol	PROPYLGALLAT	OCTYLGALLAT
Formel				
Molekular-Gew.	220	180	212	282
Schmelzpunkt °C.	69-70	65-66	146-148	94-95 und 100-102 2 Kristall-Modifikationen
Beschreibung	weißes kristallines Pulver	weißes kristallines Pulver	weißes kristallines Pulver	grau-weißes Pulver
Antioxydants	DODECYLGALLAT	α-TOCOPHEROL	ATHOXYQUIN 6-Alkoxy-2,2,4-Trimethyl- 1,2-Dihydrochinolin	
Formel				
Molekular-Gew.	338	431	217	
Schmelzpunkt °C.	95-98			
Beschreibung	grau-weißes Pulver	braune viskose Flüssigkeit	braune viskose Flüssigkeit	

Abb. 3: Die am häufigsten eingesetzten Antioxidantien für Nahrungsmittel (nach ROSS, 1974)

Abb. 3 zeigt einige der am meisten zur Stabilisierung von Nahrungs- und Futtermitteln eingesetzten Antioxidantien. Unter den Faktoren, welche die Auswahl bestimmen, spielen die lebensmittelrechtlichen Regelungen und die erlaubte Dosierung im jeweiligen Land eine besondere Rolle.

Die Zusammenstellung in Abb. 3 zeigt neben dem wichtigsten natürlichen Wirkstoff Tocopherol ausschließlich synthetische Substanzen. Dabei ist von großem Interesse, daß die in vitro Wirksamkeit der letzteren häufig wesentlich besser ist als die des Vitamin E (MOLNAR, 1976; ASTRUP, 1983) und in vivo - soweit überhaupt Erkenntnisse vorliegen, die Situation eher umgekehrt zu bewerten ist (MACHLIN et al., 1959; DE MILLE et al., 1972; SCOTT, 1980).

In der BRD muß bei der Anwendung der Antioxidantien als Zusatzstoffe die Antioxidantien-VO (Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln) vom 20.12.1977 (BGBl. I S. 2711) beachtet werden (KUHNERT et al., 1983).

Für den praktischen Gebrauch natürlicher und künstlicher Antioxidantien gelten zumindest für den Lebensmittelbereich auch im Lichte der gegenwärtigen Erkenntnisse die schon vor 30 Jahren festgelegten Bedingungen:

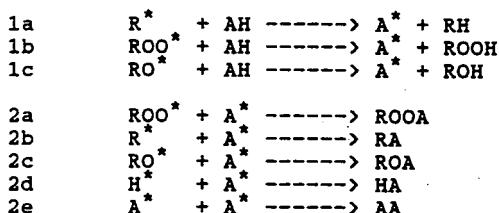
- 1- Sie dürfen keinesfalls toxisch für die physiologischen Stoffwechselfvorgänge des menschlichen Organismus sein;
- 2- sie sollen schon in ganz geringen Mengen (0,01 bis 0,05% der Trockensubstanz) hochwirksam sein und das betreffende Nahrungsmittel nicht wesentlich verteuern;
- 3- sie müssen einen neutralen Geschmack und Geruch haben und dürfen die Farbe des Lebensmittels nicht beeinflussen;
- 4- sie sollen zumindest so weit fettlöslich sein, daß ihre homogene Verteilung im Fett gewährleistet ist;
- 5- sie sollen sich gegenüber verschiedenen Prozessen bei der Lebensmittelherstellung beständig zeigen, wie z.B. Erhitzung überdauern;
- 6- sie müssen in garantierter Reinheit und zu tragbarem Preis verfügbar sein (RAEITHEL, 1955; TÄUFEL, 1958).

2.2.1 Molekulare Wirkung der Antioxidantien

Hinsichtlich des Wirkungsmechanismus können Antioxidantien in zwei Gruppen eingeteilt werden. Sogenannte präventive Antioxidantien inaktivieren aktive Formen und mögliche Vorläufer freier Radikale und unterdrücken dadurch die Entstehung neuer freier Radikale und reduzieren die Initiationsrate der Kettenreaktionen. Beispielsweise können durch Ionen der Übergangsmetalle Ca und Fe (s.o.) Hydroperoxide radikalisieren, dies wird wirksam durch entsprechende Enzyme wie Glutathionperoxidase und Katalase unterbunden. Auch die antioxidativen Kapazitäten des Albumins, des Transferrins und des Coeruloplasmins zählen hierzu (NIKI, 1987).

Die zweite Gruppe der antioxidativ wirksamen Substanzen greift direkt so in den Vorgang der Autoxidation zahlreicher Verbindungen ein, daß die Radikalkettenreaktion unterbrochen wird. Diese Substanzen werden im Englischen als "chain-breaking" Antioxidantien bezeichnet (NIKI 1987). Im Laufe der Reaktion dieser Stoffe entstehen aus Oxi-, Peroxi- und Alkylradikalen inaktive Reaktionsprodukte (LÖBBE, 1982; BELITZ u. GROSCH, 1987).

Im nachfolgenden Schema sind mögliche Reaktionen der kettenbrechenden Antioxidantien dargestellt. AH bedeutet aktives Antioxidans.



Dabei zeigen die Reaktionen unter 1 (a,b und c) Möglichkeiten des Abfangens sauerstoffzentrierter bzw. kettenzentrierter Radikale. Die Umsetzungen unter 2 erklären Variationen zur Stabilisierung von Radikalen bzw. Radikalketten durch Inanspruchnahme des Antioxidansradikals. In diesem Zusammenhang ist der Befund von außerordentlich großer Bedeutung, daß Antioxidansradikale selbst nicht in der Lage sind, neue Radikalkettenreaktionen auszulösen (BELITZ u. GROSCH, 1987).

Charakteristischer Baustein der meisten hochwirksamen natürlichen und synthetischen Antioxidantien ist der Phenolring, bzw. der Chromanring beim Vitamin E (s.u.). Phenolische Verbindungen besitzen eine autoxidative Kapazität. Ihre Intensität hängt dabei weitgehend von der Anzahl und der Anordnung der Substituenten am Ringsystem ab. In Abb. 4 ist dieser Zusammenhang in Bezug auf das bekannte Antioxidans 2,6-Di-tert-butyl-p-kresol (BHT) dargestellt.

Bei Antioxidantien, die Kettenreaktionen unterbrechen, liegt es auf der Hand, daß im Falle der Stabilisierung von Nahrungs- bzw. Futtermitteln mit sehr wenig Substanz eine hohe Effektivität erzielt wird. Optimale Wirksamkeiten sind deshalb schon mit einem Stoffeinsatz von 150-250 ppm erzielbar. Darüber hinaus können Synergisten den Antioxidanseffekt verstärken. Verbindungen wie Phosphor-, Citronen- und Fumarsäure vermögen Übergangsmetalle komplex zu binden, so daß diese nicht weiter für die Katalyse der Lipidantioxidation zur Verfügung stehen (BELITZ u. GROSCH, 1987). Außerdem können genannte Synergisten

als Wasserstofflieferanten für die Rekonstruktion des radikalisierten Antioxidansmoleküles dienen. Für den Fall der Ascorbinsäure ist diese Funktion auch im in vivo-Modell sehr wahrscheinlich (NIKI, 1987).

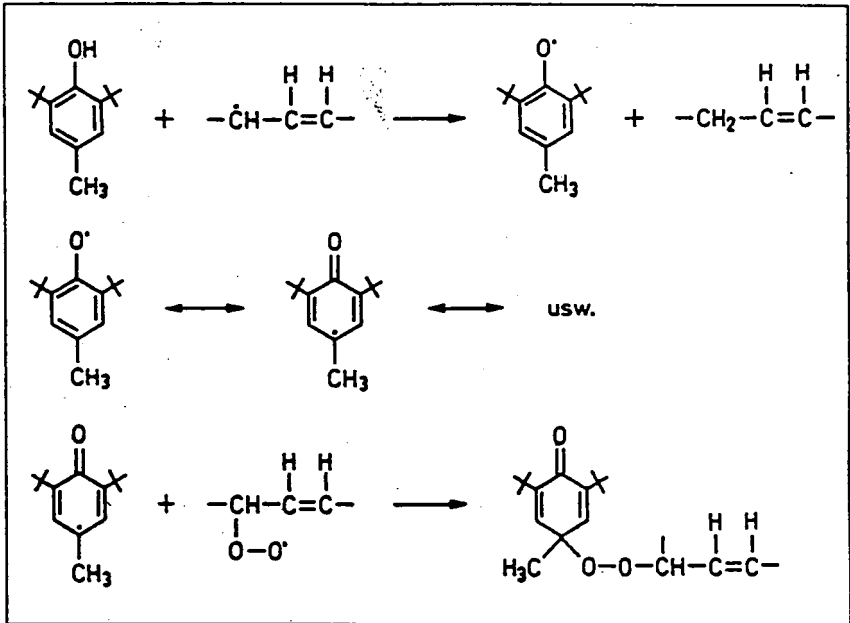


Abb. 4: Wirkungsmechanismus von BHT (BALTES, 1983)

2.2.2 Vitamin E (Tocopherole)

1922 entdeckten EVANS und BISHOP an trächtigen Ratten, daß das Fehlen einer zunächst als Faktor X bezeichneten fettlöslichen Substanz im Futter zum Absterben und zur Resorption der Fetten führte. SURE (1924) und EVANS (1925) vermuteten, daß dieser mit den bis dahin bekannten fettlöslichen Vitaminen nicht identische fettlösliche Fortpflanzungsfaktor ein neu entdecktes Vitamin sei, das sie als Vitamin E bezeichneten. EVANS et al. gelangten dann 1927 zu der Überzeugung, daß diese fettlösliche Substanz aus dem Pflanzenreich für die Aufrechterhaltung der normalen Fortpflanzung bei männlichen und weiblichen Ratten notwendig sei. Lange Zeit wurde das Vitamin E deshalb auch als Fortpflanzungs-Vitamin oder als Antisterilitäts-Vitamin bezeichnet.

Nach diesen Störungen bei Ratten wurden die anderen Vitamin E-Mangelsymptome, z.B. beim Huhn Exudative Diathese und

Enzephalomalazie, beim Meerschweinchen und Kaninchen Muskeldystrophie, beim Affen Anemie usw., beobachtet, wenn diese Tiere mit einem Futter ernährt wurden, dessen Vitamin E mit FeCl_3 oxidativ zerstört worden war. Die Isolierung zweier sehr ähnlicher dem Vitamin E zugeordneter Alkoholstrukturen (α - bzw. β -Tocopherol) aus dem Weizenkeimöl (EVANS et al., 1936), wies zum ersten Mal auf die molekulare Vielfalt des fettlöslichen Wirkstoffes hin. 1937 wurde dann γ -Tocopherol isoliert (EMERSON et al., 1937). 1938 erfolgte die Aufklärung der chemischen Struktur von α -Tocopherol (FERNHOLZ, 1938) und so konnte diese Substanz danach erstmals synthetisiert werden (KARRER et al., 1938). In den folgenden Jahren wurde die Struktur weiterer Substanzen, die ähnlich aufgebaut sind wie die Tocopherole, aufgeklärt.

2.2.2.1 Struktur des Vitamin E (Tocopherole)

Die in der Natur vorkommenden Vitamin E-Verbindungen umfassen 8 nahe verwandte Tocopherole, die jeweils aus einem Chromangrundgerüst und einer gesättigten isoprenoiden C-16 Seitenkette aufgebaut sind (ISLER u. BRUBACHER, 1982). Je nachdem ob die Seitenkette drei Doppelbindungen besitzt oder vollständig gesättigt ist, spricht man von Tocotrienolen bzw. Tocolen. Der Chromanring ist an einer, zwei oder drei Stellen methyliert, sodaß insgesamt jeweils sieben verschiedene Formen der Tocol- bzw. Tocotrienole existieren. Nur vier Formen der beiden Verbindungsklassen werden in der Natur angetroffen. Sie werden als α -, β -, γ - und δ -Tocopherole bzw. Tocotrienole bezeichnet. Wegen der drei asymmetrischen Kohlenstoffatome in der Seitenkette können bei den Tocopherolen mehrere Stereoisomere unterschieden werden (KASPAREK, 1980; PUTNAM u. COMBEN, 1987). Die Verbindungen der zweiten Gruppe, der Tocotrienole, besitzen eine dreifach ungesättigte (an den Positionen 3'-, 7'-11'-) C-16 Seitenkette. Sie haben hinsichtlich der Position ihrer Methylgruppen am Chromanring die gleiche Struktur wie die Tocopherole (s. Abb. 5).

Die Tocopherole und Tocotrienole sind bei Zimmertemperatur fast farblose viskose Öle, leicht löslich in Fettlösungsmitteln und praktisch unlöslich in Wasser, sie sind hitzestabil bis 180 °C (PONGRACZ, 1988).

Der Begriff "Vitamin E" gilt für alle Derivate des Tocol- und Tocotrienols. Sie zeigen qualitativ die gleichen, quantitativ aber differente biologische Aktivitäten gegenüber dem α -Tocopherol. Dieser Begriff wird auch bei Bezeichnungen wie Vitamin E-Mangel, Vitamin E-Aktivität, Vitamin E-Antagonist usw. benutzt (IUPAC-IUB, 1974; 1975; 1982).

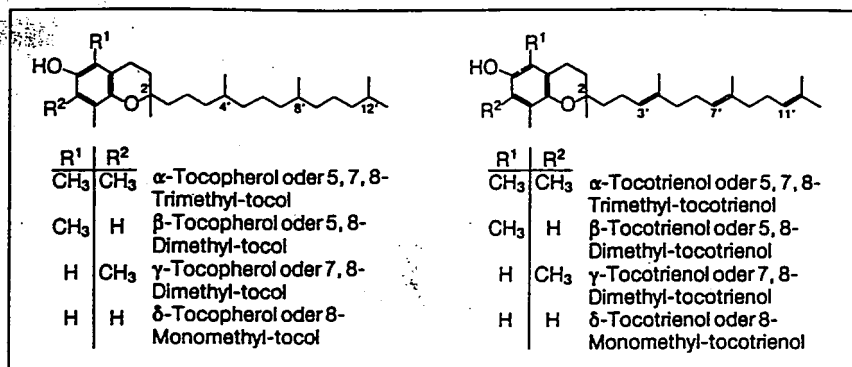


Abb. 5

Natürliches α-Tocopherol wurde aus stereochemischen Gründen zunächst als d-α-Tocopherol bezeichnet. Die Verbindung besitzt drei Asymmetriezentren in den Positionen 2', 4' und 8', die immer in der R-Konfiguration auftreten, sodaß die IUPAC-IUB-Kommission (1982) für die Nomenklatur die Bezeichnung RRR-α-Tocopherol anstatt d-α-Tocopherol empfiehlt. Bei der vollständigen chemischen Synthese des Vitamin E entsteht eine Mischung aus vier Racematen (R und S-Konfigurationen), die die Bezeichnung all-rac-α-Tocopherol erhält (KASPAREK, 1980). Die acht in der Natur vorkommenden Tocopherole und Tocotrienole besitzen unterschiedliche biologische Wertigkeit (s.o.). Die stärkste biologische Vitamin E-Wirkung entfaltet das RRR-α-Tocopherol.

Die Daten der Tab. 1 zeigen diesen Zusammenhang sehr deutlich für die antioxidative Funktion der Tocopherole. Die größte wirtschaftliche und technische Bedeutung hat seine veresterte Form, dl-α-Tocopherylacetat (Veresterung in Position 6 des Chromanringes), das im menschlichen und tierischen Organismus in freies α-Tocopherol und Acetat gespalten wird.

Tab. 1 : Biologische Aktivitäten der Tocopherole und Tocotrienole

Vitamin E Form	Biologische Aktivität in %	
	Fetus Resorption	Hämolyse
α-Tocopherol	100	100
β-Tocopherol	25-40	15-27
γ-Tocopherol	8-19	3-20
δ-Tocopherol	0.1-1	0.3-2
α-Tocotrienol	21	17-25
β-Tocotrienol	4	1-5
γ-Tocotrienol	-	-
δ-Tocotrienol	-	-

(nach CHOW, 1985)

2.2.2.2 Physiologie des Vitamin E

Die Literaturangaben hinsichtlich der Sicherheit der oralen Aufnahme von Vitamin E zeigen, daß die Toxizität von Vitamin E sehr gering ist. Tierstudien zeigten, daß Vitamin E nicht mutagen, karzinogen oder teratogen ist. Beim Menschen resultierten nach oraler Vitamin E-Supplementierung nur wenige Nebenwirkungen, sogar bei Dosen größer als 3200 mg/Tag (BENDICH u. MACHLIN, 1988). In einer aktuellen Arbeit wird der sicher nebenwirkungsfreie Bereich der täglichen oralen Aufnahme von Vitamin E für den Menschen bis 720 mg α -Tocopherol/Tag angegeben (KÄSTNER u. KAPPUS 1990). Aus dem von FAO/WHO-Experten 1986 festgelegten ADI-Wert für α -Tocopherol läßt sich für eine erwachsene Person eine maximale Aufnahme von 150 mg/Tag errechnen.

MC CUAIG u. MOTZOK (1970) fanden bei einer Dosis von 10 000 IE Vitamin E/kg Futter an Rükken keine negativen Effekte. FRANCHINI et al. (1988) berichteten über einen Einfluß hoher Vitamin E-Mengen (325 ppm im Futter) auf einige Blutparameter an Broilern. Es fand sich eine Verringerung der Werte des Hämoglobins, des Hämatokrits, des Cholesterins und des Triglycerids und eine Erhöhung des Kalziums, Phosphors und der alkalischen Phosphatase.

Mit der Nahrung wird α -Tocopherol in freier Form oder auch verestert, überwiegend als α -Tocopherolacetat aufgenommen. Das α -Tocopherolacetat wird im Darm mittels der Pankreasesterasen hydrolytisch gespalten. Zu einem kleinen Teil erfolgt die intraluminale Hydrolyse auch durch die mucosale Esterase. Die Resorption erfolgt hauptsächlich in den oberen Dünndarmabschnitten, in gewissem Umfang auch im Magen (ELMADFA, 1989).

Für die Tocopherolabsorption scheinen mehrere physiko-chemische und physiologische Faktoren, wie pH-Wert im Darmlumen, Sekretion der Gallenflüssigkeit sowie Pankreassekret und andere Nahrungskomponenten von Bedeutung zu sein (GALLO-TORRES, 1970; 1973; 1980a; 1980b).

Die Absorption der Tocopherole hängt zweifellos mit der Fettverdauung zusammen, wobei sowohl Gallensäuren als auch Pankreassaft im Dünndarm unentbehrlich sind (GALLO-TORRES, 1973; 1980a).

In einem in vitro-Versuch zeigten AKERIB u. STERNER (1971), daß die Vitamin E-Absorption von der Gegenwart von Gallensalzen abhängt. Fettlösliche Nahrungsbestandteile, wie die Vitamine A, D, E, K sowie Cholesterin und andere werden aus micellärer Lösung mit Hilfe eines aktiven ATP beanspruchenden Transportsystems vom Darmepithel aufgenommen. Folglich führt ein Mangel an Galle oder Nahrungsfetten, deren enzymatische Spaltung im Darmlumen Monoglyceride und freie Fettsäuren liefert, zwangsläufig zu einer schlechten Absorption des Vitamin

E. In dieser Hinsicht bewirken auch Störungen der Pankreasfunktion eine schlechte Aufnahmerate von Vitamin E und anderen fettlöslichen Substanzen, da weniger Fettspaltprodukte für die Micellenbildung zur Verfügung stehen (GALLO-TORRES, 1973; 1980a).

Demnach ist die Vitamin E-Absorption ganz wesentlich von der intakten Fettverdauung abhängig. Sie wird (s.o.) durch die Fettsäurezusammensetzung stark beeinflusst. So begünstigen mittelkettige Fettsäuren die Absorption, die mehrfach ungesättigten Fettsäuren dagegen hemmen sie. Je höher der Gehalt an Polyenfettsäuren (PUFA) in der Diät ist, um so geringer ist die Vitamin E Aufnahme (BOHLES, 1985). HOLLANDER's (1981) Untersuchungen ergaben, daß die Absorptionsrate fettlöslicher Vitamine grundsätzlich durch Linolensäure und Linolsäure herabgesetzt wird.

Nach Verabreichung markierten Tocopherols fand sich der größte Teil unverändert, aber auch als Metaboliten, in den Geweben wieder (GALLO-TORRES, 1980b). Der größte Teil der Elimination findet über faecale Exkretion statt, diese schwankt in Abhängigkeit von der verabreichten Dosis zwischen 10 und 75%. DJU et al. (1950) fanden an Mühnern nach Applikation von bis zu 4 g α -Tocopherol pro Woche eine Wiederfindungsrate von 75 % im Kot. Häufig wird weniger als 1 % über den Urin ausgeschieden, meist als Tocopheronsäure oder Tocopheronolacton (Simon's Metaboliten). Gewisse Mengen von Tocopherol werden über die Galle als ein unbekannter Metabolit sezerniert. Es ist noch nicht bekannt, ob das Vitamin E oder seine Metaboliten einen enterohepatischen Kreislauf durchlaufen (GALLO-TORRES, 1980b).

Die Resorption von α -, β -, γ - und δ -Tocopherol wurde von PEARSON und BARNES (1970) durch Injektion von 0,5-0,8 mg eines jeden Tocopherols in Dünndarmschlingen von Ratten untersucht. Sie fanden, daß 32 % des α -Tocopherols, 18 % des β -Tocopherols, 30 % des γ -Tocopherols und 1.8 % des δ -Tocopherols innerhalb der sechsstündigen Versuchsperiode absorbiert waren.

α -Tocopherol wird ohne Reveresterung in den Lipoproteinen (LDL- und VLDL-Fraktionen zu 64% und 8% bzw. HDL-Fraktion zu 24%) transportiert. Etwa 90% des absorbierten α -Tocopherols gelangt über die Lymphbahnen, der Rest über die Pfortader in den Kreislauf (GALLO-TORRES, 1980b). BJØRNSSEN u. GALLO-TORES (1975) untersuchten die Verteilung von Tocopherol innerhalb der VLDL-Partikel und kamen aufgrund ihrer Untersuchungsergebnisse zu dem Schluß, daß die Tocopherole im gesamten VLDL-Partikel verteilt vorkommen, der Hauptteil sich jedoch im Cor befindet. Diese Verteilung der Tocopherole läßt vermuten, daß sie als Antioxidantien zum Schutz der Lipide der VLDL während ihres lymphatischen Transportes wirken.

Die Speicherung des Vitamin E erfolgt hauptsächlich in Nebennieren, Ovarien, Milz, Herz, Leber, Lunge, Depotfett und zu sehr geringen Teilen im Skelettmuskel (GALLO-TORRES, 1973;

1980b). Die Aufnahme in die Zellen erfolgt unter anderem über die LDL-Rezeptoren der Zelloberfläche. Ein zytoplasmatisches α -Tocopherol-Bindungsprotein der Rattenleber bindet das α -Tocopherol mit hoher Affinität und Spezifität und übt auf diese Weise eine Transportfunktion für das Vitamin E zwischen den Membranen innerhalb der Zelle aus. Dieses Protein ist sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Ratten in der Leber nachweisbar, konnte jedoch in zahlreichen anderen getesteten Organen sowie in Serum und Erythrozyten nicht nachgewiesen werden (CATIGNANI, 1980a; MURPHY u. MAVIS, 1981). In der Zelle wird α -Tocopherol vor allem in den Membranen der Mitochondrien und Mikrosomen gespeichert. Die übrigen Tocopherole und Tocotrienole sind nur in sehr geringer Konzentration ($< 0.3 \mu\text{g/ml}$) im Blut enthalten (CHOW, 1985).

Die Gewebskonzentration an α -Tocopherol stellt sich proportional zum Logarithmus der Plasmatocopherolkonzentration ein, mit Ausnahme des Fettgewebes, welches kontinuierlich α -Tocopherol akkumuliert (BIERI, 1972; MARUSICH et al. 1975). Eine schnelle Entleerungsrate weisen Plasma und Leber auf, eine langsame hingegen Skelett- und Herzmuskel (DIPLOCK, 1985). Tocopherole im Fettgewebe sind kaum mobilisierbar und die Turnoverrate ist gering, da selbst bei extremen Mangelsituationen, die zu pathologischen Veränderungen wie Myopathien führen, keine entscheidende Entleerung stattfindet (MACHLIN et al. 1979).

2.2.2.3 Wirkung des Vitamin E als Antioxidans in vivo und in vitro

Die biologische Bedeutung des Vitamin E, insbesondere des α -Tocopherols, erklärt sich aus seiner Funktion als lipophiles Antioxidans im oxidativen Stoffwechsel und Teil des komplexen antioxidativen Abwehrsystems des Organismus (antioxidative defense systems) (CHOW, 1979). Seine Aufgabe besteht darin, ungesättigte Fettsäuren der Membransysteme gegen eine unkontrollierte, spontane Lipidperoxidation zu schützen (TAPPEL, 1962; ALFIN-SLATER u. MORRIS, 1963; MC CAY u. KING, 1980; SCHÄFER u. ELMADFA, 1984; MACHLIN, 1980; TAPPEL, 1980; DIPLOCK, 1985).

Die einschlägige Literatur läßt aber heute auch keinen Zweifel mehr darüber zu, daß Vitamin E als hervorragendes Antioxidans in vitro anzusehen ist (NIKI, 1987). Neben anderen in Fetten vorkommenden natürlichen Antioxidantien, wie z.B. Flavonoiden, Sesamöl, Gossypol, Guayak-Harz oder Nordihydroguajaretsäure wird dabei das Vitamin E als das wichtigste natürliche Antioxidans bewertet (SALLMANN, 1965).

Schutz vor den oxidativen Zellschäden sowie vor den erwähnten membranständigen Lipidperoxidationsreaktionen bieten in der Zelle existierende verschiedene enzymatische und molekulare

Mechanismen. Hierbei sind die Enzymssysteme Superoxiddismutase, Katalase, selenhaltige- und selenfreie Glutathionperoxidase und Phospholipase A₂ ebenso beteiligt, wie die Vitamine E, C und das β -Carotin (FRIDOVICH, 1975; WENDEL, 1980; BASCETTA et al., 1983; PERCY, 1984; SEVANIYAN u. KIM, 1985; KRINSKY, 1989).

Ein Vitamin E-Defizit hat Einfluß auf die Aktivität der SOD, der Katalase und der Glutathionperoxidase, diejenigen Enzyme also, die in den Detoxifikationsmechanismus der Produkte aus dem Metabolismus der freien Radikale verwickelt sind (DE u. DARAD, 1988)

Eine Übersicht über die gemeinsame Funktion von Vitamin E und den antioxidativ arbeitenden Enzymen ist der Darstellung nach FORMAN u. BOVERIS (1982), modifiziert von HEGGEMANN (1985), zu entnehmen (siehe Abb. 6).

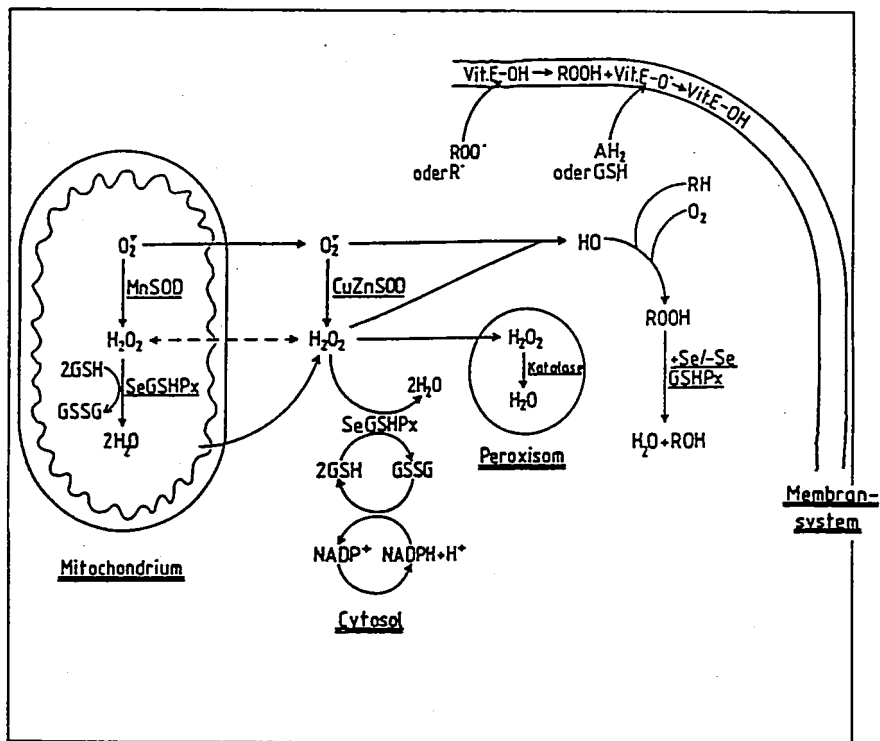
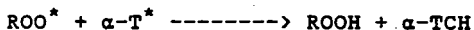
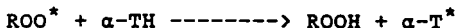


Abb. 6 : Schematische Darstellung antioxidativer Stoffwechselmechanismen

Im Hinblick auf die Effektivität der einzelnen Tocopherole ergaben einige Untersuchungen für das d- γ -Tocopherol eine stärkere Kompetenz gegenüber der Lipidperoxidation *in vitro* als für das δ - α -Tocopherol (KANNO et al. 1970; MEAD, 1980), während jüngste Studien die Wirksamkeit in der Reihenfolge $\alpha > \beta \geq \gamma > \delta$ bestimmten, sowohl *in vivo* als auch *in vitro* (BURTON et al., 1983; NIKI et al., 1986). α -Tocopherol reagiert schnell mit β -, γ - und δ -Chromanyloxy-Radikalen und daraus ergibt sich ein α -Chromanoxylradikal und β -, γ - und δ -Tocopherole. Demgemäß erfolgt bei gleichem Gebrauch aller vier Tocopherole als erstes eine Abnahme von α -Tocopherol, dann β - und γ -Tocopherol und zum Schluß eine Verminderung von δ -Tocopherol (NIKI et al. 1986).

Hinsichtlich der molekularen Reaktionen im Rahmen der Vitamin E-Wirkung kann folgende, nicht wesentlich von den generellen antioxidativen Wirkungsmechanismen abweichende Feststellung getroffen werden. Der Chromanring des Vitamin E bedingt eine hohe Mesomeriebereitschaft und die antioxidative Wirkung der Tocopherole leitet sich aus dem OH-Gruppen tragenden aromatischen Ring des Chromansystems her. Deswegen erfordert die Abspaltung des H-Atoms aus der phenolischen OH-Gruppe wenig Energie. Das heißt, daß α -Tocopherol relativ leicht zu radikalisieren ist und direkt, sowohl mit verschiedenen Oxyradikalen wie dem Alkoxy-, Peroxy- und Hydroxyradikalen, als auch mit Superoxid und Singulett-sauerstoff reagieren kann und als α -T^{*} in der Lage ist, Kettenreaktionen zu unterbrechen (FAHRENHOLTZ et al. 1974; FUKUZAWA u. GEBICKI 1983; BURTON et al. 1985; MC CAY 1985). TAPPEL (1972; 1980) faßt diese Reaktionsschritte folgendermaßen zusammen:



Das entstandene α -Tocopherolradikal (α -T^{*}) ist in der Lage, mit einem weiteren Fettsäureradikal unter Bildung eines stabilen α -Tocopherolchinons (α -TCH) zu reagieren. Dieses soll das überwiegende Oxidationsprodukt von α -Tocopherol darstellen und besitzt ebenfalls, wenn auch in etwas geringerem Ausmaß, antioxidative Wirkung (BINDOLI et al., 1985).

In der Folgezeit haben CADENAS et al. (1983) und BASCETTA et al. (1983) die oben beschriebene direkte Regeneration des Tocopherols auf Grund ihrer Studien abgelehnt und die Entstehung eines Chinons für unwahrscheinlich gehalten. NIKI (1987) geht in seiner Übersicht davon aus, daß das α -T^{*} mit einem zweiten Peroxyradikal reagiert und zunächst ein Fettsäure-Tocopheroladdukt entsteht. Dieses wird dann entweder durch Reaktion mit einem weiteren Peroxyradikal in eine Epoxidstruktur überführt oder reduktiv in ein Produkt mit geöffnetem Chromanring umgesetzt. Entscheidend dabei ist, daß

allen Vorstellungen die hohe Effektivität (s. Schema oben) der Vitamin E- Wirkung gemein ist.

Neben der direkten Regeneration des Vitamin E-Moleküls wird auch die Möglichkeit gesehen, daß das $\alpha\text{-T}^{\bullet}$ durch die Übernahme eines Wasserstoffatoms von der Ascorbinsäure (Vitamin C) oder von Glutathion (GSH) vollständig regeneriert wird. Das entstandene Vitamin C-Radikal wird seinerseits wieder über NADPH- (bzw. NADH-) Systeme reduziert (NIKI et al., 1982; NIKI, 1987).

In einem Modell-Versuch zu dieser Thematik wurden Lipidradikale in der flüssigen Fraktion des subkutanen Fettgewebes von Hühnern provoziert. In der ESR-Spektroskopie zeigt sich bei Zusatz von Vitamin E und C ein Hydrogenatomaustausch. Im Rahmen des antioxidativen Prozesses wird folglich zuerst Vitamin C und dann Vitamin E verbraucht. Die beiden Vitamine zeigen synergistische Wirkung (LAMBELET et al. 1985).

Viele andere Studien, die auf eine durch Vitamin C gesteigerte Vitamin E-Wirkung hinweisen, unterstreichen diese Vorstellung (NATHANS u. KITABCHI, 1975; CHEN et al., 1980; LEUNG et al 1981; NIKI et al., 1984; MC CAY, 1985; TSUCHIDA et al., 1985). Die genaue Beschaffenheit dieser gegenseitigen Beeinflussung in vivo ist allerdings noch unklar (MIYAZAWA et al., 1986). Eine sehr einprägsame Vorstellung über das Zusammenwirken des wasserlöslichen und des fettlöslichen Wirkstoffes an der Membran gibt die aus der Arbeit von NIKI 1987 stammende Abb. 7.

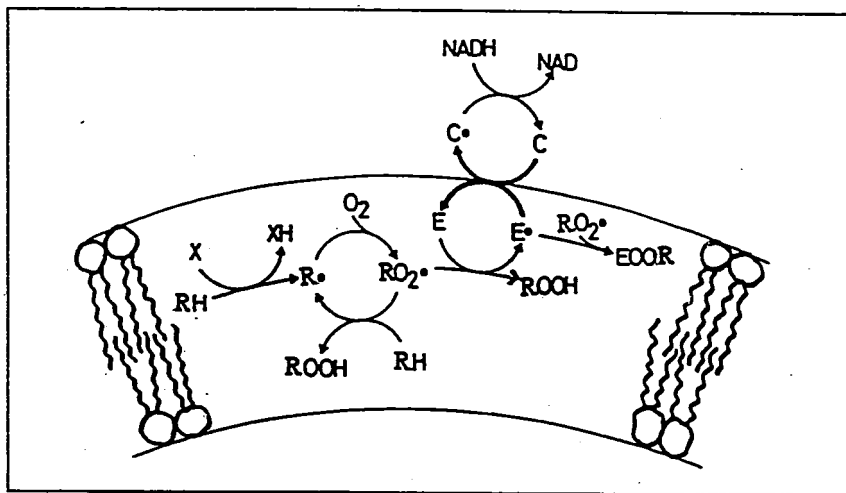


Abb. 7 : Die Regeneration von Vitamin E durch Vitamin C in Liposomenmembranen (nach NIKI, 1987)

HOEKSTRA (1975) teilte mit, daß die antioxidative Wirkung des Vitamin E in Verbindung mit Selen als Bestandteil der selenabhängigen Glutathionperoxidase (Se-GSH-Px) zu sehen ist. Demnach besitzt die GSH-Px die Funktion, schon vorhandene Peroxide und Hydroperoxide zu reduzieren. Das Vitamin E hingegen soll die Entstehung von Peroxidradikalen verhindern, indem es die Lipidperoxidation z.B. in den Phospholipiden der Mitochondrien, des endoplasmatischen Retikulums und der Plasmamembranen unterbindet oder unterbricht. Diese Lipide haben nach SCOTT (1980) eine besondere Affinität zu α -Tocopherol.

In einer anderen Studie wurde die antioxidative Wirksamkeit von α -Tocopherol, BHA, BHT und Natriumselenit über die durch Ascorbinsäure stimulierte Lipidperoxidation in Hepatocyten von Ratten verglichen. Die relative protektive Wirksamkeit wurde in der angegebenen Reihenfolge gefunden : BHT > BHA > α -Tocopherol > Natriumselenit (CHEN, 1988).

2.2.2.4 Weitere eventuelle biologische Wirkungsmechanismen des Vitamin E

Neben der Wirkung als zelluläres Antioxidans werden dem α -Tocopherol verschiedene andere Funktionen zugesprochen. Hier sind die Membranschutz-Hypothese, die Atmungsketten-Hypothese und die "Genetic Regulation"-Hypothese zu erwähnen.

Schon TAPPEL (1972) und LUCY (1972) vermuteten, daß dem Vitamin E neben seiner antioxidativen Aufgabe zusätzlich eine strukturelle Funktion zukommt, welche zu einer Erhöhung der Membranstabilität führt. Diese Stabilisierung von Membranen durch Vitamin E schließt die Mikrosomen sowie die Mitochondrien ein (OSKI, 1980; ERIN et. al., 1984; ANDO u. TAPPEL, 1985; COSTAGLIOLA et al., 1985).

DIPLOCK und LUCY (1973) stellten eine Hypothese über die Anordnung des α -Tocopherols in den Membranen auf, wonach die Methylreste der Seitenkette des α -Tocopherols mit den cis-konfigurierten Doppelbindungen der Arachidonsäure in Wechselwirkung treten und so zu einer Stabilisierung der Struktur und Verminderung der Permeabilität führen.

Tocopherol soll in der Atmungskette eine spezifische Rolle spielen sowie beim Elektronentransport in den Mitochondrien und als Regulator spezifischer Enzyme und Coenzymkonzentrationen in den Mitochondrien (SCHWARZ u. BAUMGARTNER, 1970). Es fördert bei verschiedenen Tierarten die Ubichinon-Synthese in der Leber und in anderen Organen. Bei Vitamin E-Mangel entsteht in der Leber durch Einschränkung des Sauerstoffverbrauchs eine Störung wichtiger Biosynthesen, was zu degenerativen Veränderungen führt (CORWIN, 1980).

Nach der Genetic Regulation-Hypothese übt Tocopherol einen Einfluß auf die Synthese spezifischer Proteine und Enzymssysteme über die Regelung des genetischen Informationstransfers in der Zelle aus und ist dadurch auch an der Gewebedifferenzierung beteiligt (OLSON 1967; 1974). Diese Hypothese wurde von zahlreichen Autoren unterstützt (CARPENTER, 1972; SIMARD u. SRIVASTAVA, 1974; BONETTI et al., 1975; DIPLOCK, 1974).

Dem Vitamin E kommt auch Bedeutung für verschiedene Hormon-Biosynthesen zu, so im Hypophysenvorderlappen und in der Nebennierenrinde. Bei Vitamin E-Mangel ist durch Herabsetzung der Corticosteroidsynthese in der Nebennierenrinde die Anpassungsfähigkeit an gesteigerte Belastungen im Tierkörper vermindert. Die Herabsetzung der Synthese von Gonadotropinen im Hypophysenvorderlappen ist mit einer Verminderung der Fruchtbarkeit und des Geschlechtstriebes verbunden. Diese Vorgänge wurden vor allem bei Labornagern untersucht (KITABCHI, 1980).

Darüber hinaus scheint Vitamin E an folgenden Vorgängen beteiligt zu sein.

- Mikrosomale Hydroxylierung von Pharmaka (MENZEL, 1980),
- Phosphorylierungsreaktionen, insbesondere durch energiereiche Phosphatverbindungen, wie Creatinphosphat und Adenosintri-phosphat (ATP), (SCHWARZ u. BAUMGARTNER 1970; CORWIN, 1980),
- Stoffwechsel der Nucleinsäuren (DINNING, 1962; CATIGNANI, 1980b),
- Regulierung der Hämsynthese (MC CAY u. KING, 1980),
- Aufrechterhaltung der normalen Schilddrüsenfunktion (KITABCHI, 1980).

Bevor diesen Funktionen des Vitamin E sichere eigenständige Relevanz für das in vivo ablaufende Stoffwechselgeschehen zugeschrieben werden kann, muß für jeden einzelnen Fall ausgeschlossen sein, daß nicht antioxidative Effekte Grundlage der Wirkmechanismen sind.

2.2.2.5 Vitamin E und Immunität

Zahlreiche Autoren haben mitgeteilt, daß ein Vitamin E-Mangel zwar keine Beeinträchtigung der Immunabwehr bewirkt, aber Vitamin E-Gaben eine stimulierende Wirkung auf die Antikörperbildung haben. Dies fand SEGAGNI (1955), der nach Verabreichung einer Vaccine an normal gefütterte Kaninchen eine frühere Antikörperproduktion im Gegensatz zu Vitamin E-Mangel-Kaninchen nachwies. Auch spätere Arbeiten zeigten dies (SHEFFY u. SCHULTZ, 1979; NOCKELS, 1979; VLEET u. WATSON, 1984).

Übereinstimmend mit diesem Befund wurde von HEINZERLING et al. (1974) nach Vitamin E-Zufuhr eine Steigerung der Phagozytoseaktivität des retikuloendothelialen Systems (RES) beschrieben. Diäten mit hohem Vitamin E-Gehalt führen zu einer

deutlich erhöhten IgG-Produktion bei einer Zunahme der Milzgewichte sowie Vermehrung antikörperbildender Zellen (TENGERDY et al., 1973). Das Vitamin E scheint die Abwehrmechanismen über eine Steigerung der Ubichinon-Synthese zu stimulieren, da das Ubichinon die Phagozytoseaktivität des RES steigert (HEINZERLING et al., 1974). Vitamin E übt bei Küken einen Schutz gegen *E. coli* (TENGERDY u. NOCKELS, 1975) und Coccidiose (COLNAGO et al., 1984) aus, indem eine zunehmende Antikörperproduktion sowie ansteigende Phagozytose-rate induziert wurde (TENGERDY u. BROWN, 1977). JACKSON et al. (1978) beobachteten einen erhöhten plazentaren Transfer von Antikörpern bei Vitamin E-Substitution der Henne. AYRES und MIHAN (1978) wiesen weiterhin auf einen Zusammenhang zwischen Vitamin E und dem Entstehen einer Autoimmunerkrankung hin. Danach führt ein Vitamin E-Mangel zu einer Schädigung der Lysosomenmembranen. Die dabei austretenden lysosomalen Enzyme verändern körpereigene Proteine derart, daß sie vom Immunsystem als körperfremd identifiziert werden.

Der Prostaglandinspiegel (PGE_1 , PGE_2 , $PGF_2\alpha$) ist sowohl in der Bursa fabricii als auch in der Milz herabgesetzt (TENGERDY et al., 1981). Allgemein wird davon ausgegangen, daß der Vitamin E-Effekt auf das Immunsystem mit der Hemmung der Prostaglandin-synthese in Zusammenhang steht und so eine Stimulation auf die humorale und zelluläre Immunität, sowie auf die Phagozytose ausübt (FRANCHINI et al., 1986).

2.2.2.6 Auswirkungen des Vitamin E-Mangels

Ein Vitamin E-Mangel äußert sich in einer Vielzahl von Erscheinungsformen, die spezieabhängig sind. Ein Mangel läßt sich auch auslösen durch die Verfütterung von ungesättigten bzw. oxidierten Fetten, was zu einem höheren Bedarf an Vitamin E und folgenden Erkrankungsformen und Symptomen des Vitamin E-Mangels führen kann:

- Encephalomalazie des Geflügels,
- Exsudative Diathese bei Schwein und Geflügel,
- Muskeldystrophie bei Schwein und Geflügel,
- Maulbeerherzkrankheit (Mulberry-heart-disease) des Schweines,
- Gelbfettbildung beim Schwein,
- Fruchtbarkeitsrückgang bei Hähnen,
- Resorptionsterilität,
- Pankreasfibrose.

Beim Geflügel sprechen einige charakteristische Krankheitsbilder und Ausfallerscheinungen auf eine Vitamin - und Selen-Substitution an. Im Mangel treten diese typischen Krankheitsbilder reproduzierbar auf. Die wichtigsten Kriterien der Ausfallerscheinungen sind im folgenden zusammengefaßt.

- Nutritive Enzephalomalazie

Die nutritive Enzephalomalazie wurde bereits 1931 von PAPPENHEIMER und GOETTSCHE beschrieben. Diese akute Erkrankung des Zentralen Nervensystems tritt bei heranwachsenden Kühen auf, deren Futter hohe Gehalte an linolsäure- und arachidonsäurehaltigen (Ω -6-Säuren) Ölen enthält. Kaum eine progressive Kompetenz besitzen dagegen Fettsäuren aus der Familie der Linolensäure (DAM 1962; BARTOV u. BORNSTEIN, 1972b; BRUCKNER et al., 1983). Neurologische Symptome umfassen Störungen der Bewegungskoordination und der Haltung, Reflexveränderungen, Hals- und Körpertorsionen, schließlich Erschöpfung mit nachfolgendem Exitus (NELSON, 1980). Mikroskopisch lassen sich petechiale Blutungen, zelluläre Ödeme, Demyelinisierungen und kapillare Thrombosen im Kleinhirnbereich feststellen (DROR et al., 1976). α -Tocopherol und synthetische Antioxidantien sind in der Lage, die nutritive Enzephalomalazie zu verhindern (JORTNER et al., 1984). Zur Verminderung bzw. Verhinderung der peroxidativen Schäden gilt allgemein die sehr großzügige Regel: 5 mg Vitamin E auf 10 g Fett in der Diät (LINDNER, 1984).

- Exsudative Diathese

DAM und GLAVIND (1939) bezeichneten ein Ödem des subkutanen Gewebes, das mit abnormer Durchlässigkeit der Kapillarwände verbunden ist, als exsudative Diathese. Diese Erkrankung wurde als ein Vitamin E-Selen-Mangelzustand charakterisiert (COMBS, 1976; SCOTT, 1980). Das klinische Bild ist äußerlich gekennzeichnet durch ödematöse Schwellungen vor allem am Kopf. Infolge der stark erhöhten Kapillardurchlässigkeit kommt es im Verlauf der Krankheit zu starker Exsudatbildung in Unterhaut und Bindegewebe sowie Muskulatur (MACHLIN, 1984). Die grünliche Verfärbung ist eine Folge der beim Hämoglobinabbau entstehenden Produkte. Ein starker Blutverlust kann zum Tod der Tiere führen.

Während synthetische Antioxidantien oder ein höherer Cystingehalt in der Ration die Exsudative Diathese nicht beeinflussen, wiesen THOMPSON u. SCOTT (1970) nach, daß sowohl Vitamin E wie auch Selen einer Exsudativen Diathese von Kühen vorbeugen können. Man vermutet, daß Vitamin E die Peroxidbildung aus den PUFA innerhalb der Zellmembran unterbricht und Selen den katalytischen Abbau der Peroxide fördert (SCOTT et al., 1974; NELSON, 1980).

- Pankreasfibrose

Die Pankreasfibrose des wachsenden Kübens ist auf einen Selenmangel zurückzuführen und führt sekundär zu einer gestörten Lipidverdauung und Vitamin E-Absorption trotz adäquaten Angebotes über die Ration. In der Konsequenz entsteht während des Selenmangels durch die Pankreasveränderungen immer der kombinierte Vitamin E- und Selenmangel, was wiederum die

Bedingung für das Auftreten Exsudativer Diathesen ist (THOMPSON u. SCOTT 1970). Diäten mit einer Selenkonzentration unter 0.01 ppm haben bei Hühnern Atrophie und anschließende Fibrose des Pankreas zur Folge (COMBS et al. 1984). Bereits durch sehr geringe Selengaben (0.02-0,05 ppm) läßt sich der von BUNK u. COMBS (1981) als Nutritive Pankreasathrophie bezeichnete Zustand verhindern (CANTOR et al., 1975)

- Muskeldystrophie

Myopathien in der Skelettmuskulatur sind beim Geflügel als Weißmuskelkrankheit (White Muscle Disease) bekannt. Betroffen sind auch hier stets junge Tiere in den ersten Lebenswochen, insbesondere Entenküken (MC MURRAY, 1980). Die Myopathie erstreckt sich häufig auch auf das Herz. Wegen der pathologisch-anatomischen Schäden in der Skelettmuskulatur treten Geh- und Stehstörungen auf.

Zur Auslösung des Krankheitsbildes ist eine niedrige Konzentration an Linolsäure (0,5 % der Diät) im Futter erforderlich. Höhere Zufütterungen der essentiellen Fettsäuren steigern dagegen nicht den Vitamin E-Bedarf zur Verhütung des Krankheitsbildes (SCOTT, 1980; FREUDENFELD, 1985). Verhindert werden kann die Erkrankung auch durch einen optimalen antioxidativen Schutz, wie er nach SCOTT (1980) durch 30 mg/kg Vitamin E und 0,1 mg/kg Selen im Futtermittel erreicht werden kann. SCHÄFER et al. (1984) hingegen setzen den Selenbedarf wesentlich höher an (0,19 bis 0,20 mg/kg im Futter).

- Fertilitätsstörungen

Bei Legehennen nehmen im Vitamin E-Mangel der Vitamin E-Gehalt der Eier und die Schlupffähigkeit ab. Gestörte Reproduktionsfähigkeit der Zuchthähne als Folge von Hodendegeneration wurde insbesondere bei Rationen festgestellt, die Vitamin E-arm und reich an Linolsäure waren. Legetätigkeit, Fruchtbarkeit und Brutfähigkeit der Eier von Legehennen wurden wesentlich vermindert, wenn die Tiere ein Futter mit 7 % Linolsäure aus Sonnenblumenöl erhielten. Diese nachteilige Wirkung wird durch Tocopherol-Zulagen vollständig, durch Einmischen von synthetischen Antioxidantien im Futter jedoch nur begrenzt verhindert (MACHLIN u. GORDON, 1962). Bei den meisten anderen Tierarten wirkt sich ein Vitamin E-Mangel weniger auf die Fortpflanzungsvorgänge aus.

Die Embryonen sterben beim Huhn bereits in der ersten Brutwoche, bei der Pute kurz vor dem Schlupf durch Schädigungen von Gefäßsystem, Gehirn und Leber ab. Ausschlüpfende Küken sind lebensschwach (ZINTZEN, 1976).

2.2.3 Synthetische Antioxidantien

Neben dem Vitamin E als wichtigstem in der Natur vorkommenden Antioxidans werden üblicherweise auch synthetisch hergestellte Antioxidantien den Mischfuttermitteln zugesetzt, um eine Oxidation des Futterfettes, der fettlöslichen Vitamine und auch der Xanthophylle zu verhindern (SCOTT et al., 1976). Der Schutzeffekt der Antioxidantien ermöglicht bessere Transportmöglichkeiten und längere Lagerungszeiten (TIEWS u. ZUCKER; 1969). Die sind auch beim Verdauungsprozeß noch spürbar und setzen sich bis in den Bereich des intermediären Stoffwechsels fort, da sie bei Hühnern bestimmte Vitamin E-Mangelscheinungen verhindern (SINGSEN et al., 1955; MACHLIN et al. 1959; MACHLIN u. GORDON, 1962; BARTOV u. BORNSTEIN, 1972a; DE MILLE et al., 1972).

Da neben einer guten antioxidativen Wirksamkeit im Mischfutter auch die Unbedenklichkeit für das Tier gewährleistet sein muß, sind vom Gesetzgeber nur bestimmte synthetische Antioxidantien zugelassen. Vielfältig verwendete und durch die entsprechenden Gesetze auch in mehreren Ländern zugelassene Antioxidantien sind Ethoxyquin, BHT, BHA, Propyl-, Dodocyl- und Octylgalat. Über spezielle Mischungen von verschiedenen synthetischen Antioxidantien mit Synergisten und Trägerstoffen berichtet LÖBBE (1982). Aufgrund verschiedener Testserien ist ein Mischantioxidans entwickelt worden, das der Wirkung von Einzelantioxidantien, insbesondere bei tierischen Fetten, entspricht.

FRANZKE et al. (1965), MOLNAR (1976) und ASTRUP (1983) konnten bei Lagerungsversuchen mit fetthaltigen Futtermischungen und Einzelfuttermitteln erheblich langsamere Fettoxidationen durch Zusatz von BHT, EQ und PG beobachten. FRANZKE et al. (1965) berichteten, daß EQ und PG für die Stabilisierung reiner Fette gleichermaßen gut geeignet sind und zur Stabilisierung von fettreichem Geflügelmastfutter EQ besser als PG ist. BARTOV und BORNSTEIN (1972a) zeigten, daß BHT und EQ mit der gleichen Effektivität die Oxidation des Fettes, von α -Tocopherol, β -Carotin und Xanthophyllen in Broilerfuttermitteln verhindern. ORTEL (1980) fand ebenfalls durch hohe BHA-Zulagen eine verbesserte Carotineinlagerung im Eidotter. Die Carotinverluste in ungepreßten Luzernegrünmehlen liegen bei 4-5 monatiger Lagerung in der Größenordnung von 60%. Durch Zusatz von 250 ppm BHT lassen sich die Verluste etwa auf die Hälfte reduzieren (TIEWS u. ZUCKER, 1969). Durch Zusatz von 500 mg EQ zu Grasmehl wurden die Carotinretention nach 10-monatiger Lagerung von 50 % auf 77 % verbessert (ASTRUP, 1962). Auch Grasmehl läßt sich durch BHT stabilisieren, aber der stabilisierende Effekt von EQ wurde als noch besser befunden (ASTRUP, 1983). Die antioxidative Eigenschaft von EQ und BHT wurde in Hafer und Gerste geprüft und für wirksam erklärt (ASTRUP, 1983).

Die Antioxidantien werden entweder allein oder in Kombinationen verwendet. Die in der BRD zugelassenen Dosierungen im Futtermittel (Mischfutter) für BHT (EWG-Nr. E 321) und EQ (EWG-Nr. E 324) liegen bei 150 ppm und für PG (EWG-Nr. E 310) bei 100 ppm (SÖLFLOHN, 1988).

2.2.3.1 BHT (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluol)

BHT ($C_{15}H_{25}O$, MG=220,34) bildet weiß glänzende Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 70 °C und Siedepunkt von 260 °C. Es ist in organischen Lösungsmitteln sowie in tierischen als auch in pflanzlichen Fetten gut löslich. BHT ist in der Natur nicht zu finden, es wird aus p-Kresol und Isobutylen synthetisiert. 3,5-Di-tert-butyl-hydroxytoluol (BHT) wird auch als 4-Methyl-2,6-di-tert-butylphenol oder als 2,6-Di-tert-butyl-p-kresol bezeichnet.

BHT bekam das erste Patent im Jahre 1947 und wurde zunächst in der Petroleum- und Klebstoffindustrie als ein industrielles Antioxidans verwendet, in den 50iger Jahren fand es auch als Futter- und Kosmetikzusatz Verwendung und wurde als Antioxidans für tierische Fette benutzt (DACRE, 1961). Eine Kommission aus FAO/WHO-Experten hat 1965 eine akzeptable tägliche Aufnahme (ADI) von 0.5 mg/kg Körpergewicht für den Menschen festgesetzt.

Durch neue Erkenntnisse wurde von der FDA (Food and Drug Administration/USA) dem BHT ein "interim regulation status" gegeben. Seit 1970 wird BHT nur noch für die ursprünglichen und nicht mehr für neue Anwendungsbereiche zugelassen. Aktuelle Tierversuche zeigten nämlich, daß eine mögliche Interaktion zwischen BHT-Aufnahme, Tumorentstehung und Stoffwechselferänderungen bei gleichzeitiger Verwendung oraler Kontrazeptiva besteht. Die akzeptable tägliche Aufnahme von BHT wird deshalb in den USA auf ca. 2 mg/Person/pro Tag begrenzt (BABICH, 1982). Innerhalb der Europäischen Gemeinschaft wurde empfohlen, die akzeptable tägliche Aufnahme von BHT auf 0.05 mg/kg KGW zu beschränken (HAIGH, 1986). Wenn hier BHA und BHT zusammen verwendet werden (im Verhältnis 1:1), liegt die tägliche Aufnahme für das Präparat bei 0.5 - 2 mg/kg KGW. In den USA werden jährlich ca. 10 Millionen Tonnen BHT produziert, die Hälfte davon wird dem Futter zugesetzt (HAIGH, 1986).

Die Ablagerung und mögliche Speicherung von BHT im Tierkörper sind untersucht worden. Dabei stellte sich heraus, daß der größte Teil vom BHT sehr schnell aus dem Blut in die Gewebe aufgenommen und besonders in der Mikrosomenfraktion der Leber metabolisiert wird (GILBERT u. GOLDBERG, 1967; SHAW u. CHEN, 1972; NAKAGAWA et al., 1979b). Einige Wege des BHT-Metabolismus scheinen auch in der Lunge stattzufinden (NAKAGAWA, 1979b).

DANIEL und GAGE (1965) fanden 80-90 % einer Einzeldosis von ^{14}C -markiertem BHT nach vier Tagen in Harn und Faeces von Versuchsratten wieder. Hiervon entfielen bei weiblichen Tieren 40 %, bei männlichen Tieren 25 % auf die Harnausscheidung. Bei der Maus wurde nach einer i.p.-Dosis von 400 mg ^{14}C -BHT/kg Körpergewicht nach 4 Stunden 1,8 % der applizierten Radioaktivität in der Leber und 0,14 % in der Lunge nachgewiesen; Maximale Konzentrationen wurden in der Leber nach 2 Stunden, in der Lunge nach 4-8 Stunden gemessen (WILLIAMSON et al., 1978).

EL-RASHIDY und NIAZI (1980) haben gezeigt, daß bei Kaninchen nach i.v. Injektion von BHT von der gegebenen Menge der größte Teil in kürzester Zeit (Halbwertszeit ca. 60 min.) aus dem Plasma verschwindet und der verbleibende geringe BHT-Level mit einer Halbwertszeit von mehr als 11 Tagen eliminiert wird. Bei Ratten wurde eine Gallenblasenfistel gelegt und festgestellt, daß 94 % der Radioaktivität einer i.v.-Injektion und 54 % einer i.p.-Injektion von ^{14}C -BHT nach 6 Stunden über die Galle ausgeschieden wurden (Siehe Tab. 2) (LADOMERY et al., 1967a):

Dosis (mg/kg)	Appl. art	Prozentsatz von ^{14}C ausgeschieden über			Sammel- periode	Autoren
		Urin	Faeces	Galle		
44	oral	3	58	-	2 Tage	TYE et al., 1985
44	oral	19	23	-	2 Tage	
49	s.c.	7	29	-	4 Tage	
0.5	s.c.	10	38	-	4 Tage	
0.3	i.p.	32	37	-	4 Tage	LADOMERY et al., 1987a/b
0.3	i.p.	-	-	52	6 St.	
0.3	i.v.	-	-	94	6 St.	
30	i.v.	-	-	71	6 St.	
100	oral	58	-	26	3 Tage für Urin 2 Tage für Galle	DANIEL et al., 1968

Trotz des sehr schnell ablaufenden Metabolismus erschienen nur 42-61 % der Radioaktivität der oral aufgenommenen Menge (TYE et al., 1965) und 69 % der i.p. Menge von ^{14}C -BHT (LADOMERY et al., 1967a) in Urin und Faeces während der 2- oder 4-tägigen Meßperioden.

Die Diskrepanz zwischen der schnellen Biotransformation des größeren Anteils einer BHT-Dosis und der langsamen Exkretion und Speicherung im Gewebe kann erklärt werden durch die enterohepatische Zirkulation über die Galle. Bestätigt wurde diese Möglichkeit durch LADOMERY et al. (1967 a und b), der herausfand, daß von 94 % der in der Galle erscheinenden ^{14}C -BHT nur 10 % der in 6 Stunden gesammelten Galle nach 4 Tagen

wiedergefunden wurden. Die Daten zeigten, daß für die extensive enterohepatische Zirkulation bei Ratten BHT-Säure oder seine Glucuronide und mercaptonsaures BHT [S(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl)-N-acetyl-cysteine] verantwortlich sind (LADOMERY et al., 1967a; DANIEL et al., 1968; HOLDER et al., 1970). Wahrscheinlich findet ein ausgedehnter enterohepatischer Kreislauf auch beim Menschen statt (WIEBE et al., 1978).

Die durch Einmal- bzw. Kurzzeitapplikation erhaltenen Befunde spiegeln sich auch in Studien wieder, in denen längerfristig BHT an Broilerküken verabreicht wurde. BRÜGGEMANN et al. (1967) haben bei Tieren, die vom 7. bis zum 31. Lebenstag ^{14}C -BHT (120 ppm im Futter) mit dem Futter erhielten, Rückstandsfindung und Ausscheidung des Antioxidans untersucht. Die Rückstandswerte im Muskel- und Organewebe erreichten nach wenigen Tagen der kontinuierlichen ^{14}C -BHT-Beifütterung Maximalwerte (Rückstandsplateau), die bei weiterer Fortführung des Experiments unverändert blieben. Mit steigendem Fettgehalt der Organe (Muskel < Niere < Leber < Haut < Knochenmark < Körperfett) nahm deren ^{14}C -Aktivität zu. Die höchste BHT-Einlagerung wurde dementsprechend mit 17 ppm BHT im Körperfett gefunden. Sechs Tage nach Absetzen der Verbindung aus der Fütterung waren Muskel- (Höchstkonzentrationen : 0,3 mg/kg) und Fettgewebe frei von ^{14}C -Aktivität.

NIESAR und SALLMANN (1966) beobachteten mit gestaffelten BHT-Dosierungen (200-2000 ppm) im Futter von Mastküken, daß sich wenige Tage nach Fütterungsbeginn ein Rückstandsgleichgewicht im Körpergewebe einstellte, das abhängig von der BHT-Dosierung im Futter, aber unabhängig von der Fütterungsdauer blieb. Größere BHT-Mengen wurden in Harn und Faeces aufgefunden. Auch in diesem Experiment zeigte sich die oben mitgeteilte Reihenfolge der Gewebe hinsichtlich der Ablagerungsintensitäten. Eine rasche Ausschwemmung des Antioxidans wurde ebenfalls schon beobachtet. Auch die Studien von FRAWLEY et al. (1965), die erstmalig ^{14}C markiertes BHT einsetzten, ergaben für den Broiler gut vergleichbare Resultate. In Arbeiten an Legehennen stellten die gleichen Autoren fest, daß nach 28-tägiger Fütterung von 200 ppm BHT (10 % Schweineschmalz in der Ration) das Körperfett 17,5 ppm BHT enthielt. Der Aktivitätsrückstand im Ei erreichte 2 ppm nach sieben Fütterungstagen und blieb in dieser Höhe bis zum Ende des Versuches konstant.

Über intrazelluläre Reaktionen des BHT in der Leber, die nicht direkt den Abbau des Moleküls betreffen, ist sehr wenig bekannt. Ratten, denen ^{14}C -BHT verabreicht wurde, zeigten 6 Stunden nach der Applikation maximale Aktivitätskonzentrationen in diesem Organ. Zu Anfang ließ sich die Aktivität im glatten Endoplasmatischen Reticulum (ER) nachweisen, danach fand man sie hauptsächlich im rauen ER der Hepatozyten. BHT wurde offensichtlich durch ein in den Mikrosomen lokalisiertes Cytochrom P-450 gebundenes Monooxygenasesystem in chemisch sehr aktive Formen überführt und einige der aktivierten Substanzen konnten anschließend an zelluläre Makromoleküle wie

RNA, DNA und Proteine gebunden werden. Im in vitro Ansatz stellte sich heraus, daß Cystein und reduziertes Glutathion signifikant die Bindung von BHT an die Mikrosomen vermindern. Dieses Resultat macht glaubhaft, daß aktiviertes BHT mit den Thiolkomponenten reagiert und die Bindungsstelle an das Protein die Sulfhydryl-Gruppe sein könnte (NAKAGAWA et al., 1978; 1979b; 1981a und b; 1983).

Daneben sind eine Reihe von BHT-abbauenden Reaktionen im Intermediärstoffwechsel und zahlreiche Metaboliten des Antioxidans bekannt. In vivo Studien zeigten grundsätzliche Gesetzmäßigkeiten des Metabolismus von BHT auf, die in allen Spezies gültig sind. Dazu gehört die Oxidation des Para-methyl- bzw. des einen oder beider tert-butyl Substituenten. Die Oxidation der Para-methylgruppe wird von mikrosomalen Enzymen der Leber katalysiert und der größte Teil der Biotransformationsprodukte hauptsächlich in der Leber zu Sulfaten und Glucuronsäuren konjugiert und teilweise über den Urin ausgeschieden (DANIEL u. GAGE, 1965; HATWAY, 1966; DANIEL et al., 1968; HOLDER et al., 1970; LADOMERY et al., 1967 a und b; NAKAGAWA et al., 1978; 1979 a und b; 1981a)

BHT-oxydase, die BHT zu 2,6-di-tert-butyl-4-hydroxymethylphenol (BHT-OH) oxidiert, wurde aus der Rattenleber isoliert (GILBERT u. GOLDBERG 1967). Einige der entsprechenden BHT-Metaboliten sind nachfolgend aufgeführt: 2,6-di-tert-butyl-4-hydroxymethylphenol (BHT-OH) (GILBERT u. GOLDBERG, 1967; SHAW u. CHEN 1972). 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzolsäure (BHT-COOH), 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenz-aldehyd (BHT-CHO) (HATWAY, 1966), 4-hydroxy-4-methyl-2,6-di-tert-butylcyclohexa-2,5-dienon, 4-hydroperoxy-4-methyl-2,6-di-tert-butylcyclohexa-2,5-dienon (SHAW und CHEN 1972; CHEN u. SHAW, 1974) und 2,6-di-tert-butyl-4-methylen-2,5-cyclohexadienon (TAKAHASHI u. HIRAGA, 1979; 1980).

Einen umfassenden Einblick in die stufenweise ablaufenden Oxidations- bzw. Hydroxylierungsreaktionen am BHT-Molekül gibt die spezielle Übersicht von WITSCHI et al. (1989) (s. Abb. 8). In ihr sind alle für Ratte, Maus, Kaninchen und Mensch bislang gefundenen Daten zusammengefaßt. Außerdem sind die Glukuronsäureprodukte dargestellt. Die Autoren haben auf die Wiedergabe von Sulfatkonjugaten verzichtet, weil deren Strukturen noch unklar sind. Wesentliche Beiträge zur Aufklärung der BHT-Metabolisierung und -Ausscheidung stammen von DACRE, 1961; AKAGI u. AOKI, 1962 a und b; DANIEL u. GAGE, 1965; FRAWLEY et al., 1965; HATWAY, 1966; LADOMERY et al., 1967 a und b; DANIEL et al., 1968; HOLDER et al., 1970; SHAW u. CHEN, 1972; CHEN u. SHAW, 1974; NAKAGAWA et al., 1978; 1979 a und b; 1981 a und b; 1983; WIEBE et al., 1978; YAMAMOTO et al., 1979; TAKAHASHI u. HIRAGA, 1979; 1980; EL-RASHIDY u. NIAZI, 1980 und WITSCHI et al., 1989.

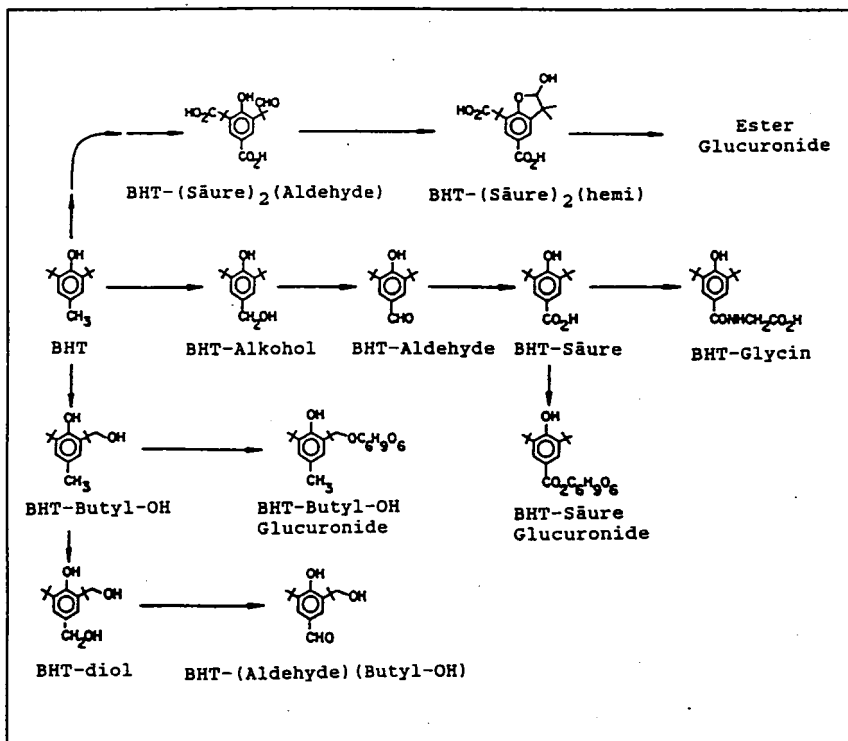


Abb. 8: Metabolisches Schema für die Oxidation und Konjugation des Alkylsubstituenten des BHT (nach WITSCHI, 1989)

Im Hinblick auf speziesspezifische Produkte im Rahmen des BHT-Metabolismus wurde festgestellt, daß nur Mäuse und Kaninchen das BHT-BuOH und nur der Mensch BHT-(COOH)₂-(CHO) produzieren können. Kaninchen und Ratten scheiden über den Urin interessanterweise hauptsächlich nur BHT-Säure aus (DANIEL et al., 1968; TAKAHASHI u. HIRAGA, 1980).

Daneben darf nicht außer acht gelassen werden, daß gerade die beiden genannten Arten große Mengen BHT's unverändert über die Faeces abgeben (AKAGI u. AOKI, 1962 a und b; DANIEL et al., 1968).

In der Rattenleber wurde von CHEN und SHAW 1974 ein cyclischer Reaktionsprozeß am BHT-Molekül beschrieben, in dessen Verlauf BHT wieder regeneriert wird. Wie in Abb. 9 dargestellt, erfolgt zunächst eine Peroxidierung des BHT in Position 4 (BHT-OOH). Über Reduktion und OH-Abspaltung kann BHT rekonstituiert werden

oder es entsteht parakonfigurierter primärer Alkohol. Dieser Kreisprozeß kann zur Erklärung der hohen antioxidativen Aktivität des BHT beitragen.

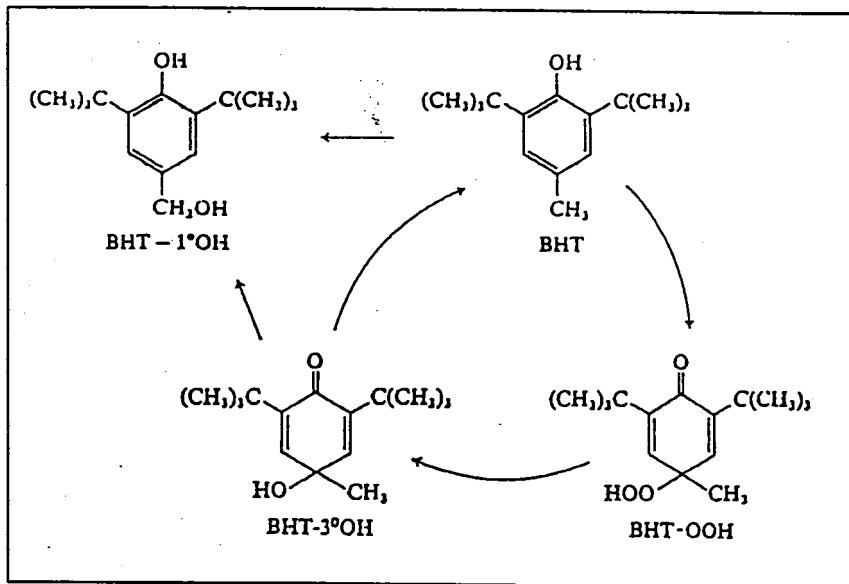


Abb. 9 : Vorgeschlagener zyklischer metabolischer Weg von BHT (nach CHEN u. SHAW, 1974)

2.2.3.2 Propylgallat

Propylgallat, wird auch als Progallin P, Propylis gallas oder Propylum gallicum bezeichnet, ($C_{10}H_{12}O_5$, Molgew. 212,2, Siedepunkt 146-149°C), und ist ein weißes bis gelbliches, fast geruchloses, kristallines Pulver von schwach bitterem Geschmack. Es ist leicht löslich in Ether, Ethylalkohol, 1,2 Propylenglyköl und sehr schwer löslich in Erdnußöl und in Wasser. PG wird seit 1947 als Antioxidans verwendet.

Der Ausdruck Gallat wird meist angewendet auf die Propyl-, Octyl- und Dodecylester der Gallussäure. Die Gallate sind wenig toxisch. Gallate werden primär als Antioxidantien verwendet, um den in Fett und Ölen ablaufenden Verderb zu verhindern. Sie werden aber auch in Kosmetika und Verpackungsmaterialien und auch als Futterzusatz genutzt. Sie

können allein oder in Kombination mit BHA und/oder BHT angewandt werden.

Die FAO/WHO hat 1976 eine ADI von 0.2 mg/kg Körpergewicht festgelegt (die Summe von Propyl-, Octyl- und Dodecylgallat), basierend auf einem "no-effect level" bei Ratten. 1978 empfahl ein Komitee der EG die gleiche Menge. Auch 1980 erfolgte nach neuer Kontrolle eine Festlegung des ADI auf 0.2 mg/kg KGW. Nach oraler Aufnahme werden mehr als 70 % des PG im Magen-Darmtrakt absorbiert. Der Metabolismus bei Ratten und Kaninchen zeigt eine Hydrolyse zur Gallussäure und ferner eine Methylation und ergibt die 4-O-Methylgallussäure als ein Biotransformationsprodukt. Dieses Produkt wird über den Urin als freie Verbindung oder Glukuronid ausgeschieden. Bei Ratten wurde auch eine Exkretion des unveränderten Esters in den Urin gefunden (BOOTH et al., 1959; DACRE, 1960 u. 1974; ESCH, 1955). Experimentelle Befunde deuten an, daß das metabolische Schicksal des Propylesters sich vom Octyl- oder Dodecylester unterscheidet ; in einer Studie an Ratten waren die intestinale Absorptionsrate und der Umfang der Hydrolyse der Esterbindungen für das Propylgallat höher (ESCH, 1955).

PG inhibiert das Wachstum von Mikroorganismen durch Inhibition der Respiration und Nukleinsäuresynthese (BOYD u. BEVERIDGE, 1979). Freie PG-Radikale hemmen die Aktivität einiger Redoxenzyme wie die Lactatdehydrogenase durch Reaktion mit ihrer Sulfhydrylgruppe (BRZHEVSKAYA et al. 1966). ASTILL u. MULLIGAN (1977) fanden, daß Propylgallat in einer oralen Dosierung von 225 mg/kg einen inhibierenden Effekt auf die intragastrische Formation von N-Nitrosaminen hat. Bei einer Menge von 25 mg/kg trat dieser Effekt nicht mehr auf. PG inhibierte auch die Formation von Nitrosaminen aus Aminopyrinen und Natriumnitrit (KAWANISHI et al., 1981).

2.2.3.3 Ethoxyquin

Ethoxyquin ($C_{14}H_{19}NO$, Molgew. 217,30), wird auch 6-Ethoxy-1.2-dihydro-2.2.4-trimethylchinolin, 1.2-Dihydro-6-ethoxy-2.2.4-trimethylchinolin, bzw. Santoquin bezeichnet, ist eine gelblich-dunkelbraune sirupartige Flüssigkeit mit hohem Siedepunkt (123-125° C) und sehr gut in Kohlenwasserstoffen, pflanzlichen und tierischen Ölen, nicht dagegen in Wasser löslich. Ethoxyquin ist ein Antioxidans, das zur Kontrolle der Lipidoxidation in Fischmehl genutzt wird und dem Tierfutter bis zu 150 mg/kg Futter zugesetzt wird (HOBSON-FROHOCK, 1982).

Aus Untersuchungen von MÖLLER (1980) unterscheidet sich EQ von den phenolischen Antioxidantien darin, daß das EQ nicht nur als Radikalfänger fungiert, sondern auch selbst mit Sauerstoff reagiert und diesen bindet.

In einem Versuch bei Ratten wurde der Stoffwechselweg des Ethoxyquin untersucht (MEULEN et al., 1980), indem es ^{14}C -

markiert an Albinoratten verabreicht wurde. Die höchsten Werte in Leber, Niere und Magen wurden 6 Stunden nach der Verabreichung gefunden. Später fiel der ^{14}C -Ethoxyquin-Gehalt in diesen Organen kontinuierlich ab. Dünn- und Dickdarm sowie das Caecum zeigten am ersten Tag einen leichten Anstieg im ^{14}C -Gehalt. Auch im Blut war ein geringer Aktivitätsanstieg meßbar. Am zweiten Tag begann die ^{14}C -Aktivität in den Organfraktionen drastisch abzufallen, während die Werte im Urin und den Faeces dagegen anstiegen, wobei die Konzentration im Urin zweimal über der in den Faeces lag (MEULEN et al., 1980).

SKAARE u. SOLHEIM (1979) und SKAARE (1979) berichten über die gastrointestinale Absorption, die biliäre Exkretion und im Urin nachgewiesene Metaboliten. In der Gallenflüssigkeit wurden 12 Std. nach Applikation von ^{14}C markiertem EQ 75 bis 85 % als unverändertes EQ ausgeschieden, und etliche Metaboliten zusätzlich identifiziert.

Der wesentliche Teil des EQ wird vor der Nierenexkretion metabolisiert, der häufigste Metabolit ist dabei demethyliertes EQ und sein Oxidationsprodukt. Außerdem wurden fünf verschiedene Hydroxylations- und ein Dihydroxylationmetabolit identifiziert (SKAARE u. SOLHEIM, 1979). Nach 72 Stunden waren 84.8 % der totalen ^{14}C -Dosis über Urin und Faeces ausgeschieden (s. Tab. 3) (MEULEN et al., 1980).

Tab. 3 : Verteilung der ^{14}C -Aktivität in verschiedenen Fraktionen nach oraler Applikation von 40 mg ^{14}C -Ethoxyquin an Ratten (dargestellt als % der verabreichten Dosis)

Fraktion	Stunden nach Applikation				
	6	12	24	48	72
Leber	8.0	1.7	1.8	0.7	0.5
Nieren	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1
Magen	56.5	20.0	6.1	0.6	0.3
Dünndarm	11.3	9.4	9.7	0.7	0.6
Caecum	6.9	8.2	12.6	1.7	2.1
Dickdarm*	0.9	2.4	2.8	0.4	0.5
Urin	10.4	16.8	36.7	53.0	55.5
Faeces]**	0.1	0.3	1.9	26.9	29.3
Blut	0.9	1.2	1.6	0.9	0.8

* ohne Caecum
** kumulativ

(nach MEULEN et al., 1980)

In einer Studie wurde 0.5 % EQ über das Futter 14 Tage lang an Ratten verabreicht. Dieses führte zu einer auffälligen Lebergewichtszunahme und Induktion der mikrosomalen Detoxifikationsenzyme. Im Gegensatz dazu war die Glucose-6-Phosphataseaktivität vermindert. Während einer 30-tägigen Erholungsphase

wurden die Parameter Lebergewicht, Mikrosomenprotein, Cytochrom P-450, Cytochrom b_5 , Biphenyl-4-hydroxylase, Ethylmorphin-N-Demethylase, Glukose-6-Phosphatase und DNA-Konzentration notiert. Sie waren nach 3-7 Tagen im physiologischen Bereich, nur die totale Leberenzymaktivität erreichte auch am 30. Kontrolltag noch nicht den Anfangswert (PARKER et al., 1974).

Der Einfluß von Vitamin E und EQ wurde anhand der Lipidperoxidation und Leberregeneration bei Ratten geprüft. Sie wurden mit einer Basaldiät bestehend aus 10 %igem Vitamin E-freiem Maisöl unter Zusatz von entweder 40 mg dl- α -Tocopherolacetat/kg Futter oder 2 g EQ/kg Futter versorgt. Nach der 6-wöchigen Fütterungsphase produzierten die nur mit der Basaldiät gefütterten Tiere höhere Pentanwerte als die mit den Antioxidantien. Nach 6,5 bzw. 10 Wochen wurde an den Tieren eine partielle Hepatektomie durchgeführt, danach zeigte sich bei Messungen 3 bis 6 Tage später ein signifikanter Anstieg der Pentanproduktion in der Basaldiät- sowie Vitamin E-versorgten Gruppe, während die EQ-Gruppe keinen Unterschied zu den vor dem Eingriff gemessenen Werten zeigte. Auch bezogen auf die Leberregeneration zeigte nur die EQ-versorgte Gruppe eine signifikante Stimulation, während die Vitamin E-Gruppe keine solche erkennen ließ (GAVINO et al., 1985).

2.2.3.4 Immuneffekte der synthetischen Antioxidantien

Die Produkte des Cyclooxygenase (CO)- und Lipoxygenase (LPO)-Weges sind wichtige Modulatoren der Immunantwort (GOODWIN u. CEUPPINS, 1983; ROLA-PLESZCZYNSKI et al., 1983; KATO u. MUROTA, 1985). Antioxidantien können die Immunantwort durch Modulation dieses Weges beeinflussen. Sie sind in der Lage, die Aktivitäten des CO- und LPO-Stoffwechselweges zu inhibieren, indem sie den Peroxidtonus der Zelle vermindern (BALL et al. 1986). O_2 -Radikale spielen eine wichtige Rolle in der Induktion von immunologischen Signalen. Die phenolischen Antioxidantien (BHA, BHT, NDGA und Coffeinsäure) sind LPO-Inhibitoren und beeinträchtigen so die Immunantwort. Diese Inhibition erscheint als eine Konsequenz des abnehmenden Peroxidgehaltes der aktivierten Zelle (s. oben) oder des Abfangens der Radikalstufenstufen des LPO-Weges. BALL₂ et al. (1986) beschrieben, daß phenolische Antioxidantien immunosuppressive Eigenschaften besitzen und als solche möglicherweise die promotionale Phase der Karzinogenese beeinflussen.

HOFFELD (1981) fand, daß BHA, BHT und Propylgallat die Lipopolysaccharidstimulierte Proliferation der B-Zellen vergrößern. Das ist nicht unbedingt ein Gegensatz zu den immunosuppressiven Effekten der LPO-Inhibition. Die Lipopolysaccharidstimulation ließ den Phosphatidylinositolturnover, der den LPO-Weg aktiviert, nicht zunehmen (GRUPP u. HARMONY, 1985; MEADE et al., 1985); LPO Inhibitoren beeinflussen diese Antwort nicht (BALL et al., 1986).

2.3 Vergleichende Wirkung bzw. Interaktionen von Vitamin E mit Synergisten und synthetischen Antioxidantien in praxisnahen Versuchsansätzen

Die molekularen Prozesse der Interaktion zwischen Tocopherolen und synergistisch wirkenden anderen Antioxidantien wurden im Kapitel 2.2.2.3 näher erläutert. An dieser Stelle soll lediglich auf wichtige Versuchsergebnisse eingegangen werden, die den praktischen Einsatz dieser Stoffgruppen betreffen.

2.3.1 Lagerungsversuche (in vitro-Wirkung)

ASTRUP (1983) konnte bei 4-monatiger Lagerung von Sonnenblumenkuchenschrot eine Abnahme des Vitamin E-Gehaltes von 30 mg/kg auf 0 mg/kg beobachten, die sich durch BHT-Zulage (200 mg/kg) verhindern ließ. In einem Lagerungsversuch mit einem vom Schwarzen Meer stammenden Schrot aus Sonnenblumenkuchen war der Gehalt des Vitamin E nach viermonatiger Lagerung von 30 auf 0 mg/kg gesunken. Durch Zusatz von BHT (200 mg/kg) ließen sich die Oxidation und deren Folgen ebenfalls aufhalten, der Vitamin E Gehalt lag nach vier Monaten noch bei 20 ppm.

In einer anderen Studie wurde von LEE (1975) der synergistische Effekt von Zitronensäure auf die antioxidativen Eigenschaften von BHT in Sojaöl getestet. Sojaöl wurde entweder in einem dunklen Lager bei +40°C gelagert oder direkter Sonneneinstrahlung 3 Stunden pro Tag ausgesetzt. Eine Zunahme der Peroxidzahl und der freien Fettsäuren trat erwartungsgemäß schneller im exponierten Öl ein. Die Zugabe von 0.1 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ führte zu einem weiteren Anstieg der Werte. Der antioxidative Effekt von 0.02 % BHT erhöhte sich bei Zulage von 0.01 % Zitronensäure signifikant.

Synergisten wurden allein und mit Antioxidantien zu je 500 ppm Büffelmilchfett zugesetzt. Die Proben lagerten bei 55°C. Der oxidative Verderb wurde mit dem TBA-Test jeden 2. Tag über eine 45 tägige Versuchsperiode hinweg kontrolliert. Dabei stellte sich Ascorbinsäure als ein effektiver Synergist dar, Lecithin dagegen nicht. Propylgallate waren hier besser wirkende Antioxidantien als BHA oder BHT (HELAL et al., 1979).

In einem weiteren Versuch wurde der Einfluß der synthetischen Antioxidantien BHT, BHA und EQ auf die Stabilität maschinell gewonnenen und gefrorenen Geflügelfleisches untersucht. Geflügelfleisch wurde von verschiedenen Teilen der Hennen-, Hähnchen- und Entenkörper maschinell gewonnen und bei -18°C gelagert. Es wurde festgestellt, daß Antioxidantien die Oxidation des Fettes im Fleisch bedeutend einschränken. Nach 23 Wochen der Gefrierlagerung war der Gehalt an Peroxiden und

Malonaldehyd im maschinell gewonnenem Fleisch ohne Zugaben dreimal höher als in Proben mit der Zugabe von Antioxidantien (PIKUL et al., 1983).

2.3.2 Fütterungsversuche (in vivo-Wirkung)

Eine Zugabe von EQ und BHT zu den Diäten führte bei Broilern zu einem geringen aber kontinuierlichen Anstieg des α -Tocopherol-levels im Schlachtkörperfett (BARTOV u. BORNSTEIN 1981). Diesem Effekt könnte eine protektive Wirkung der Antioxidantien auf das α -Tocopherol im Futter (BARTOV u. BORNSTEIN, 1972a) und/oder im Darmtrakt zugrunde liegen; synthetische Antioxidantien üben demnach auf das α -Tocopherol im Organismus einen gewissen Spareffekt aus. Auch COMBS (1978) und COMBS u. REGENSTEIN (1980) berichteten über ansteigende Plasma- α -Tocopherol-Gehalte nach Santoquin-Supplementation an Kühen. DVINSKAYA (1973) erreichte ebenfalls durch Ethoxyquingabe (150 ppm/kg Futter mit 6-8 % Fett) höhere Vitamin E- und Vitamin A-Gehalte in der Leber von Broilern, die aber bei 10 % iger Fettzulage geringer waren.

In einem Fütterungsversuch an Regenbogenforellen sind drei Gruppen mit EQ, BHT und Loxidan (Loxidan TL-400 besteht aus einer Mischung von EQ, PG und einem Synergisten) im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit Selen und Vitamin E und einer Nullgruppe gefüttert worden. Es ließ sich feststellen, daß bei den Mastleistungsergebnissen keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen auftraten. Die Futtermischungen mit den Antioxidanzienzusätzen wiesen nur einen geringen Anstieg der POZ bis maximal 20 mmol O₂/kg Fett auf, wohingegen diese in der Kontroll- und Nullgruppe trotz der Gefrierlagerung Werte über 200 erreichte. Die im Blutserum gemessenen GOT-, LDH- und CK-Werte lagen bei den Gruppen, die synthetische Antioxidantien erhielten, höher als bei den Kontrolltieren. Dies ist auf den Vitamin E/Selen-Zusatz zurückzuführen. In der Nullgruppe wurde ein besonders hoher Anstieg der GOT- und LDH-Werte beobachtet. Insgesamt bestätigt diese Studie damit eine bessere biologische Wirksamkeit der natürlichen antioxidativen Mikronährstoffe Vitamin E und Selen gegenüber den synthetischen Antioxidantien. Außerdem ließ sich daneben aber auch die bekannt hohe Kompetenz der letzteren Stoffgruppe im *in-vitro* Ansatz (Futterzusatz) darstellen (OBERBACH u. HARTFIEL, 1988).

In einer ähnlichen Studie mit Welsen (*Ictalus punctatus*) konnten MURAI und ANDREWS (1974) nach Verfütterung von frischem und oxidiertem Sojaöl und abgestuften Zulagen von α -Tocopherol (10 oder 100 mg/kg) bzw. Santoquin (10, 100 und 125 mg/kg) zur Diät vergleichbare Resultate erzielen. Beide Antioxidantien konnten Symptome wie exsudative Diathese, Muskeldystrophie, Depigmentation, Fettlebern und Anämien zurückdrängen, jedoch hatte Santoquin auf den abgesunkenen Hämatokrit und auf die Muskeldystrophie keinen signifikanten Einfluß. α -Tocopherol wirkte dagegen durchgängig. Die Autoren nehmen an, daß entweder

25 mg/kg α -Tocopherol zusammen mit 125mg/kg Santoquin oder 125 mg/kg α -Tocopherol allein den Wels adäquat schützen können.

In diesem Zusammenhang sind Resultate von HUNG et al. (1981) interessant, die bei Verfütterung von oxidiertem Fischöl mit einer POZ von 120 an Forellen hinsichtlich der Mortalität, der Hämolyse roter Blutzellen, des α -Tocopherolgehaltes in Plasma und Leber eine negative Tendenz gefunden haben im Vergleich zu der Tiergruppe, die frisches Fischöl erhielt. Hier wirken sich lediglich Tocopherolzusätze zur Diät günstiger auf die gemessenen Parameter aus. Santoquinsupplemente reduzierten lediglich die Mortalität der Tiere.

Die Wirkung von Vitamin E und synthetischen Antioxidantien wurde auch im Hinblick auf die Stabilität von Geflügelfleisch und Fettgewebe untersucht. In einer Ration, die keine Fettzulage enthielt, konnte durch 10 und 20 mg Vitamin E/kg bzw. durch Zulage von 75 und 150 mg Ethoxyquin die Stabilität des Fettgewebes sowie des Fleisches erhöht werden, wohingegen BHT nur die Fettstabilität verbesserte. Bei Fettzulage waren BHT und EQ effektiver als die α -Tocopherolacetatzulage. Mit steigendem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren im Futter erhöhte sich die stabilisierende Wirkung der synthetischen Antioxidantien im Vergleich zum Tocopherol (BARTOV u. BORNSTEIN, 1977; 1978; 1981). Eine Kombination von α -Tocopherolacetat mit den Antioxidantien BHT und EQ verbesserte additiv die Fleisch- und Fettstabilität, wenn kein zusätzliches Fett verabreicht wurde, stärker als die alleinige Verfütterung dieser Wirkstoffe. EQ war darüber hinaus (s.o.) auch bei einer 4 %-igen Fettzulage wirksam (BARTOV und BORNSTEIN 1981).

CAMIRUAGA et al. (1984) berichteten, daß bei Broilern durch Zusatz der Antioxidantien Vitamin E und BHT im Futter keine statistisch nachweisbaren Unterschiede in der Leistung auftraten, es aber eine Tendenz zu höherem Körpergewicht und besserer Futtermittelverwertung bei maximalem Zusatz dieser Antioxidantien gab. Auch ein positiver Effekt auf die Fettstabilität des Schlachtkörpers wurde festgestellt, der unter Gefrierbedingungen ungefähr eine Woche anhält. Dabei hatte BHT einen höheren Effekt auf das Schlachtkörperfett als das Vitamin E.

Bei Ratten und Kaninchen stellte sich heraus, daß PG die ungünstigen Effekte auf die fötale Entwicklung, hervorgerufen durch Vitamin E-Mangel, verbessert (KING, 1964; DE SESSO, 1981).

Die sehr uneinheitlichen Resultate bei den bislang durchgeführten und hier teilweise referierten Fütterungsversuchen waren Anlaß für die eigenen Experimente, in denen insbesondere die interaktive Effizienz synthetischer und natürlicher Antioxidantien systematisch studiert werden sollte.

3.0 Eigene Untersuchungen

3.1 Prinzip der Versuche

Zur Vertiefung des Kenntnisstandes über die Interaktionen zwischen natürlichen (α -Tocopherol) und künstlichen Antioxidantien (BHT, PG und Loxidan) wurden insgesamt drei Fütterungsversuche mit wachsenden Broilerküken durchgeführt.

Die verwendeten Futtermischungen enthielten entweder keine Antioxidanzzulage oder Vitamin E bzw. Vitamin E zusammen mit synthetischen Antioxidantien (BHT, Propylgallat und Loxidan). Andererseits sollte eine peroxidative Belastung der Broiler mit verschiedenen Futterfettchargen (gesättigte, ungesättigte Fettsäuren, oxidierte Fette) herbeigeführt werden.

Zur Darstellung der antioxidativen Kapazität im Lebergewebe wurden die provozierte Pentanproduktion (in-vitro) in den Lebermikrosomen und die Vitamin E-Retention im Organewebe bestimmt.

3.2 Fütterungsschemata und Gruppeneinteilungen

3.2.1 Versuch I

Zur Erfassung der o.g. Versuchs-kriterien wurde ein Versuch geplant, bei dem zum einen 4 verschiedene Fettchargen verfüttert und andererseits 6 unterschiedliche Antioxidantien bzw. Kombinationen der Antioxidantien einschließlich einer Nullkontrolle eingesetzt wurden, so daß sich daraus $6 \times 4 = 24$ Versuchgruppen ergaben (s. Tab. 4).

Tab. 4: Die Faktoren des ersten Versuches

Faktor I - Fettchargen

- 1 - Talg / Schmalz
- 2 - Talg / Schmalz / Triglycerid-frisch [POZ=1]
- 3 - Talg / Schmalz / Triglycerid-oxidiert [POZ=400]
- 4 - Talg / Schmalz / Triglycerid-frisch+Cu&Fe¹ [POZ=1]

Faktor II - Antioxidantien

- 1 - Mangel
- 2 - Vitamin E²
- 3 - Vitamin E + BHT³
- 4 - BHT³
- 5 - Vitamin E + Loxidan TD-100⁴
- 6 - Vitamin E + Loxidan TL-400⁵

- 1 - s. 3.4.1
- 2 - Fa. Lohmann, Cuxhaven
- 3 - Fa. Merck, Darmstadt
- 4 - Mischantioxidans, Trockenpräparat,
Fa. Lohmann, Cuxhaven
- 5 - Mischantioxidans, Flüssigpräparat,
Fa. Lohmann, Cuxhaven

Eine genaue Darstellung der Gruppen des ersten Tierversuches ist der nachfolgenden Tabelle 5 zu entnehmen.

Tab. 5: Gruppeneinteilung bzw. -bezeichnung
des ersten Tierversuches

	M ¹	Vit.E ²	Vit.E+BHT ³	BHT	Vit.E+L-100 ⁴	Vit.E+L-400 ⁵
T ⁶ /S ⁷	1	2	3	4	5	6
T/S/Tg-frisch ⁸ [POZ=1]	7	8	9	10	11	12
T/S/Tg-oxidiert ⁹ [POZ=400]	13	14	15	16	17	19
T/S/Tg-fr+Cu&Fe ¹⁰ [POZ=1]	19	20	21	22	23	24

- 1 - Mangel
- 2 - Vit.E -> all-rac α -Tocopherolacetat - 25 ppm
- 3 - BHT -> Butyl-Hydroxy-Toluol - 150 ppm
- 4 - L-100 -> Loxidan TD-100 - 100 ppm
- 5 - L-400 -> Loxidan TL-400 - 40 ppm
- 6 - T -> Talg
- 7 - S -> Schmalz
- 8 - Tg-frisch -> Synthetisches Triglycerid-frisch
(reveresterte Sojafettsäuren)
- 9 - Tg-oxidiert -> Synthetisches Triglycerid-oxidiert
(reveresterte Sojafettsäuren)
- 10 - s. 3.4.1

3.2.2 Versuch II

In einem weiteren Versuch sollte eine eventuelle Auswirkung der Zugabe von verschiedenen synthetischen Antioxidantien in das Fett bzw. in das Futtermisch getestet werden. Es wurde zusätzlich ein weiteres synthetisches Antioxidans (Propylgallat) überprüft. Das natürliche Antioxidans Vitamin E wurde nur dem Futter beigemischt.

Bei diesem Tierversuch war der Einfluß von drei Faktoren zu evaluieren, nämlich Fett, Antioxidans und Ort der Zugabe des synthetischen Antioxidans (s. Tab. 6). Hierfür wurden $2 \times 6 \times 2 = 24$ verschiedene Fütterungsgruppen angesetzt.

Tab. 6: Die Faktoren des zweiten Versuchs

Faktor I - Fettchargen

- 1 - Talg / Schmalz / Triglycerid-frisch [POZ=1]
- 2 - Talg / Schmalz / Triglycerid-oxidiert [POZ=400]

Faktor II - Antioxidantien

- 1 - Mangel
- 2 - Vitamin E
- 3 - Vitamin E + BHT
- 4 - Vitamin E + Propylgallat¹
- 5 - Vitamin E + Loxidan TD-100
- 6 - Vitamin E + Loxidan TL-400

Faktor III - Ort der Zugabe des Antioxidans

- 1 - in das Futter
- 2 - in das Fett

1 - Fa. Lohmann, Cuxhaven

Eine genaue Darstellung der Gruppen des zweiten Tierversuches ist der Tab. 7 zu entnehmen.

Tab. 7: Gruppeneinteilung bzw. -bezeichnung
des zweiten Tierversuches

	M ¹	V.E ²	V.E ⁺ BHT ³	V.E ⁺ PG ⁴	V.E ⁺ L100 ⁵	V.E ⁺ L400 ⁶
Vitamin E und Antioxidantien im Futter						
T/S/Tg-fr ⁷ [POZ=1]	1	2	3	4	5	6
T/S/Tg-ox ⁸ [POZ=400]	7	8	9	10	11	12
Vitamin E im Futter und Antioxidantien im Fett						
T/S/Tg-fr [POZ=1]	13	14	15	16	17	18
T/S/Tg-ox [POZ=400]	19	20	21	22	23	24
<p>1 - M -> Mangel 2 - V.E -> all-rac α-Tocopherolacetat - 25 ppm 3 - BHT -> Butylhydroxytoluol - 150 ppm 4 - PG -> Propylgallat - 10 ppm 5 - L-100 -> Loxidan TD-100 - 100 ppm 6 - L-400 -> Loxidan TL-400 - 40 ppm 7 - T -> Talg 8 - S -> Schmalz 9 - Tg-fr -> Synthetisches Triglycerid-frisch (reveresterte Sojafettsäuren) 10 - Tg-ox -> Synthetisches Triglycerid-oxidiert (reveresterte Sojafettsäuren)</p>						

3.2.3 Versuch III

Beim dritten Fütterungsversuch wurden neben den frischen und oxidierten Mischfetten zwei Vitamin E - Zubereitungen (Adsorbat und Spray dried) - ohne und mit einem weiteren Antioxidans kombiniert eingesetzt. Hier ergaben sich drei Test-Faktoren: Fettchargen, Vitamin E-Sorten und Loxidan TD-100. Es wurden $2 \times 2 \times 2 = 8$ verschiedene Fütterungsgruppen angesetzt (s. Tab. 8). Die Zulage der Antioxidantien erfolgte direkt zum Futter.

Tab. 8: Die Faktoren des dritten Versuchs

Faktor I - Fettchargen

- 1 - Talg / Schmalz / Triglycerid-frisch [POZ=1]
 2 - Talg / Schmalz / Triglycerid-oxidiert [POZ=400]

Faktor II - Vitamin E

- 1 - Vitamin E - Adsorbat¹
 2 - Vitamin E - Spray dried²

Faktor III - Loxidan TD-100

- 1 - Fa. Lohmann, Cuxhaven
 2 - Fa. Lohmann, Cuxhaven

Eine genaue Darstellung der Gruppen des dritten Tierversuchs ist der Tab. 9 zu entnehmen.

Tab. 9: Gruppeneinteilung bzw. -bezeichnung des dritten Tierversuchs

	Vitamin E	Vit.E + L-100 ¹
T/S/Tg-fr ² [POZ=1] Vitamin E ^{AD} 3	1	2
T/S/Tg-ox ⁴ [POZ=400] Vitamin E ^{AD}	3	4
T/S/Tg-fr [POZ=1] Vitamin E ^{SD} 5	5	6
T/S/Tg-ox [POZ=400] Vitamin E ^{SD}	7	8

- 1 - L-100 -> Loxidan TD-100 - 100 ppm
 2 - Tg-fr -> Synthetisches Triglycerid-frisch
 (reveresterte Sojafettsäuren)
 3 - Vitamin E^{AD} -> Vitamin E-Adsorbat
 4 - Tg-ox -> Synthetisches Triglycerid-oxidiert
 (reveresterte Sojafettsäuren)
 5 - Vitamin E^{SD} -> Vitamin E-Spray dried

3.3 Tiere und Tierhaltung

Es wurden insgesamt 448 gesexete ♂ Eintags-Broilerküken vom Typ LSM der Firma Continental Frost Cuxhavener Geflügelschlachtereie GmbH als Versuchstiere verwendet.

Die Tiere wurden nach dem Zufallsprinzip in entsprechende Gruppen zu 8 Küken pro Käfig eingeteilt, die erforderliche Umgebungstemperatur ergab sich durch automatische Klimatisierung des Stallraumes und mit Hilfe von Zusatzheizelementen. Dabei betrug die Lufttemperatur im Raum während der ersten Woche 32 °C und wurde bis zum Schlachttermin wöchentlich um 2-3 °C gesenkt. Während der gesamten Versuchsdauer wurde der fensterlose Stall mittels Neonröhren beleuchtet. Die relative Luftfeuchtigkeit lag bei durchschnittlich 55 % .

3.4 Diäten

Die verschiedenen eingesetzten Diäten unterschieden sich einerseits in der Vitamin E-/Antioxidantien-Supplementierung und andererseits in der Fettqualität (s.o.).

Das Grundfutter sollte konsequenterweise eine Vitamin E-arme Diät darstellen. Deshalb wurde eine synthetische Mischdiät hergestellt. Diese setzte sich aus einem möglichst Vitamin E-armen Grundfutter (< 0.5 ppm Vitamin E - Basisdiät), einer Mineralmischung, einer Vitamin E - bzw. Antioxidantien Vormischung und dem Fettanteil zusammen. Vormischungen und Fettanteil wurden den Versuchsanforderung entsprechend variiert.

Die Zusammensetzung der Basisdiät für den ersten Tierversuch ist der Tab. 10 zu entnehmen.

Tab. 10: Basisdiät für den 1. Versuch

Glucose	44.82 %
Casein	15.50 %
Sojaproteinkonzentrat.....	15.50 %
l - Arginin	0.30 %
l - Glycin	0.56 %
l - Methionin	0.40 %
l - Phenylalanin	0.45 %
Cholinchlorid	0.32 %
Fett *	10.00 %
Antioxidantien Vormischungen **	5.00 %
Mineral-Mix ***	6.95 %
Vitamin-Mix ****	0.20 %
	100.00 %

Da die Kotkonsistenz der Küken während des ersten Experimentes zu flüssig erschien, sind im zweiten und dritten Versuch jeweils 4 % Glucose durch Cellulose ersetzt worden.

3.4.1 (*) Der Fettanteil der Diät

In den drei Fütterungsversuchen wurden insgesamt 3 verschiedenen Fettchargen verwendet. Diese bestanden aus 25 % Rindertalg, 25 % Schweineschmalz und 50 % synthetischem Triglycerid aus reveresterten Sojaölfettsäuren. Die Auswahl der Fettkomponenten erfolgte ebenfalls unter dem Gesichtspunkt, möglichst Vitamin E-freie Komponenten einzusetzen.

Durch den Einsatz des Triglycerides aus Sojaölfettsäuren (Firma Henkel, Düsseldorf; Firma Noblee & Thörl, Hamburg) sowie von raffiniertem Schmalz und Talg (Firma Unimills, Hamburg) war die Forderung nach einem marginalen Vitamin E-Gehalt gewährleistet. Das Triglycerid wurde in den Qualitäten "frisch" und "oxidiert" (s. Tab. 11) in den Rationen eingesetzt.

Tab. 11: Die Fettchargen des Futters

Fettchargen	Talg	Schmalz	Tg
Talg/Schmalz im Verhältnis Nur im 1. Fütterungsversuch	1	: 1	-
Talg/Schmalz/Triglycerid-fr Im 1, 2 und 3 Fütterungsversuch	1	: 1	: 2
Talg/Schmalz/Triglycerid-ox Im 1, 2 und 3 Fütterungsversuch	1	: 1	: 2
Talg/Schmalz/Triglycerid-fr+Cu&Fe Nur im 1. Fütterungsversuch	1	: 1	: 2

Wie der Tab. 11 zu entnehmen ist, wurden in den Fütterungsversuchen insgesamt drei verschiedene Fettkombinationen eingesetzt. Die erste Fettcharge bestand dabei lediglich aus Talg und Schmalz im Verhältnis 1 : 1. Die zweite und vierte Fettcharge enthielten Talg, Schmalz und Triglycerid im Verhältnis 1 : 1 : 2. Die dritte Fettcharge wurde im gleichen Verhältnis gemischt, das Triglycerid lag jedoch oxidiert (s.u.) vor. Zur Erhöhung der Peroxidationsbelastung wurden der vierten Fettcharge zusätzlich Cu und Fe zugemischt, wobei ersteres damit insgesamt in der doppelten Höhe (2x) und letzteres in der dreifachen (3x) Höhe des Bedarfes angeboten wurde.

Die Oxidation des Triglycerides erfolgte bei einer Temperatur von 60 °C in einem Glycerinbad durch das Einperlen von Luftsauerstoff über eine großflächige Glasfritte. Die Zugabe von 1 ppm FeCl_2 und 1 ppm CuCl_2 im Methanol beschleunigte den Oxidationsvorgang. Bezogen auf die gesamte Diät war der oben genannte Zusatz an Eisen bzw. Kupfer so gering, daß er bei der Bedarfsberechnung vernachlässigt werden konnte. Während des Oxidationsvorganges erfolgte dreimal am Tag eine Bestimmung der Peroxidzahl (POZ). Die Behandlung des Triglycerids wurde nach 42 Stunden (POZ 400) abgebrochen. Das oxidierte Triglycerid wurde bis zum Einsatz bei - 20 °C gelagert.

Im zweiten und dritten Fütterungsversuch wurden von den beschriebenen Fettchargen nur die 2. und 3. Mischung verwendet.

3.4.2 (**) Antioxidantien-Vormischungen

Die Antioxidantien-Vormischungen wurden so gestaltet, daß im Endfutter 0.2 ppm Vitamin E (Mangel), 25 ppm Vitamin E, 150 ppm BHT + 25 ppm Vitamin E, 10 ppm Propylgallat + 25 ppm Vitamin E, 150 ppm BHT, 100 ppm Loxidan 100 + 25 ppm Vitamin E und 40 ppm Loxidan 400 + 25 ppm Vitamin E erreicht wurden. Um Dosierungsfehler zu vermeiden und eine möglichst große Homogenität im Endfutter zu erreichen, wurden Vitamin E und die Antioxidantienmischungen in Glucose vorgemischt. Die Einwaagen wurden mit Glucose in einem Mörser innigst verrieben und danach die Mischungen in einem 5 kg Lödiger-Mischer hergestellt.

Vitamin E kam dabei als stabilisiertes α - Tocopherolacetat zum Einsatz (entweder als Adsorbat oder als Spray-dried Qualität; Firma Lohmann, Cuxhaven). BHT wurde von der Fa. Merck, Darmstadt und Propylgallat von der Firma Lohmann, Cuxhaven geliefert. Loxidan TD-100 und TL-400 (Firma Lohmann, Cuxhaven) wurden als synthetische Antioxidantien und zwar als Trockenpräparat (100) oder Flüssigpräparat (400) bereitgestellt. Bei beiden Spezifikationen handelt es sich um Mischpräparate.

3.4.3 (***) Mineral-Mix

Der Mineral-Mix enthält in g pro kg Endfuttermischung folgende Substanzen:

Tab. 12: Mineral-Mix

$\text{CaHPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$	19.60
CaCO_3	20.50
KH_2PO_4	15.20
NaHCO_3	9.60
$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	0.38
$\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	0.54
MgSO_4	3.28
KJO_3	0.01
$\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$	0.036
ZnCO_3	0.16
CoCl_2	0.0034
$\text{NaMoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$	0.009
$\text{NiCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$	0.13
$\text{Na}_2\text{SeO}_3 \times 5 \text{H}_2\text{O}$	0.000333

3.4.4 (****) Vitamin-Mix

Die Vitamin E-freie Vitaminmischung wurde als Rovimix 428 (Firma Hoffmann La Roche, Basel) mit 0.2 g/kg Endfuttermischung zugesetzt, so daß sich folgende Vitamingehalte pro kg Endfutter ergaben :

Tab. 13³ : Vitamin-Mix

Vitamin A	10000 IE
Vitamin D ₃	2000 IE
Vitamin B ₁	2 mg
Vitamin B ₂	6 mg
Ca-Panthotenat	12 mg
Niacin	40 mg
Vitamin K ₃	2 mg
Folsäure	1 mg
Vitamin B ₆	4 mg
Vitamin B ₁₂	0.02 mg

Das Mischen des Futters wurde für jeden Versuchsdurchgang separat durchgeführt.

Die Futtermischungen wurden vor Versuchsbeginn zunächst ohne die Fettkomponente hergestellt und unter Licht- und Luftabschluß gelagert. Kurz vor Beginn der Versuche wurden die spezifischen Fettmischungen der Gruppen zugesetzt und das Endfutter hergestellt. Dieses erfolgte in einem 50 kg Mischer.

Das Endfutter, bestehend aus dem Grundfutteranteil (85 %), einer Antioxidantien-Vormischung (5 %) und einem Fettanteil (10 %), wurde bei -20°C gelagert, da sich im Versuch gezeigt hatte, daß die Peroxidzahl beim Futter, das über längere Zeit bei Raumtemperaturen von 30 °C den Tieren zur Verfügung stand, stark erhöht war. Bei Einhaltung dieser Maßnahmen blieb die POZ konstant niedrig (< 10).

Die Fettkennzahlen und Vitamin E Gehalte wurden im Endfutter überprüft.

3.5 Versuchsdurchführung

In jedem Versuch wurden pro Gruppe 8 Tiere eingesetzt. Die Küken erhielten alle Rationen während der gesamten Versuchszeit ad libitum. An jedem zweiten Tag wurde gruppenweise der Futterverbrauch durch Rückwiegen der Futterreste bestimmt. Futter wurde täglich ausreichend aber nicht übermäßig angeboten, so daß die Rationen nur kurzzeitig den erhöhten Stalltemperaturen ausgesetzt waren. Im Abstand von 5 Tagen erfolgten regelmässig Wägungen der beringten Einzeltiere zur Ermittlung der Körpergewichtsentwicklung. Im Hinblick auf klinische Veränderungen und insbesondere peroxidationsbedingte Krankheits symptomatik wurden alle Tiere täglich ein- bis dreimal gründlich kontrolliert. Zwischen dem 21. und 25. Versuchstag (=Lebenstag) wurden die Tiere zur Gewinnung des Probenmaterials (Blut und Leber) getötet.

3.6 Gewinnung des Probenmaterials

Da insbesondere die Pentanbestimmung im in vitro-Ansatz sofort nach der Probengewinnung durchgeführt werden mußte, konnten nicht alle Tiere am 20. Lebenstag untersucht werden. Vor Beginn der Gewinnung des Probenmaterials wurden die Tiere 15 Stunden lang (über Nacht) genüchert. Die Broiler wurden zunächst durch intramuskuläre Injektionen von 7.5 mg Metomidat-hydrochlorid pro 100g/Körpergewicht (Hypnodil R, Firma Janssen, Neuss) anästhesiert. Nach Eröffnung der Leibeshöhle konnte durch Herzpunktion mit einer Einwegspritze eine Blutprobe von 5 ml gewonnen werden (Proben wurden in dieser Studie nicht untersucht). Unmittelbar im Anschluß daran wurde das Tier durch Öffnung der Halsvenen vollständig entblutet. Dem ausgebluteten Tier wurde die Leber entnommen. Ca. 5 g des rechten Leberlappens wurden nach der Entfernung der Gallenblase und des sichtbaren Bindegewebes sofort für die Bestimmung der Pentanproduktion in vitro eingesetzt. Die restliche Leber und die Blutproben wurden bei -20 °C gelagert.

2 g von der frischen Leberprobe wurden in 10 ml eines 5 mmol/l Tris-Maleat Puffers (pH 7.4) mit Zusatz von 0.15 mol/l KCl homogenisiert und im Potter-Elvehjem-Homogenisator (Firma Braun, Melsungen; 900 Umdrehung/min) mit einem Teflonstempel homogenisiert. Zur Isolierung der Mikrosomenfraktion waren drei Zentrifugationsschritte erforderlich. Das entstandene Homogenat wurde zur Entfernung der größeren Zelltrümmer mit 1400 x g 10 Minuten zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Trennung der Mitochondrien vom Homogenat in einer RC 5B-Kühlzentrifuge (Firma Sorvall, Bad Nauheim) bei 13500 x g für 45 Minuten. Aus dem dabei gewonnenen Mikrosomenzellsaft (Oberstand) konnte durch eine Ultrazentrifugation (OTD-50, Firma Sorvall) bei

105000 x g für 60 Minuten ein Mikrosomen-pellet vom Zytosol getrennt werden. Die Verwendung der Mikrosomen erfolgte sofort nach ihrer Präparation im Rahmen der in Abschnitt 3.7.2 beschriebenen Pentanmessungen. Alle Zentrifugationschritte wurden bei 4 °C durchgeführt.

3.7 Chemische und biochemische Bestimmungsmethoden

3.7.1 Bestimmung des Proteingehaltes

Alle Proteinbestimmungen wurden nach der von WEICHSELBAUM (1946) beschriebenen Methode durchgeführt.

Prinzip : Die Peptidbindungen des Eiweißes bilden mit Biuret-Reagenz einen blauvioletten Farbkomplex, dessen Extinktion photometrisch bestimmt werden kann.

Reagenzien : -Biuret-Reagenz
(Fa. Technicon Diagnostics, Bad Vilbel)
-Na-Desoxycholatlösung 0.1 %ig

Durchführung : In Reagenzgläser wurden 4.9 ml Na-Desoxycholatlösung, 0.1 ml Probelösung und 5 ml Biuret-Reagenz pipettiert und mit einem Vortex gemischt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 30 Minuten wurde die Extinktion in einer 10 mm Küvette gegen eine Blindprobe bei 546 nm gemessen. Bovines Serumalbumin (BSA 98 %, Fa. Serva, Heidelberg) diente als Bezugssubstanz.

Berechnung : $E \times \text{Faktor} \times 10 = \text{mg Protein} / \text{ml}$

E = Extinktion der Probe
Faktor = 20.0
(berechnet aus Albumineichwerten)

3.7.2 Bestimmung der Peroxidzahl (POZ)

Prinzip : Jod (J_2) wird durch Lipidperoxide aus KJ freigesetzt. Dieses Jod kann mit Thiosulfat titriert werden. Bezogen auf die Menge des verbrauchten Thiosulfates wird die Konzentration an Lipidperoxiden in Milliäquivalent (m Äqu) Sauerstoff/kg Fett angegeben.

Reagenzien : - Chloroform / Eisessig (100 %ig, 2+3 v/v)
- Stärkelösung (1 %ig)
- gesättigte Kaliumjodidlösung
- 0.002 mol/l bzw. 0.02 mol/l Natrium-thiosulfatlösung

Durchführung : Es wurde nach der DFG Methode C VI-6 a gearbeitet. Diese entspricht dem von WHEELER (1932) beschriebenen Verfahren. Abhängig von der zu erwartenden Peroxidzahl wurden 20 g Futter bzw. 2.0 g Fett in einem verschließbaren Kolben eingewogen, mit 30 ml Chloroform/Eisessig versetzt und mit einem Magnetrührer 10 Minuten lang gemischt, extrahiert, anschließend abgenutscht und mit 50 ml Chloroform/Eisessig nachgewaschen und ausgefiltert. Von diesem Extrakt gelangten 30 ml nach Zugabe von 0.5 ml gesättigter Kaliumjodidlösung in einen verschlossenen Kolben und wurden 1 Minute lang geschüttelt. Anschließend wurde die Reaktion mit 30 ml Aqua bidest. abgestoppt.

Das freigesetzte Jod wurde entsprechend der Höhe der zu erwarteten Peroxidzahl jeweils mit der passenden Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert. Eine 1 % ige Stärkelösung diente als Indikator. Ein Blindversuch wurde analog durchgeführt.

Berechnung : $POZ \text{ (mÄq/kg Fett)} = (a-b) \times N \times 1000. / E$

- a = im Hauptversuch verbrauchte Thiosulfatlösung
- b = im Blindversuch verbrauchte Thiosulfatlösung
- N = Titer der Thiosulfatlösung
- E = Einwaage in g

3.7.3 Bestimmung der Pentanbildung in Lebermikrosomen

Prinzip : Die Bestimmung der Pentanbildung erfolgte nach der von TIEN u. AUST 1982 beschriebenen Methode und erfaßt das aus Zellpartikeln nach einer Provokation entstehende Pentan. Die Messung erfolgt gaschromatographisch.

Reagenzien : - 100 mmol/l TRIS-Maleat-Puffer + 0.15 mol/l KCl;
 (pH 7.4)
 - 5 mmol/l TRIS-Maleat-Puffer
 - ADP - Fe^{3+} Lösung (32.8 mmol/l ADP + 1.64 mmol/l Fe^{3+})
 - 1.22 mmol/l NADPH + H^+

Durchführung : Der Testansatz ist der Tab. 14 zu entnehmen :

Tab. 14: Der Testansatz

Volumen	Reagenzien	Konzentration im Testansatz
0.5 ml	100 mmol/l TRIS-Maleat-KCl Puffer	40 mmol/l
0.1 ml	ADP - Fe ³⁺ Lösung	3.00 mmol/l ADP 0.15 mmol/l Fe ³⁺
0.1 ml	NADPH + H ⁺	0.10 mmol/l NADPH
0.5 ml	Probe in 5 mmol/l TRIS-Maleat Puffer	
<hr/>		
1.2 ml	Gesamtansatz	

Die Reagenzien wurden in 6.7 ml fassende Glasgefäße pipettiert, die mit Gummi-Teflon Dichtungen und Schraubverschlüssen ausgestattet waren. Nach Beschickung wurden die Gefäße gasdicht verschlossen und für 30 Minuten in einem Schüttelwasserbad (Thermomix 1441, Firma Braun, Melsungen) bei 37 °C inkubiert. Durch die Gummi-Teflon Dichtung konnte am Ende der Reaktionszeit mit einer gasdichten Spritze (Firma Dynatech, Baton Rouge, USA) 1.0 ml Gas aus dem Headspace entnommen werden. Diese Gasmenge wurde sofort gaschromatographisch analysiert.

Der Gaschromatograph (Modell 419, Firma Packard - Becker, Delft, Niederlande) hatte eine Ofentemperatur von 60 °C, und eine Injektor- und Detektortemperatur um 130 °C. Die Fließgeschwindigkeit des Stickstoffes betrug 15 ml/min. Die 5 m lange Säule war aus Stahl (ø 2 mm), die mit Porasil C [0.15-0.20 mm] (Firma Serva, Heidelberg) gefüllt worden war. Als Detektor diente ein FID.

Die Meßergebnisse wurden auf einem W+W Rekorder 1100 (Firma Kontron, Eching) aufgezeichnet und mit Hilfe eines Standard ausgewertet.

Berechnung : $a \times V / b \times t \times P$

- a - Peakfläche der Probe
- b - Peakfläche des Standards
- P - Eingesetzte Proteinmenge
- t - Inkubationszeit (30 Min.)
- V - Volumen der Gasmenge im Probengefäß
(6.7 ml Gesamtvol.-1.2 ml Probevol.=5.5 ml)

In dieser Berechnung wurde das in der Probe gelöste Pentan vernachlässigt, da festgestellt worden war, daß der Fettgehalt der verwendeten Lebern bei allen Tieren gleich war und ca. 4 % betrug.

Die Nachweisgrenze für Pentanproduktion lag bei 0.03 p Mol/Min./mg Mikrosomenprotein in der Probe, die Reproduzierbarkeit lag bei ± 10 %.

3.7.4 Bestimmung der α -Tocopherolkonzentration im Lebergewebe

Prinzip : Die Bestimmung der Tocopherole erfolgte in Anlehnung an die von RAMMELL et al. (1983) beschriebene Methode und beinhaltet eine auf Verseifung und Hexanextraktion basierende Aufbereitung der Probe. Nach Verseifung des Ansatzes werden die Tocopherole durch Hexan extrahiert und mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) gemessen. Die Trennungen ergeben in Reihenfolge ihres Auftretens folgende Fraktionen : 1. α - Tocopherol, 2. β - und γ - Tocopherol, 3. δ - Tocopherol. Die Detektion erfolgt fluorezenspektrometrisch.

Reagenzien : - Ascorbinsäure (100 g/l Aqua bidest.)
 - KOH (7,5 mol/l)
 - Ethanol p.a.
 - Methanol p.a.
 - Hexan p.a.

Durchführung : Zur Abtrennung verseifbarer Anteile wurden 1.0 g des Probenmaterials mit 1 ml der Ascorbinsäurelösung, 1 ml Methanol, 2 ml Ethanol und 1 ml KOH versetzt und für 30 Minuten bei 60 °C im Heizblock erhitzt. Dabei diente die Ascorbinsäure als antioxidativer Schutz der Probe. Der abgekühlte Ansatz (im Eisbad) wurde zweimal für je eine Minute mit 5 ml Hexan extrahiert. Der Extrakt wurde in einem 25 ml Rundkolben im Rotationverdampfer (Firma Büchi, Flawil, Schweiz) bei 25 °C bis zur Trockne eingengt. Anschließend wurde der Rückstand in 1 ml Methanol gelöst und mit einer Einwegspritze aufgezogen. Eventuell vorhandene Schwebeteilchen wurden über einen Swinny Filterhalter (Firma Milipore, Eschborn) und einen Membranfilter (GVWP 01300, Firma Milipore) entfernt. Ein Aliquot des Filtrates (50-200 μ l) wurde unmittelbar in einem HPLC Gerät (Modell 6000 A, Firma Waters, Milford, USA) mit einer Doppelkolbenpumpe und einem Injektionssystem U6K analysiert.

Zur Probenaufgabe diente eine Präzisionsspritze vom Typ 500 A-RN-GSG (Firma SGE, Melbourne, Australien). Die Trennsäule (3.9 x 300 mm) enthielt Bondapak C₁₈ als stationäre Phase. Das Fließmittel bestand aus einem Methanol-Aqua bidest.- Gemisch (95:5 v/v) und wurde mit einer Fließgeschwindigkeit von 2 ml/min durch das System bewegt. Die anschließende Detektion der

Substanzen erfolgte in dem Spektralfluorometer RF 510 mit HPLC-Zusatzausrüstung (Firma Shimadzu, Kyoto, Japan) bei einer Exzitationswellenlänge von 296 nm und einer Emissionswellenlänge von 330 nm. Ein W+W Rekorder (Firma Kontron, Echingen) dokumentierte den Durchlauf bei einem Papiervorschub von 0.5 cm/min., so daß die Retentionzeit des α -Tocopherols bei acht Minuten lag. Die quantitative Auswertung des α -Tocopherolpeaks konnte anhand einer zuvor erstellten Eichkurve und der Bestimmung der Peakhöhe in mm durchgeführt werden.

Berechnung : Die Berechnung der α -Tocopherolkonzentration in den Leberproben erfolgte nach folgender Formel ;

$$\frac{a \times b \times 1000}{G} = \text{ppm } \alpha\text{-Tocopherol/g Frischgewicht}$$

- a = aus der Eichkurve ermittelter α -Tocopherolgehalt der injizierten Probe in μg
 b = Faktor für die Berechnung des α -Tocopherolgehaltes in 1 ml Injektionslösung
 G = Frischgewicht in mg

Die Nachweisgrenze für α - Tocopherol lag bei 0.1 ppm in der Probe, die Wiederfindung betrug 95,0 % \pm 2.1.

Die verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen Merck, Darmstadt und Firma Aldrich, Steinheim, geliefert und besaßen (wenn nicht anders angegeben) den Reinheitsgrad "pro analysi".

3.8 Statistische Verfahren

Zur Prüfung der Mittelwertdifferenzen wurde zunächst eine 2- bzw. 3-Faktorielle Varianzanalyse durchgeführt. Anschließend wurden die Mittelwerte aus den Varianzanalysen im Student-Newman-Keuls Test verglichen.

Bei den Varianzanalysen und im Student-Newman-Keuls Test entsprach:

- *** $p \leq 0.001$ - hoch signifikant
- ** $p \leq 0.01$ - signifikant
- * $p \leq 0.05$ - schwach signifikant
- n.s. $p \geq 0.05$ - nicht signifikant

4.0 Ergebnisse

4.1 Versuch I

4.1.1 Zootechnische Resultate

4.1.1.1 Klinisches Bild

In der T/S/Tg-frisch-Fettcharge traten sowohl in der Mangel- als auch in der BHT-Gruppe je ein Fall von Encephalomalazie auf. In der T/S/Tg-oxidiert Fettcharge fanden sich jeweils zwei in den oben genannten Gruppen, während in der T/S/Tg-frisch+Cu&Fe Fettcharge nur in der Mangelgruppe zwei Tiere erkrankt waren. Die Symptome der Encephalomalazie setzten nach dem 12. Tag ein. Die histologische Untersuchung des entnommenen Probenmaterials (Cerebrum/Cerebellum) im Institut für Pathologie der Tierärztliche Hochschule Hannover ergab hochgradige Blutungen im Kleinhirn- und Stammhirnbereich sowie herdförmige, gering- bis mittelgradige Demyelinisierung der Nervenzellen.

In den Gruppen, die mit oxidiertem Triglycerid gefüttert wurden, traten gehäuft Umfangsvermehrungen im Bereich der Sprunggelenke auf. Allerdings wurden diese Veränderungen auch bei einigen Tieren, die frisches Fett erhielten, beobachtet. Im Unterschenkelbereich fielen Unterhautblutungen auf. Die betroffenen Gelenke waren zum Teil so geschwollen, daß einige Tiere festlagen und aus Tierschutzgründen euthanasiert werden mußten. Die histologische Untersuchung der veränderten Gelenke ergab teilweise gering- bis mittelgradige subsynoviale Blutungen mit Fibrinbeimengungen im Gelenkspalt. Dies deutet auf eine Arthritis serofibrinosa acuta bis subacuta hin.

4.1.1.2 Futtermittelverzehr

Aus der Tab. 15 und der im Anhang in der Abb. A-1 wiedergegebenen Darstellung ist zu entnehmen, daß die Daten für die Futteraufnahme in allen Gruppen sehr ähnlich waren. Dennoch fällt auf, daß die Verfütterung des oxidierten Fettgemisches aus Talg, Schmalz und Triglycerid (3. Fettcharge) unabhängig von der antioxidativen Ausstattung der Rationen zu den durchschnittlich höchsten Verzehrsraten führte (32.3 g/Tier/Tag). Am deutlichsten zeigte sich dies mit 39.8 g/Tier/Tag in der Mangelgruppe. Die geringste Futteraufnahme ergab sich in den T/S/Tg-frisch-Gruppen, wenn die Fette frisch verabreicht wurden (28.1 g/Tier/Tag). Betrachtet man den Verzehr hinsichtlich des Einflusses der Antioxidantien, so kann überhaupt kein spezifischer Effekt dieser Wirkstoffe festgestellt werden. Durchschnittlich wurden 30 g/Tier/Tag aufgenommen. Auch der Mangel an Antioxidantien führte lediglich zu einem angedeuteten Verzehrsrückgang (29.3 g/Tier/Tag).

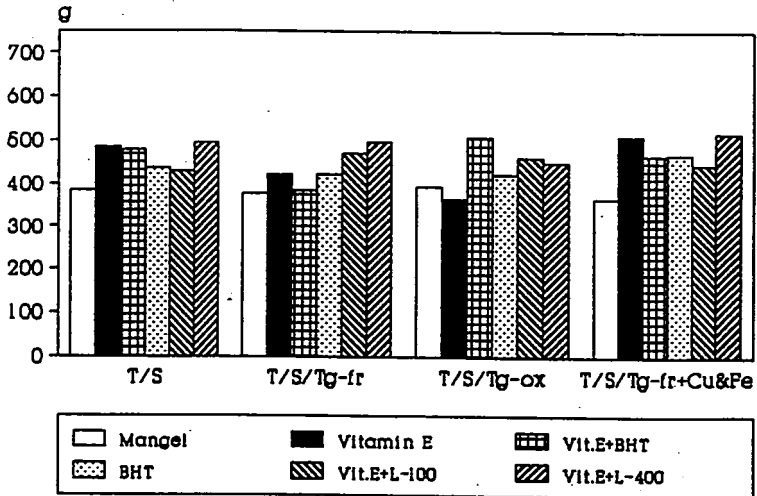
Tab. 15: Futterverzehr
(g/Tier/Tag)

	T/S	T/S/Tg- frisch	T/S/Tg- oxidiert	T/S/Tg- frisch +Cu&Fe	\bar{X} =
Mangel	29.6	25.3	39.8	22.1	29.3
Vitamin E	33.5	27.2	27.1	29.3	29.3
Vit.E+BHT	32.6	28.4	33.0	29.6	30.9
BHT	31.0	28.9	30.3	30.0	30.0
Vit.E+L-100	28.2	28.4	32.3	31.7	30.2
Vit.E+L-400	30.2	30.3	31.2	30.6	30.6
	\bar{X} = 30.8	28.1	32.3	28.9	

Vit.E->25 ppm BHT->150 ppm L-100->100 ppm L-400->40 ppm

4.1.1.3 Körpergewichte

Abb. 10 : Körpergewichte
Am 20. Tag



Die Körpergewichte der Tiere wurden zu Beginn des Experimentes, sowie am 5., 10., 15. und 20. Lebenstag ermittelt. Über die Werte am 20. Lebenstag unterrichtet die Abb. 10. Der ausführlichen Tabelle (Tab. A-2) im Anhang kann die Gewichtsentwicklung der Küken zu den angegebenen Untersuchungszeitpunkten entnommen werden.

Zur Auswertung der Daten für den 20. Lebenstag wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt, wobei die Fettchargen den einen und die antioxidativen Wirkstoffe den anderen Faktor darstellten. Es zeigte sich dabei zunächst, daß die Fettchargen auf die Körpergewichte einen mit $p \leq 0.05$ gesicherten Einfluß ausüben; der Effekt der Antioxidantien und die Interaktionen zwischen Fettchargen und Antioxidantien sind jeweils mit $p \leq 0.001$ hoch gesichert (s. Tab. A-3 im Anhang).

Im einzelnen läßt sich aus der Tab. 16 entnehmen, daß die knapp 10 %ige Erhöhung der durchschnittlichen Körpergewichte der Tiere aus den Gruppen mit der Cu+Fe-Zulage schwach ($p \leq 0.05$) gegenüber den Gewichten der Küken aus den Gruppen, die oxidiertes Fettgemisch (T/S/Tg) erhielten, abgesichert ist.

Tab. 16: Faktor Fett				
16-a: Mittelwerte (g)				
		Rel. Mit.	Rel. zu Stan.	N
T/S	451.4	101.2	100.00	46
T/S/Tg-frisch	432.6	97.0	95.86	43
T/S/Tg-oxidiert	433.0	97.0	95.95	40
T/S/Tg-fr+Cu&Fe	465.4	104.3	103.12	44
16-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls				
Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe	
T/S	n.s.	n.s.	n.s.	
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.	
T/S/Tg-ox			*	

Dagegen lassen sich hinsichtlich der antioxidativen Wirkstoffe (s. Tab. 17) alle Mittelwertdifferenzen gegenüber den Mangelgruppen mit $p \leq 0.01$ absichern, was bedeutet, daß diese mit durchschnittlich 378 g Endgewicht am schlechtesten gewachsen sind. Mit 487.6 g waren die Vit.E+L-400-Tiere am schwersten. Das durchschnittliche Endgewicht dieser Küken lag auch um ca. 15 % ($p \leq 0.05$) höher als das der lediglich mit Vitamin E bzw. BHT versorgten Tiere (437.7 bzw. 446.0 g).

Tab. 17: Faktor Antioxidantien

17-a: Mittelwerte (g)					
		Rel. Mit.	Rel.zu Stan.	N	
Mangel	378.0	85.0	100.00	24	
Vitamin E	446.0	100.0	117.70	31	
Vit.E+BHT	458.7	102.9	121.04	29	
BHT	437.7	98.1	115.50	26	
Vit.E+L-100	451.5	101.2	119.15	32	
Vit.E+L-400	487.6	109.3	128.66	31	

17-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	**	**	**
Vit.E		n.s.	n.s.	n.s.	*
Vit.E+BHT			n.s.	n.s.	n.s.
BHT				n.s.	*
Vit.E+L-100					n.s.

Betrachtet man die Resultate der Interaktionsanalyse, so wird deutlich, daß bei den T/S und den T/S/Tg-gefütterten Broilern diejenigen, die Vit.E+L-400 als Antioxidans erhielten, die höchsten Körpergewichte entwickelten (495 bzw. 496 g). Wie den Tab. 18-b und 18-c zu entnehmen ist, lassen sich die Mittelwertdifferenzen der Vit.E+L-400 Tiere zur Mangelgruppe jeweils gut absichern ($p \leq 0.01$).

Während auf der Basis der T/S-Fütterung auch die Vitamin E- und die Vit.E+BHT-Gruppe signifikant besser wuchsen als die Mangeltiere, war dies bei den T/S/Tg-frisch-Tieren nur bei Verabreichung des Vit.E+L-100-Zusatzes der Fall. Beide mit dem Loxidan-Additiv gefütterten Gruppen erreichten auch signifikant höhere Körpergewichte als die mit Vit.E+BHT versorgten Broiler.

Bei Fütterung der frischen Fettcharge mit Cu- und Fe-Zulage erreichten alle Gruppen, die antioxidative Wirkstoffe erhielten, gesichert höhere Endgewichte als die Mangeltiere. Eine statistische Signifikanz ohne den Spurenelementzusatz war dagegen nur für die Gruppe Vit.E+BHT zu errechnen. Letztere Gruppe sowie die beiden Loxidangruppen (Vit.E+L-100, Vit.E+L-400) hatten hier auch gegenüber der Vitamin E-Gruppe signifikant höhere Endgewichte (s. Tab. 18-d und 18-e)

Die nach dem Student-Neuman-Keuls Test als nicht signifikant befundenen Unterschiede wurden hier und werden im Folgenden nicht näher erörtert.

Tab. 18: Interaktion bei der Betrachtung der Verabreichung verschiedener Antioxidantien auf der Basis einer Fettcharge

18-a: Mittelwerte (g)					
	T/S	T/S/Tg- frisch	T/S/Tg- oxidiert	T/S/Tg frisch +Cu&Fe	
Mangel	384.4	377.8	389.7	365.8	
Vitamin E	485.7	422.1	362.3	511.1	
Vit.E+BHT	478.3	384.4	504.2	466.8	
BHT	436.5	422.2	418.3	468.2	
Vit.E+L-100	429.7	471.0	459.5	445.9	
Vit.E+L-400	495.0	496.2	446.1	516.5	

18-b: Fettcharge : Talg/Schmalz Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	*	*	n.s.	n.s.	**
Vit.E		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vit.E+BHT			n.s.	n.s.	n.s.
BHT				n.s.	n.s.
Vit.E+L-100					n.s.

18-c: Fettcharge : Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	n.s.	n.s.	n.s.	*	**
Vit.E		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vit.E+BHT			n.s.	*	**
BHT				n.s.	n.s.
Vit.E+L-100					n.s.

18-d: Fettcharge : Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
Vit.E		**	n.s.	*	*
Vit.E+BHT			n.s.	n.s.	n.s.
BHT				n.s.	n.s.
Vit.E+L-100					n.s.

18-e: Fettcharge : Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch+Cu&Fe
Differenzen zwischen den Mittelwerten
nach Student-Newman-Keuls

Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	*	*	**
Vit.E		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vit.E+BHT			n.s.	n.s.	n.s.
BHT				n.s.	n.s.
Vit.E+L-100					n.s.

Betrachtet man die Körpergewichtsdifferenzen jeweils auf der Basis der verwendeten Antioxidantien bzw. Antioxidantien-gemische, dann sind die in Tab. 19 wiedergegebenen Daten von Bedeutung. Innerhalb der mit Vitamin E gefütterten Gruppen erbrachte die Fettcharge mit Cu und Fe das höchste durchschnittliche Körpergewicht der Tiere (511.1 g). Die beiden Triglyceridgruppen waren am wenigsten gewachsen (422.0 bzw. 362.3 g), was sich gegenüber der Cu+Fe Gruppe und gegenüber der T/S-Gruppe (485.7 g) jeweils mit $p \leq 0.05$ und $p \leq 0.001$ absichern ließ.

Tab. 19: Interaktion bei der Betrachtung der
Verabreichung verschiedener Fettchargen auf der Basis
eines Antioxidans bzw. einer Antioxidantienmischung

19-a: Mittelwerte (g)						
	Mangel	Vit.E	Vit.E+ BHT	BHT	Vit.E+ L-100	Vit.E+ L-400
T/S	384.4	485.7	478.3	436.5	429.7	495.0
T/S/Tg-fr	377.8	422.0	384.4	422.2	471.0	496.3
T/S/Tg-ox	389.7	362.3	504.2	418.3	459.5	446.1
T/S/Tg-fr+Cu&Fe	365.8	511.1	466.8	468.9	445.9	516.5

19-b: Vitamin E Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls			
Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe
T/S	*	**	n.s.
T/S/Tg-fr		n.s.	*
T/S/Tg-ox			**

19-c: Vitamin E + BHT Gruppen
Differenzen zwischen den Mittelwerten
nach Student-Newman-Keuls

Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe
T/S	*	n.s.	n.s.
T/S/Tg-fr		**	*
T/S/Tg-ox			n.s.

Weitere signifikante Differenzen ließen sich bei den Vit.E+BHT-Gruppen feststellen. Hier zeigten die Tiere der mit oxidiertem Fett (T/S/Tg-oxidiert) gefütterten Gruppe die höchsten Körpergewichte (504.2 g). Sie waren signifikant ($p \leq 0.05$ bzw. $p \leq 0.01$) höher als diejenigen der Cu+Fe-Gruppe (466.8 g) und der T/S/Tg-Gruppe (384.4 g). Für letztere ergab sich auch eine signifikante Differenz zu dem Wert für die Tiere der Talg/Schmalz-(T/S) Gruppe, die durchschnittlich 478.3 g wogen. Auf der Grundlage der anderen Antioxidanzienzulagen ließen sich keine weiteren Körpergewichtsdifferenzen im Hinblick auf die Fettanteile in den Diäten absichern.

4.1.1.4 Futterverwertung

Die Bestimmung der Futterverwertung (s. Tab. 20 und Abb. A-4 im Anhang) erfolgte aus den Gruppenmittelwerten von Futterverbrauch und Körpergewichtszunahme. In der Tab. A-5 sind im Anhang die Werte für die Körpergewichtszunahmen wiedergegeben. Die Daten zum Verzehr befinden sich in Tab. 15 auf S. 55. Da eine Einzeltierhaltung nicht möglich war, ist eine statistische Auswertung der Ergebnisse für den Verzehr und die Futterverwertung nicht sinnvoll.

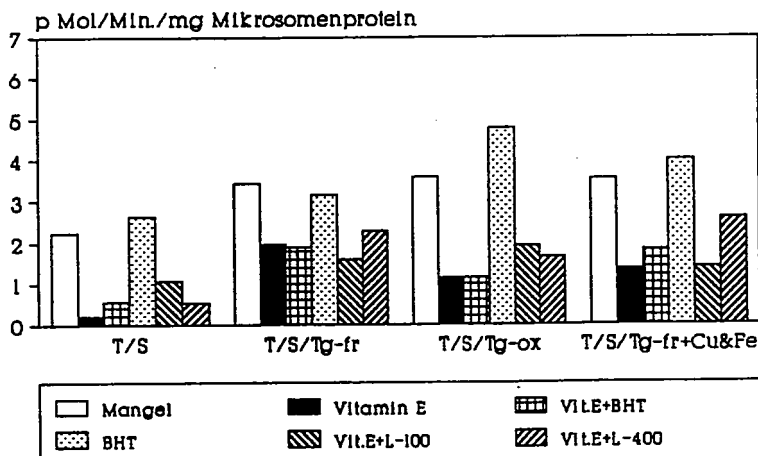
Tab. 20: Futterverwertung

	T/S	T/S/Tg- frisch	T/S/Tg- oxidiert	T/S/Tg- frisch +Cu&Fe	\bar{X} =
Mangel	1: 1.73	1: 1.50	1: 2.01	1: 1.38	1: 1.65
Vitamin E	1: 1.51	1: 1.43	1: 1.48	1: 1.25	1: 1.41
Vit.E+BHT	1: 1.48	1: 1.65	1: 1.29	1: 1.40	1: 1.45
BHT	1: 1.56	1: 1.51	1: 1.43	1: 1.41	1: 1.47
Vit.E+L-100	1: 1.43	1: 1.33	1: 1.39	1: 1.58	1: 1.43
Vit.E+L-400	1: 1.34	1: 1.33	1: 1.38	1: 1.29	1: 1.33
\bar{X} =	1.50	1.45	1.49	1.38	

Im Hinblick auf die Fettchargen hatten die T/S-Gruppen im Mittel die schlechteste und die mit Cu und Fe supplementierten T/S/Tg-frisch-Gruppen die beste Futterverwertung. Hinsichtlich der Antioxidantienzugabe zeigten die Mangelgruppen das weiteste Verhältnis. Nur bei Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Fütterung hatte die Vit.E+BHT-Gruppe mit 1:1.65 und bei Aufnahme der Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch+Cu&Fe-Ration die Vit.E+L-100-Gruppe ungünstigere Werte als die jeweilige Mangelgruppe. Die Vit.E+L-400-Gruppen zeigten durchschnittlich die beste Futterverwertung (1:1.33), dann folgten die Vitamin E und Vit.E+L-100-Gruppen. Das beste Einzelergebnis (1:1.25) konnte für die mit Vitamin E versorgte Gruppe, die Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch+Cu&Fe erhielt, registriert werden. Am ungünstigsten verwerteten die Tiere das Futter, die im Antioxidantien-Mangel gehalten wurden und das oxidierte Talg/Schmalz/Triglycerid erhielten (1:2.01).

4.1.2 Pentanproduktion in Lebermikrosomen

Abb. II : Provozierte Pentanproduktion in Lebermikrosomen nach Zusatz von NADPH und Fe⁺⁺



Die Gruppenmittelwerte der Pentanmessungen sind der Abb. 11 und der Tab. A-6 im Anhang zu entnehmen. Es fällt auf, daß einerseits den jeweiligen Antioxidans-Mangelgruppen hohe Pentanwerte zugeordnet sind, andererseits aber auch die BHT-Kollektive sehr hohe Produktionsraten entwickelten. Desweiteren führte offensichtlich auch die Zulage von linolsäurereichem Triglycerid zur Futterkomponente zu einem Anstieg der Pentanbildung.

Die durchgeführte zweifaktorielle Varianzanalyse macht zunächst deutlich (s. Tab. A-7 im Anhang), daß sowohl der Faktor Fett als auch der Faktor Antioxidans einen hoch signifikanten Einfluß auf den Parameter Pentan ausüben. Auch die Interaktionen der beiden Faktoren ist hoch signifikant.

Untersucht man die aus allen Antioxidantiengruppen gebildeten Mittelwerte der vier Fettchargen, so stellt sich heraus, daß die T/S-Fettcharge die niedrigste Pentanentwicklung aufweist. Sie ist statistisch hoch signifikant niedriger als die der drei Gruppen mit Triglyceriden. Zwischen den drei Gruppen mit Triglyceriden sind dagegen die Mittelwertdifferenzen nicht signifikant (s. Tab. 21).

Tab. 21: Faktor Fett				
21-a: Mittelwerte (pMol/Min./mg Mikrosomenprotein)				
	Mittelwerte	Rel. Mit.	Rel. zu Stan.	N
T/S	1.18	60.10	100.00	44
T/S/Tg-frisch	2.29	117.29	195.15	41
T/S/Tg-oxidiert	2.03	103.63	172.42	39
T/S/Tg-frisch+Cu&Fe	2.36	120.55	200.56	44

21-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls			
Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe
T/S	**	**	**
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.
T/S/Tg-ox			n.s.

Betrachtet man nun die aus den Fettgruppen gebildeten Mittelwerte der einzelnen Antioxidanzzulagen, so ist auffällig, daß alle Gruppen, die Vitamin E in ihrem Futter erhielten, eine signifikant niedrigere Pentanproduktion aufweisen als die beiden ohne Vitamin E versorgten Gruppen (Mangel- und BHT- Gruppe). Nur einmal ist eine hoch signifikante Differenz zwischen der Vitamin E- und Vit.E+L-400-Gruppe zu erkennen, wobei die letztere mehr Pentan produzierte. Die übrigen Vitamin E-Gruppen unterschieden sich hinsichtlich der Pentanproduktion nicht (s. Tab. 22).

Tab. 22: Faktor Antioxidantien

22-a: Mittelwerte (pMol/Min./mg Mikrosomenprotein)

	Mittelwerte	Rel. Mit.	Rel. zu Stan.	N
Mangel	3.08	157.74	100.00	21
Vitamin E	1.14	58.29	36.96	31
V.E + BHT	1.37	70.34	44.59	29
BHT	3.50	179.24	113.63	25
V.E + L-100	1.51	77.51	49.14	31
V.E + L-400	1.73	88.93	56.37	31

22-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten
nach Student-Newman-Keuls

Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	n.s.	**	**
Vit.E		n.s.	**	n.s.	**
Vit.E+BHT			**	n.s.	n.s.
BHT				**	**
Vit.E+L-100					n.s.

Im Folgenden wird hinsichtlich der Pentanbildung die Interaktion zwischen Antioxidantien- und Fettgruppen dargestellt, wobei zunächst die Effekte der Antioxidantien innerhalb der vier Fettgruppen Betrachtung finden (s. Tab. 23).

Auf der Basis der T/S-Fettcharge zeigte sich eine hoch signifikant geringere Pentanproduktion in den vier Vitamin E-Gruppen (Vitamin E, Vit.E+BHT, Vit.E+L-100 und Vit.E+L-400) gegenüber den nicht mit Vitamin E versorgten Kollektiven (Mangel- und BHT- Gruppe). Während die Vitamin E-Gruppe die niedrigste Pentanproduktion entwickelte, ergaben sich für die BHT-Tiere die höchsten Werte. Zwischen den Gruppen, die Vit.E bzw. Vit.E im Gemisch mit anderen Antioxidantien erhielten, ergaben sich keine signifikanten Differenzen bei der Pentanbildung.

Die Betrachtung der Zusammenhänge auf der Basis der T/S/Tg-frisch-Fettcharge führt grundsätzlich zu einem sehr ähnlichen Resultat. Wichtig erscheint lediglich, daß die Einführung der linolsäurehaltigen Triglyceride zu einer erhöhten Ausbeute an Pentan geführt hat. Dies gilt auch für die Vitamin E-Gruppen.

Auch bei der Auswertung der Gruppen, die oxidiertes Triglycerid (T/S/Tg-oxidiert) erhielten, fanden sich bei der Mangel- und der BHT-Gruppe jeweils die höchsten Pentanbildungsraten. In diesem Fall lag der Mittelwert der BHT-Gruppe (4.76 pMol/Min./mg Mikrosomenprotein) allerdings signifikant höher als der der Mangeltiere (3.76 pMol/Min./mg Mikrosomenprotein).

Tab. 23: Interaktion bei der Betrachtung der Verabreichung verschiedener Antioxidantien auf der Basis einer Fettcharge

23-a: Mittelwerte (pMol/Min./mg Mikrosomenprotein)					
	T/S	T/S/Tg-frisch	T/S/Tg-oxidiert	T/S/Tg-frisch +Cu&Fe	
Mangel	2.24	3.43	3.57	3.52	
Vitamin	0.20	1.97	1.14	1.35	
Vit.E+BHT	0.57	1.91	1.15	1.81	
BHT	2.64	3.15	4.76	4.00	
Vit.E+L-100	1.07	1.61	1.92	1.40	
Vit.E+L-400	0.55	2.28	1.65	2.59	

23-b: Fettcharge : Talg/Schmalz Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	n.s.	**	**
Vit.E		n.s.	**	n.s.	n.s.
Vit.E+BHT			**	n.s.	n.s.
BHT				**	**
Vit.E+L-100					n.s.

23-c: Fettcharge : Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	*	*	n.s.	**	*
Vit.E		n.s.	**	n.s.	n.s.
Vit.E+BHT			*	n.s.	n.s.
BHT				**	*
Vit.E+L-100					n.s.

23-d: Fettcharge : Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	*	**	**
Vit.E		n.s.	**	n.s.	n.s.
Vit.E+BHT			**	n.s.	n.s.
BHT				**	**
Vit.E+L-100					n.s.

23-e: Fettcharge : Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch+Cu&Fe
Differenzen zwischen den Mittelwerten
nach Student-Newman-Keuls

Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	* *	* *	n.s.	* *	*
Vit.E		n.s.	* *	n.s.	* *
Vit.E+BHT			* *	n.s.	*
BHT				* *	* *
Vit.E+L-100					* *

Auch in den mit Cu und Fe übertroffenen Gruppen waren die höchsten Pentanwerte bei den Mangel- und BHT-Tieren ermittelt worden. Demgemäß ließen sich die Mittelwerte der mit Vitamin E und den entsprechenden Antioxidansgemischen versorgten Broiler gegen diejenigen dieser beiden Kollektive gut absichern. Für die Vit.E+L-400-Gruppe wurden in diesem Fall auch relativ hohe Pentanwerte registriert (2.59 p Mol/Min./Mikrosomenprotein), die signifikant über denen der Vitamin E-, der Vit.E+BHT- und der Vit.E+L-100-Gruppen lagen.

Betrachtet man die Pentanresultate in den verschiedenen Antioxidans-Gruppen jeweils im Hinblick auf die eingesetzten Fettchargen (s. Tab. 24), so wird deutlich, daß unabhängig von der Versorgung der Tiere mit den Mikronährstoffen die Mittelwerte für die T/S-Gruppen fast durchgängig (mit Ausnahme der Vit.E+L-100 Gruppe) signifikant bis hochsignifikant niedriger liegen als die für die anderen Fettgruppen. Lediglich bei BHT-Fütterung kam es offenbar in den durch Fütterung der oxidativ veränderten (T/S/Tg-oxidiert) und durch Spurenelementzulagen (T/S/Tg-frisch+Cu&Fe) belasteten Triglyceridgruppen zu statistisch gesichert höheren Pentanproduktionsraten, als dies bei Verabreichung des frischen Mischfettes (T/S/Tg-frisch) der Fall war. Daneben existierte nur noch zwischen der Cu+Fe-Gruppe und dem Wert für die Gruppe, die oxidiertes Fett erhielt (s. oben), bei Einsatz von Vit.E+L-400 ein signifikanter Unterschied. Hier war die Pentanbildung bei den Spurenelementtieren um ca. 50 % gegenüber der der Vergleichsgruppe erhöht.

Tab. 24: Interaktion bei der Betrachtung der Verabreichung verschiedener Fettchargen auf der Basis eines Antioxidans bzw. einer Antioxidantienmischung

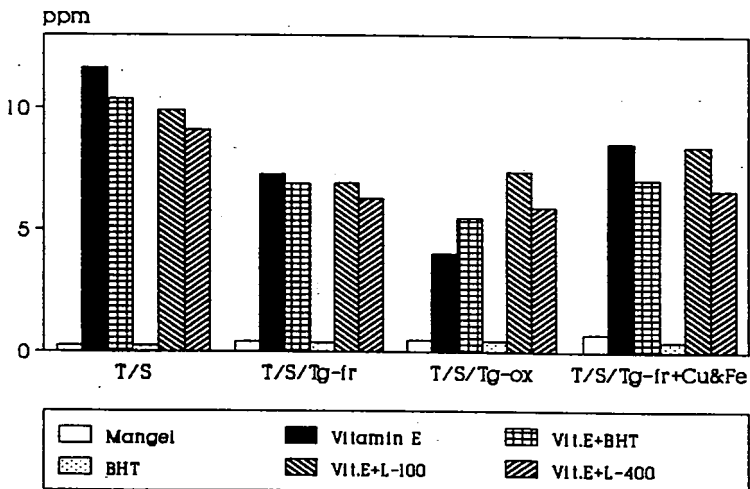
24-a: Mittelwerte (pMol/Min./mg Mikrosomenprotein)						
	Mangel	Vit.E	Vit.E+ BHT	BHT	Vit.E+ L-100	Vit.E+ L-400
T/S	2.24	0.21	0.57	2.64	1.07	0.55
T/S/Tg-fr	3.43	1.97	1.91	3.15	1.61	2.28
T/S/Tg-ox	3.57	1.14	1.15	4.76	1.92	1.65
T/S/Tg-fr+Cu&Fe	3.52	1.35	1.81	4.00	1.40	2.59
24-b: Mangelgruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls						
Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe			
T/S	*	*	**			
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.			
T/S/Tg-ox			n.s.			
24-c: Vitamin E-Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls						
Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg+Cu&Fe			
T/S	**	*	**			
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.			
T/S/Tg-ox			n.s.			
24-d: Vitamin E + BHT-Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls						
Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe			
T/S	**	n.s.	**			
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.			
T/S/Tg-ox			n.s.			
24-f: BHT-Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls						
Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe			
T/S	n.s.	**	**			
T/S/Tg-fr		**	*			
T/S/Tg-ox			n.s.			

24-e: Vit.E + L-400 - Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls			
Fettchargen	T/S/Tg-fr	T/S/Tg-ox	T/S/Tg+Cu&Fe
T/S	* *	* *	* *
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.
T/S/Tg-ox			*

4.1.3 Vitamin E-Gehalte im Lebergewebe

Die Ergebnisse der Vitamin E Bestimmungen sind in der Abb. 12 und in der Tab. A-8 im Anhang wiedergegeben. Ebenso wie die Tiere der Mangelgruppe erhielten die Broiler der BHT-Gruppe keine Vitamin E-Zulage im Futter. Dementsprechend niedrig waren die Werte in beiden Gruppen.

Abb. 12 : Vitamin E Gehalte
im Lebergewebe



Die Varianzanalyse zeigt, daß Fettchargen und Antioxidantien einen hoch signifikanten Einfluß auf die Vitamin E-Speicherung in der Leber haben, der mit $p \leq 0.001$ gesichert ist (s. Tab. A-9 im Anhang). Es besteht gleichfalls eine signifikante Interaktion zwischen beiden Faktoren ($p \leq 0.01$).

Hinsichtlich der verschiedenen Fettchargen (s. Tab. 25) hat Talg/Schmalz zu signifikant höheren Vitamin E-Gehalten ($p \leq 0.01$) in der Leber geführt als alle anderen Futterfette. Erwartungsgemäß wurden in den Organen der Tiere, die das Fettgemisch T/S/Tg-oxidiert erhielten, die geringsten Vitaminmengen festgestellt. Außerdem lagen die Werte für die Gewebe der Broiler, denen die mit Spurenelementen substituierte Fettcharge angeboten worden war (T/S/Tg-frisch+Cu&Fe) ebenfalls hoch signifikant ($p \leq 0.01$) über denen der T/S/Tg-oxidiert-Gruppe. Weitere gesicherte Differenzen der Vitamin E-Gehalte im Lebergewebe existierten nicht.

Tab. 25: Faktor Fett				
25-a: Mittelwerte (ppm)				
	Mittelwerte	Rel. Mit.	Rel.zu Stan.	N
T/S	7.23	136.51	100.00	46
T/S/Tg-fr	4.65	87.93	64.41	47
T/S/Tg-ox	4.01	75.79	55.52	46
T/S/Tg-fr+Cu&Fe	5.29	100.03	73.28	47
25-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls				
Fettchargen	T/S/Tg	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-f+Cu&Fe	
T/S	**	**	**	
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.	
T/S/Tg-ox			**	

Die Küken, die keine Vitamin E-Zulage im Futter hatten (Mangel- und BHT-Gruppe), zeigen erwartungsgemäß die niedrigsten Vitamin E-Gehalte, was gegenüber allen anderen Antioxidantiengruppen für beide Kollektive hoch signifikant ($p \leq 0.01$) abgesichert werden konnte. Weitere Mittelwertdifferenzen erreichten nicht die Signifikanzschwelle (s. Tab. 26).

Tab. 26: Faktor Antioxidantien				
26-a: Mittelwerte (ppm)				
	Mittelwerte	Rel. Mit.	Rel.zu Stan.	N
Mangel	0.47	9.02	100.00	30
Vitamin E	7.91	149.63	1657.86	31
Vit.E+BHT	7.53	142.36	1577.36	31
BHT	0.37	7.00	77.59	31
Vit.E+L-100	8.17	154.47	1711.51	32
Vit.E+L-400	7.02	132.80	1471.40	31

26-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	n.S.	**	**
Vit.E		n.S.	**	n.S.	n.S.
Vit.E+BHT			**	n.S.	n.S.
BHT				**	**
Vit.E+L-100					n.S.

Was über den Einfluß der Antioxidantien auf dem Vitamin E-Gehalt der Leber generell bei Beachtung aller Fettchargen festgestellt werden konnte, gilt auch im Detail bei Betrachtung der Talg/Schmalz-, Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch und der Gruppen mit Spurenelementzulage (T/S/Tg-fr+Cu&Fe) (s. Tab. 27).

Lediglich bei den Tieren der T/S/Tg-oxidiert-Gruppe ließ sich eine zusätzliche Differenz der mittleren Vitamin E-Gehalte in der Leber hoch signifikant absichern. Bei Verabreichung des Vit.E+L-100 Antioxidansgemisches ergab sich mit 7.4 ppm Vitamin E im Gewebe eine signifikant höhere Konzentration des Antioxidans als bei Verfütterung des Vit. E allein (4.06 ppm).

Tab. 27: Interaktion bei der Betrachtung der Verabreichung verschiedener Antioxidantien auf der Basis einer Fettcharge

27-a: Mittelwerte (ppm)				
	T/S	T/S/Tg-frisch	T/S/Tg-oxidiert	T/S/Tg-frisch+Cu&Fe
Mangel	0.27	0.42	0.47	0.73
Vitamin E	11.67	7.29	4.06	8.59
Vit.E+BHT	10.38	6.91	5.49	7.10
BHT	0.25	0.37	0.43	0.41
Vit.E+L-100	9.91	6.95	7.40	8.44
Vit.E+L-400	9.13	6.32	5.96	6.66

27-b:Fettcharge: T/S, T/S/Tg-frisch und T/S/Tg-frisch+Cu&Fe Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	n.S.	**	**
Vit.E		n.S.	**	n.S.	n.S.
Vit.E+BHT			**	n.S.	n.S.
BHT				**	**
Vit.E+L-100					n.S.

27-c: Fettcharge : Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	BHT	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	n.s.	**	**
Vit.E		n.s.	**	**	n.s.
Vit.E+BHT			**	n.s.	n.s.
BHT				**	**
Vit.E+L-100					n.s.

Die statistische Analyse der Vitamin E-Daten auf der Basis der einzelnen gefütterten Antioxidantien bzw. Antioxidantien-gemische macht deutlich, daß in der Regel in allen Gruppen, die entweder allein oder im Gemisch Vitamin E erhielten, die Talg/Schmalz-gefütterten Tiere signifikant höhere Vitamin E-Konzentrationen in der Leber aufwiesen als die Tiere, die andere Fettchargen verzehrten (s. Tab. 28).

Tab. 28: Interaktion bei der Betrachtung der Verabreichung verschiedener Fettchargen auf der Basis eines Antioxidans bzw. einer Antioxidantienmischung						
28-a: Mittelwerte (ppm)						
	Mangel	Vit.E	Vit.E+ BHT	BHT	Vit.E+ L-100	Vit.E+ L-400
T/S	0.26	11.66	10.38	0.25	9.91	9.13
T/S/Tg-fr	0.41	7.28	6.91	0.37	6.94	6.31
T/S/Tg-ox	0.47	4.05	5.49	0.43	7.40	5.95
T/S/Tg-fr+Cu&Fe	0.72	8.59	7.09	0.41	8.44	6.66
28-b: Vitamin E-Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls						
Fettchargen	T/S/Tg	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe			
T/S	**	**	**			
T/S/Tg-fr		**	n.s.			
T/S/Tg-ox			**			
28-c: Vitamin E + BHT-Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls						
Fettchargen	T/S/Tg	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe			
T/S	**	**	**			
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.			
T/S/Tg-ox			n.s.			

28-d: Vitamin E + Loxidan-100 - Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls			
Fettchargen	T/S/Tg	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe
T/S	*	*	n.s.
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.
T/S/Tg-ox			n.s.
28-e: Vitamin E + Loxidan-400 - Gruppen Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls			
Fettchargen	T/S/Tg	T/S/Tg-ox	T/S/Tg-fr+Cu&Fe
T/S	*	**	*
T/S/Tg-fr		n.s.	n.s.
T/S/Tg-ox			n.s.

Die Differenz der Mittelwerte zwischen den Tieren, die T/S/Tg-oxidiert (4.05 ppm) erhielten, und denen, die mit T/S/Tg (7.28 ppm) versorgt waren, konnte lediglich für die Vitamin E-Gruppen abgesichert werden ($p \leq 0.01$). Innerhalb dieser Gruppen lagen wiederum die Daten für die T/S/Tg+Cu&Fe-Tiere (8.59 ppm) signifikant höher als für diejenigen, die T/S/Tg-oxidiert (4.05 ppm) erhielten.

4.2 Versuch II
4.2.1 Zootechnische Resultate
4.2.1.1 Klinisches Bild

Im Hinblick auf den gesundheitlichen Status der Tiere wurden in den Mangelgruppen an 2 Tieren die Symptome einer Enzephalomalazie und bei einigen Tieren Umfangsvermehrungen im Bereich der Sprunggelenke beobachtet.

4.2.1.2 Futtermittelverzehr

Wie in der Tab. 29 und im Anhang in der Abb. A-10 dargestellt wird, war auch im zweiten Fütterungsversuch der Futterverbrauch in den verschiedenen Gruppen sehr wenig unterschiedlich. Der höchste Wert wurde bei der T/S/Tg-frisch-Fettcharge festgestellt, die Vitamin E und dem Fett zugemischte Antioxidantien enthielten (31.5 g/Tier/Tag). Insgesamt zeigte sich dementsprechend im Mittel für die T/S/Tg-frisch-Gruppen (Antioxidans im Fett zugesetzt) der größte Futterverbrauch (29.2 g/Tier/Tag).

Tab. 29: Futtermittelverzehr
(g/Tier/Tag)

	Antioxidantien im Futter		Antioxidantien im Fett		$\bar{X} =$
	T/S/Tg frisch	T/S/Tg oxidiert	T/S/Tg frisch	T/S/Tg oxidiert	
Mangel	25.2	29.6	25.2	29.6	27.4
Vitamin E	31.5	27.2	31.5	27.2	29.4
Vit.E+BHT	29.5	28.1	29.7	27.7	28.7
Vit.E+PG	29.5	29.4	32.4	27.7	29.7
Vit.E+L-100	25.3	29.9	29.3	29.6	28.5
Vit.E+L-400	28.4	26.6	27.2	28.4	27.6
	$\bar{X} = 28.2$	28.5	29.2	28.4	

Vit.E -> 25 ppm BHT -> 150 ppm PG -> 10 ppm
L-100 -> 100 ppm L-400 -> 40ppm

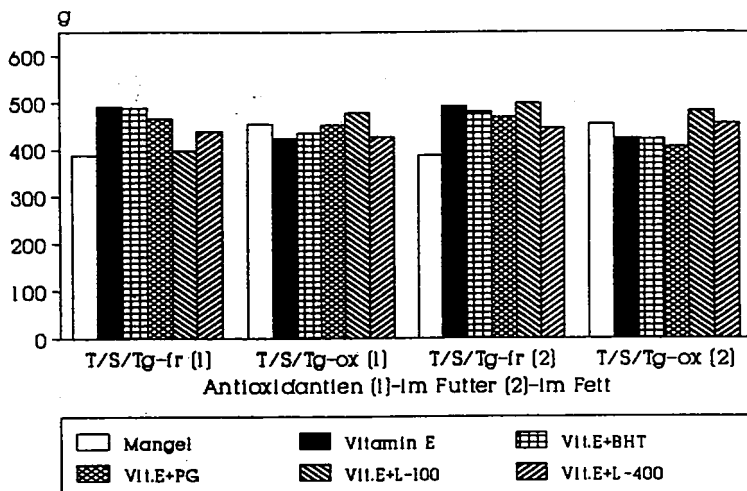
Betrachtet man die Verzehrsergebnisse im Hinblick auf die zugesetzten Antioxidantien (Tab. 29), so ergibt sich ebenfalls eine nur geringe Varianz der Mittelwerte. Die Mangelgruppen haben mit 27.4 g/Tier/Tag am wenigsten und die Gruppen, die Vit.E+PG erhielten, mit 29.9 g/Tier/Tag am meisten verzehrt.

4.2.1.3 Körpergewichte

In Abb. 13 sind die Körpergewichte der Broiler am 20. Tag dargestellt. In der Tab. A-11 im Anhang finden sich Daten zu den Körpergewichten, die zu Beginn, am 5., 10., 15. sowie 20. Lebenstag des Versuches ermittelt wurden. In den T/S/Tg-frisch-Fettchargen ist bei den Mangelgruppen am 20. Tag mit 387 g das niedrigste Körpergewicht feststellbar, während bei den T/S/Tg-oxidiert-Fettchargen die Mangelgruppen im Vergleich zu den Antioxidantiengruppen relativ hohe Körpergewichte erkennen lassen (s. Tab. A-11). Höchste Körpergewichte erzielten im Mittel die Tiere der T/S/Tg-frisch-Fettcharge mit Vit.E-Zusatz (491 g).

Zur Auswertung der Daten über die Körpergewichte am 20. Tag wurde eine dreifaktorielle Varianzanalyse angeführt. Den ersten Faktor bildeten die Fettchargen, den zweiten die Antioxidantiengruppen. Die Art der Zugabe des Fettes zur Futtermischung ergab den dritten Faktor. Das Ergebnis zeigt lediglich eine hohe Signifikanz der Interaktion zwischen Fettcharge und Antioxidantien, die bei $p \leq 0.001$ liegt. Die Zahlenwerte dieser Varianzanalyse sind der Tab. A-12 im Anhang zu entnehmen.

Abb. 13 : Körpergewichte
Am 20. Tag



4.2.1.4 Futterverwertung

In der Tab. 30 sind die einzelnen Gruppenmittelwerte der Futterverwertung dargestellt. Der Anhang enthält mit Abb. A-13 eine zusätzliche graphische Darstellung dieser Resultate. Dort sind ebenfalls in der Tab. A-14 die zur Ausrechnung der Futterverwertung verwendeten Daten über die Körpergewichtszunahmen festgehalten.

Hinsichtlich des Parameters Futterverwertung konnten innerhalb der Fettchargen keine Unterschiede festgestellt werden. Lediglich bei Betrachtung der verschiedenen Antioxidantien-gruppen zeigten die Vit.E+L-100-Gruppen eine vergleichsweise gute Futterverwertung (1: 1.36) gegenüber den anderen Antioxidantiengruppen. Die ungünstigsten Daten gehörten zu den Vit.E+PG-Gruppen in den T/S/Tg-frisch und oxidiert-Fettchargen, wenn die synthetischen Antioxidantien dem Fett beigemischt waren.

Tab. 30: Futtermittelverwertung
1 :

	Antioxidantien im Futter		Antioxidantien im Fett		$\bar{X} =$
	T/S/Tg frisch	T/S/Tg oxidiert	T/S/Tg frisch	T/S/Tg oxidiert	
Mangel	1: 1.46	1: 1.44	1: 1.46	1: 1.44	1: 1.45
Vitamin E	1: 1.41	1: 1.43	1: 1.41	1: 1.43	1: 1.42
Vit.E+BHT	1: 1.32	1: 1.43	1: 1.36	1: 1.46	1: 1.39
Vit.E+PG	1: 1.40	1: 1.44	1: 1.53	1: 1.53	1: 1.47
Vit.E+L-100	1: 1.43	1: 1.37	1: 1.29	1: 1.35	1: 1.36
Vit.E+L-400	1: 1.44	1: 1.39	1: 1.35	1: 1.38	1: 1.39
$\bar{X} =$	1.41	1.41	1.40	1.43	

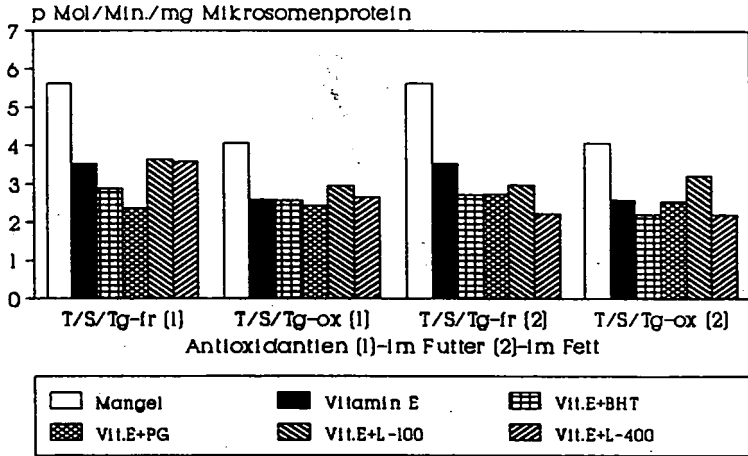
4.2.2 Pentanproduktion in Lebermikrosomen

Entsprechend den Resultaten im ersten Fütterungsversuch konnten auch in diesem Experiment die höchsten Pentanwerte in den Mangelgruppen registriert werden (s. Abb. 14 und im Anhang die Tab. A-15). Diese Werte lagen bei den T/S/Tg-frisch-Fettgruppen im Mittel bei 5.63 p Mol/Min./mg Mikrosomenprotein und bei den T/S/Tg-oxidiert-Fettgruppen bei 4.07 p Mol/Min./mg Mikrosomenprotein.

Die T/S/Tg-frisch-Fettcharge wies demnach eine höhere Pentanproduktion auf als die T/S/Tg-oxidiert-Fettcharge. Die dreifaktorielle Varianzanalyse zur Pentanproduktion zeigte, daß die Faktoren Fettcharge und Antioxidantien signifikante bzw. hochsignifikante Einflüsse auf die Pentanentwicklung ($p \leq 0.01$ und $p \leq 0.001$) haben. Im Gegensatz zum ersten Fütterungsversuch wurde keine Interaktion zwischen den genannten zwei Faktoren festgestellt (s. Tab. A-16).

Der Student-Newman-Keuls Test bestätigt (s. Tab. 31), daß die T/S/Tg-frisch-Fettcharge im Vergleich zur T/S/Tg-oxidiert-Fettcharge eine signifikant ($p \leq 0.01$) höhere Pentanproduktion verursachte.

Abb. 14 : Provozierte Pentanproduktion
in Lebermikrosomen nach Zusatz von
NADPH und Fe⁺⁺



Tab. 31: Faktor Fett

31-a: Mittelwerte (pMol/Min./mg Mikrosomenprotein)

	Mittelwerte	Rel. Mit.	Rel. zu Stan.	N
T/S/Tg-frisch	3.393	108.889	100.00	71
T/S/Tg-oxidiert	2.842	91.235	83.79	72

31-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten
nach Student-Newman-Keuls

Fettchargen	T/S/Tg-oxidiert
T/S/Tg-frisch	**

Auch im Hinblick auf die Anwendung des Testverfahrens innerhalb der Antioxidantiengruppen, wird der oben beschriebene Eindruck aus der graphischen Darstellung bestätigt. Die Mangelgruppen zeigten die höchste Pentanproduktion. Die Daten konnten hoch signifikant ($p \leq 0.001$) gegenüber allen anderen Antioxidantiengruppen abgesichert werden (s. Tab. 32).

Tab. 32: Faktor Antioxidantien				
32-a: Mittelwerte (pMol/Min./mg Mikrosomenprotein)				
	Mittelwerte	Rel. Mit.	Rel. zu Stan.	N
Mangel	4.77	153.39	100.00	22
V.E	3.09	99.40	64.80	26
V.E+BHT	2.59	83.27	54.29	24
V.E+PG	2.51	80.73	52.63	24
V.E+L-100	3.19	102.26	66.91	24
V.E+L-400	2.63	84.40	55.02	23

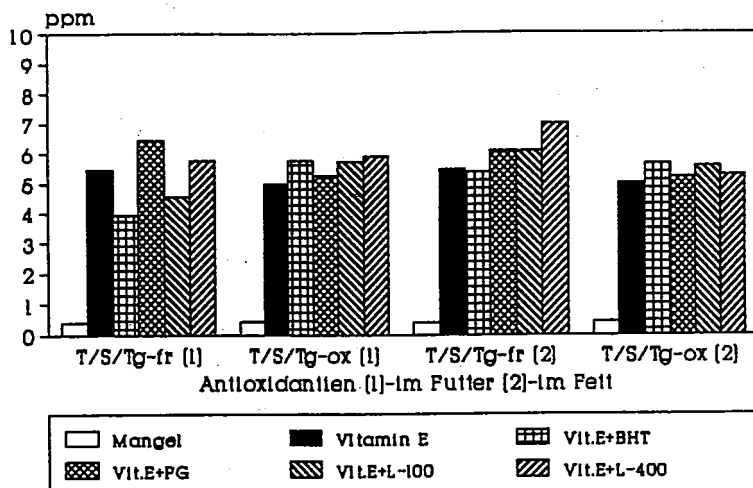
32-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls					
Antioxidantien	VE	VE+BHT	VE+PG	VE+L100	VE+L400
Mangel	* *	* *	* *	* *	* *
Vit.E		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vit.E+BHT			n.s.	n.s.	n.s.
Vit.E+PG				n.s.	n.s.
Vit.E+L-100					n.s.

4.2.3 Vitamin E-Gehalte im Lebergewebe

Die Abb. 15 gibt die Ergebnisse der Bestimmung des α -Tocopherols in der Leber wieder. Einzeldaten sind der Tab. A-17 im Anhang zu entnehmen. Bei den Mangelgruppen, die im Futter keine Vitamin E-Zulage hatten, waren in der Leber im Vergleich zu normal versorgten Tieren deutlich geringere Vitamin E-Gehalte meßbar.

Hier ergab nur der Faktor Antioxidantien in der dreifaktoriellen Varianzanalyse einen hoch signifikanten Einfluß ($p \leq 0.001$) auf die Vitamin E-Retention in der Leber. Die anderen Faktoren hatten keinen Einfluß auf das Merkmal. Es bestanden auch keine Interaktionen zwischen diesen und der Vitamin E-Retention in der Leber. Die Daten der Varianzanalyse sind in der Tab. A-18 im Anhang wiedergegeben.

Abb. 15 : Vitamin E Gehalte
im Lebergewebe



Tab. 33: Faktor Antioxidantien

33-a: Mittelwerte (ppm)

	Mittelwerte	Rel. Mit.	Rel. zu Stan.	N
Mangel	0.42	8.84	100.00	22
Vitamin E	5.23	109.01	1240.38	28
Vit.E+BHT	5.19	108.94	1232.03	26
Vit.E+PG	5.76	120.82	1366.37	25
Vit.E+L-100	5.48	114.93	1299.73	24
Vit.E+L-400	5.95	124.90	1412.55	25

33-b: Differenzen zwischen den Mittelwerten
nach Student-Newman-Keuls

Antioxidantien	VE	VE+BHT	VE+PG	VE+L100	VE+L400
Mangel	**	**	**	**	**
Vit.E		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vit.E+BHT			n.s.	n.s.	n.s.
Vit.E+PG				n.s.	n.s.
Vit.E+L-100					n.s.

Die Analyse der Daten mit dem Student-Newman-Keuls Test bestätigten den hoch signifikanten Unterschied ($p \leq 0.001$) zwischen den Vitamin E-Gehalten in den Lebern der Mangeltiere und den anderen (s. Tab. 33).

4.3 Versuch III

In dem als Versuch III gekennzeichneten Experiment wurden die beiden Fettchargen T/S/Tg-frisch bzw. T/S/Tg-oxidiert eingesetzt und die Antioxidanzienzusätze Vitamin E bzw. Vit.E+L-100 überprüft, wobei Vitamin E als Spray dried bzw. als Adsorbat zum Einsatz kam. Weil das im Versuch II verwendete Vitamin E als Adsorbat zur Anwendung kam, mußten lediglich vier neue Versuchsgruppen für den Versuch III gehalten werden. Da das Experiment gleichzeitig mit Versuch II lief, konnten die Daten zur statistischen Berechnung für die Adsorbat-Tiergruppen von dort übernommen werden.

4.3.1 Zootechnische Resultate

4.3.1.1 Klinisches Bild

Es konnten keine von der Norm abweichenden Beobachtungen gemacht werden.

4.3.1.2 Futtermittelverzehr

Tab. 34: Futtermittelverzehr
(g/Tier/Tag)

	T/S/Tg-frisch	T/S/Tg-oxidiert	$\bar{X} =$
Vitamin E ^{AD}	31.5	27.2	29.3
Vit.E ^{AD} +L-100	25.3	29.9	27.6
Vitamin E ^{SD}	22.3	26.6	24.4
Vit.E ^{SD} +L-100	30.7	28.8	29.7
$\bar{X} =$	27.4	28.1	

Vit.E - Adsorbat/Spray dried je 25 ppm L-100 → 100 ppm

In der Tab. 34 ist der Futtermittelverbrauch dargestellt. Eine entsprechende Graphik ist dem Anhang A-19 beigelegt. Die mittlere Futtermittelaufnahme hinsichtlich der beiden Fettchargen ist nur wenig unterschiedlich. In Bezug auf den Einfluß der Antioxidanzien konnte eine relativ niedrige Verzehrsrate (24.4 g/Tier/Tag) bei der Fütterung der Vit. E^{AD}- Qualität

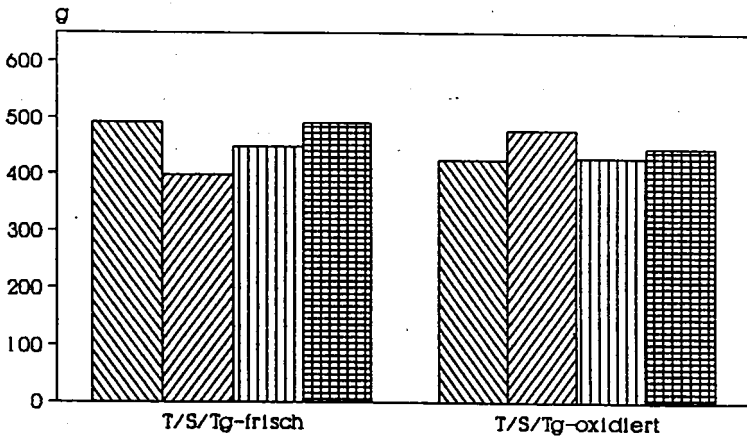
registriert werden. Aus den früher genannten Gründen war für dieses Merkmal eine statistische Auswertung nicht sinnvoll.

4.3.1.3 Körpergewichte

In der Abb. 16 sind die mittleren Körpergewichte vom 20. Tag graphisch dargestellt. Der Anhang enthält (Tab. A-20) außerdem die Werte der Körpergewichte vom Anfang des Experimentes, vom 5., 10., 15. und 20. Lebenstag, sowie die täglichen Gewichtszunahmen (Tab. A-22).

Insgesamt läßt sich sagen, daß sich beiden dargestellten Mittelwerten zwar Unterschiede andeuten, diese aber in der durchgeführten dreifaktoriellen Varianzanalyse nicht abgesichert werden konnten (s. Tab. A-21 im Anhang).

Abb. 16 : Körpergewichte
am 20. Tag



 VE-Ad
  VE-Ad + L-100
  VE-Sd
  VE-Sd + L-100

Ad - Adsorbat Sd - Spray dried

4.3.1.4 Futterverwertung

In der Tab. 35 sind die Zahlen zur Futterverwertung wiedergegeben. Die Daten über die Körpergewichtszunahmen, die zur Berechnung der Futterverwertung notwendig waren, können der Tab. A-22 im Anhang entnommen werden.

Es ist bemerkenswert, daß die Vit.E^{SD}-Gruppen ohne Loxidan TD-100-Zusatz, welche den geringsten Futterverzehr aufweisen, gleichzeitig mit 1:1.24 die beste Futterverwertung erzielten.

Tab. 35: Futterverwertung
1 :

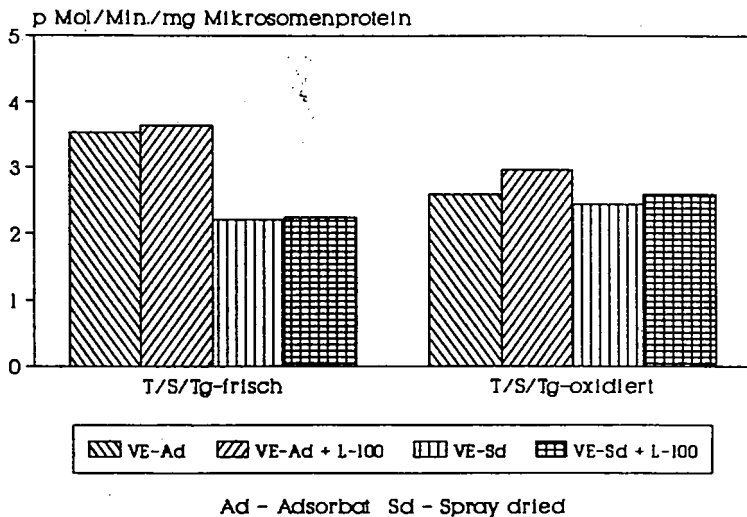
	T/S/Tg frisch	T/S/Tg oxidiert	\bar{X} =
Vitamin E ^{AD}	1: 1.41	1: 1.43	1.42
Vit.E ^{AD} +L-100	1: 1.43	1: 1.37	1.40
Vitamin E ^{SD}	1: 1.10	1: 1.38	1.24
Vit.E ^{SD} +L-100	1: 1.37	1: 1.43	1.40
\bar{X} =	1.32	1.40	

4.3.2 Pentanproduktion in Lebermikrosomen

Die Ergebnisse der Pentanmessung sind in Abb. 17, Einzeldaten in der Tab. A-23 im Anhang dargestellt.

Die graphische Darstellung läßt erkennen, daß die Vit.E^{SD}-Gruppen (mit oder ohne L-100-Zusatz) eine niedrigere Pentanproduktion als die Vit.E^{AD}-Gruppen entwickelten. Entsprechend konnte ein Vit.E-Sorteneffekt in der Varianzanalyse und anschließendem Student-Newman-Keuls Test als schwach signifikant ($p \leq 0.05$) verifiziert werden (s. Tab. A-24 und Tab. 36).

Abb. 17 : Provozierte Pentanproduktion
in Lebermikrosomen nach Zusatz von
NADPH und Fe⁺⁺

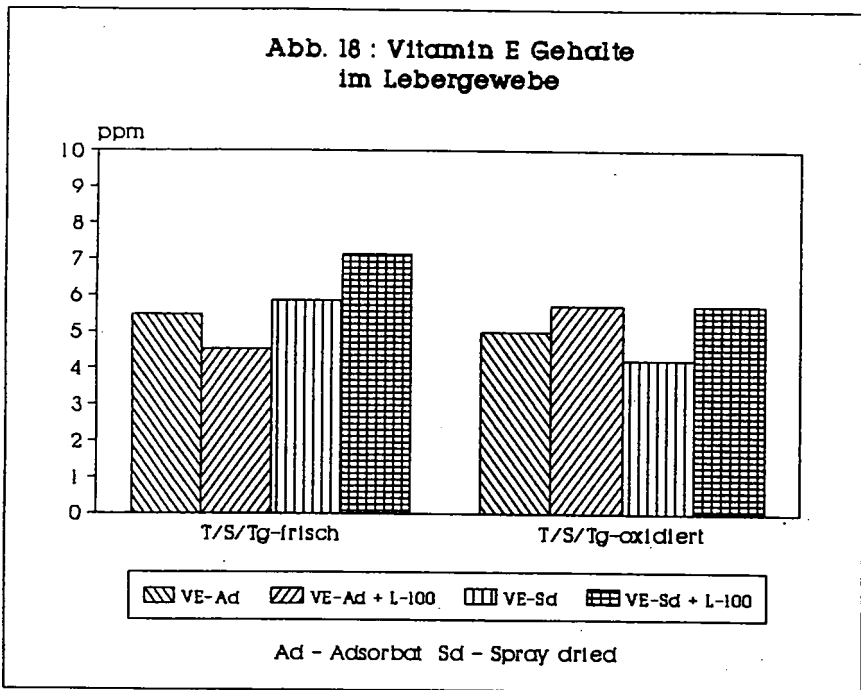


Tab. 36: Faktor Vitamin E - Sorte

36-a: Mittelwerte (ppm)				
	Mittelwerte	Rel. Mit.	Rel. zu Stan.	N
Vit. E - Adsorbat	3.19	114.70	100.00	25
Vit. E - Spray dried	2.35	84.68	73.83	24
36-b : Differenzen zwischen Mittelwerten nach Student-Newman-Keuls				
Antioxidantien	Vitamin E - Spray dried			
Vitamin E - Adsorbat	*			

4.3.3 Vitamin E Gehalte im Lebergewebe

Die Ergebnisse der α -Tocopherol-Bestimmung sind aus der Abb. 18 und der Tab. A-25 im Anhang ersichtlich.



Die Darstellung weist darauf hin, daß mit Hilfe des Frischfettangebotes die Vit.^{ESD}+L-100-Substitution zu den höchsten Vitamin E-Ablagerungen (7.12 ppm) im Lebergewebe geführt hat. Es konnte jedoch kein genereller Effekt der Vitamin E-Qualität auf die Retention im untersuchten Gewebe dargestellt werden (s. Tab. A-26).

5.0 Diskussion

5.1 Wahl des Modells

Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit ist die Erhebung von Daten zum pro- und antioxidativen Stoffwechsel des Broilers nach Durchführung eines Fütterungsexperimentes mit verschiedenen Antioxidantien. Diese ex-vivo Daten sollen Aufschluß über die Effektivität der geprüften Antioxidantien geben. Die Resultate zur Körpergewichtsentwicklung standen nicht im Vordergrund des Interesses, da Versuchsanlage und Tierzahlen auf eine solche Erhebung nicht ausgelegt waren. Es ergeben sich jedoch besonders im ersten Versuch interessante Hinweise.

In dieser Studie wurde die Pentanproduktion aus Leberzellorganellen nach enzymatischer Provokation in einem in vitro-Testansatz mit einer von TIEN u. AUST (1982) für die kleinen Nager beschriebenen und an die Verhältnisse des Huhnes angepaßten Methode untersucht. Das mit dieser Technik gemessene Pentan erlaubt keine Aussage über die aktuelle Peroxidationsrate selbst, sondern muß als ein Parameter für die "Oxidationsneigung" eines Gewebes interpretiert werden (Zit. nach SPENDEL, 1988).

Die flüchtigen Alkane, vorwiegend Ethan und Pentan, sind schon lange als offensichtlich gute Indikatoren für die endogene Lipidperoxidation bekannt (HORVAT, 1964; RIELY et al., 1974; DUMELIN u. TAPPEL, 1977; HAFEMANN u. HOKESTRA, 1977; GEE u. TAPPEL, 1981; HERSCHBERGER u. TAPPEL, 1982; FILSER et al., 1983; GAVINO et al., 1984; WISPE et al., 1985).

Hier wurde die Pentanproduktion gewählt, da sie hinsichtlich des methodischen Aufwands und insbesondere wegen der hohen Spezifität gegenüber anderen, z.B. kolorimetrischen Nachweisverfahren Vorteile aufweist. Auch die Erfassung des Alkans Ethan war in Erwägung zu ziehen. Obwohl für diesen Parameter wegen der kurzen Kohlenstoffkette der Störfaktor einer Verstoffwechslung noch geringer anzusetzen ist (FROMMER et al., 1970; SMITH et al., 1982; LAWRENCE u. COHEN, 1984), als für das Pentan, war die Analytik des letzteren angezeigt, weil durch wesentlich höhere Konzentrationen (Ethan:Pentan=1:10) der Analysenfehler entsprechend kleiner gehalten werden konnte.

Für eine Bestimmung der tatsächlich in vivo vorhandenen Alkankonzentrationen im Lebergewebe ist auch dieses Verfahren noch zu grob. Hier müssen offensichtlich höchstempfindliche biophysikalische Verfahren (Chemilumineszenz: MIYAZAWA et al., 1983) eingesetzt werden, die derzeit im Institut aber noch nicht zur Verfügung stehen.

Wichtiger Parameter für die antioxidative Kapazität eines Gewebes ist der α -Tocopherolgehalt. Die Bestimmung des α -Tocopherolgehaltes erfolgte nach erprobten Methoden über HPLC.

5.2 Versuch I

Im ersten Versuch sollte die Effektivität verschiedener Antioxidantien und ihre eventuelle Abhängigkeit von den Eigenschaften des Futterfettes geprüft werden. Die Parameter waren zootecnische Daten, mikrosomale Pentanproduktion und Vitamin E-Retention.

Eine Vitamin E-Unterversorgung führte in den Mangel- und BHT-Gruppen, die Triglyceride im Futter erhielten, sowie der T/S/Tg-oxidiert-Fettcharge zu Enzephalomalazien. Dieses Resultat stimmt mit den Angaben von DAMM (1962), BRUCKNER (1983) und STEGMANN (1987) überein, die feststellten, daß linolsäurereiche Fette den Krankheitsverlauf initiieren bzw. beschleunigen können. Auch extrem erhitztes (> 200 °C) Sojaöl eignet sich sehr gut, die nutritive Enzephalomalazie des Kühens hervorzurufen (BUDOWSKI et al., 1979).

Nach der Verfütterung des oxidierten Öls wurden, unabhängig von der Antioxidanzienzulage, einzelne Gelenkverdickungen (Arthritis serofibrinosa acuta bis subacuta) beobachtet. Diese Erscheinungen deuten auf eventuelle Intoxikationen hin, die durch die Aufnahme von Sekundärprodukten, wie mittel- und langkettige Aldehyde und Ketodiene, ausgelöst sein könnten. Auch eine Interaktion der Lipoperoxide mit oxidationsgefährdeten Mikronährstoffen, wie Vitamin D (VORECK u. KIRCHGESSNER, 1981; ESTERBAUER, 1982; OHFUJI u. KANEDA, 1973; MIYASHITA et al., 1982 a und b) kommt in Frage. Nach den Untersuchungen von STEGMANN (1987) spielt jedoch das Vitamin A in Bezug auf Wachstumsdepression und Arthritis keine Rolle.

Die Daten für die Futterraufnahme waren in allen Gruppen sehr ähnlich. Dennoch deutet sich im ersten Tierversuch an, daß die Verfütterung des oxidierten Fettgemisches aus Talg, Schmalz und Triglycerid unabhängig von der antioxidativen Ausstattung der Rationen zu den durchschnittlich höchsten Verzehrswerten bei relativ schlechter Futterverwertung führte. Betrachtet man die Verzehrsresultate hinsichtlich des Einflusses der zugesetzten Antioxidantien, so kann kein spezifischer Effekt dieser Wirkstoffe festgestellt werden. Auch der Mangel an Antioxidantien führte lediglich zu einem ange deuteten Verzehrsrückgang.

Bei den verschiedenen Fettqualitäten erbringt die T/S/Tg-frisch+Cu&Fe-Fettcharge die höchsten Körpergewichte auf. Sie sind signifikant höher gegenüber den mit oxidiertem Fett gefütterten Gruppen. Die Erzielung höherer Körpergewichte durch diese Fettcharge läßt sich durch die anabole Wirkung des Kupfers erklären, wie auch SCHOLE et al. (1978) und SCHOLE (1982) berichtet haben. Ein peroxidativer Effekt von Cu und Fe, wie durch die Zulage beabsichtigt, war nicht festzustellen.

Die Literaturangaben zu Fütterungsversuchen mit oxidierten Fetten zeigen große Unterschiede. Sie reichen von einer praktisch symptomlosen Verträglichkeit über mehr oder weniger schwere Wachstumsverzögerungen bis zu einer hohen Toxizität. Broilerküken zeigten in Fütterungsexperimenten gegenüber oxidiertem Fischöl (zu 15% in der Diät), oxidiertem Fleischnmehl (17% Fettanteil) bzw. ranzigem Rindertalg (zu 8% in der Diät), bei allerdings moderater Veränderung der Fette (POZ=19-218), eine bemerkenswerte Resistenz (zit. nach SALLMANN u. FUHRMANN, 1990).

HARTFIEL (1981) und ESCHENBACH (1984) fanden bei der Verfütterung oxidierten Sojaöles (8% der Diät) keine Beeinträchtigung der Mastleistung der Tiere. Allerdings lag die POZ des von beiden Autoren verwendeten Sojaöles nur bei 90 bzw. 180. Auch in der vorliegenden Arbeit wurde zwischen der frischen (POZ=1) und oxidierten (POZ=400) Triglycerid-Fettcharge in Bezug auf das Körpergewicht kein signifikanter Unterschied gefunden. Dies ist vermutlich zu erklären durch die Verwendung eines Fettgemisches, in dem die Komponente des tierischen Fettes nicht oxidiert war.

Andererseits führte die Fütterung von peroxidhaltigem Mais (POZ=108) an Legehennen zu starken Leistungseinbrüchen (Knick- und Windeier) und Krankheitszuständen, wie reduzierter Futteraufnahme, Apathien, Ataxie und Durchfall (VORECK u. KIRSCHGESSNER, 1981). Hoch oxidiertes, linolsäurereiches Sojaöl (POZ \geq 400, 10% der Diät) löste beim jungen Broiler, unabhängig von der Vitamin E-Versorgung, einen reduzierten Futterverzehr und Wachstum-depressionen aus (FREUDENFELD, 1985).

Eine Zumischung von natürlichen oder synthetischen Antioxidantien zur Ration führte zu ausnahmslos höheren Körpergewichten im Vergleich zur Mangelgruppe, dieses ist in Übereinstimmung mit den Resultaten von SOLARO (1983), STEGMANN (1987) und ENGL (1988). Die Tiere mit dem höchsten Körpergewicht waren diejenigen, die als Antioxidansmischung Vit.E+L-400 erhielten. Diese Tiere hatten ein signifikant höheres Körpergewicht als die mit reinem Vitamin E gefütterten.

Es ist auf einen interessanten Unterschied zwischen der Verfütterung frischen und oxidierten Fettes hinzuweisen. In der frischen Fettcharge führte eine Mischung aus Vitamin E und Loxidan TL-100 bzw. TD-400 zu signifikant höheren Körpergewichten im Vergleich zur Verfütterung von der Mischung aus Vit.E+BHT, während in der oxidierten Fettcharge die höchsten Körpergewichte bei einer Mischung von Vitamin E mit den künstlichen Antioxidantien (BHT, L-100 und L-400) auftraten.

Aus den Daten zur Körpergewichtsentwicklung läßt sich vorsichtig schließen, daß die künstlichen Antioxidantien besonders bei der Verfütterung oxidierten Fettes eine positive Wirkung ausüben. Dies stellten auch BARTOV u. BORNSTEIN (1972a)

fest. Dieselben Autoren (1978) unterstreichen, daß das künstliche Antioxidans auf die Futterfettkomponente abgestimmt sein sollte. Die Gabe von Vit.E+BHT scheint dagegen bei frischem Futterfett eher nachteilig zu sein.

Hinsichtlich der mikrosomalen Pentanproduktion fällt auf, daß einerseits den jeweiligen Antioxidans-Mangelgruppen hohe Pentanwerte zugeordnet sind, andererseits aber auch die BHT-Kollektive sehr hohe Produktionsraten entwickelten. Dies stimmt mit den Beobachtungen verschiedener Autoren überein, daß vor allem Vitamin E die Entwicklung der endogenen Lipidperoxidation einschränkt (HAFEMAN u. HOEKSTRA, 1972; DILLARD et al. 1977; DOWNEY et al. 1977; DUMELIN et al. 1978; SAGEI u. TAPPEL, 1978; DOUGHRERTY et al. 1981; GEE u. TAPPEL, 1981; LAWRENCE u. COHEN 1981; TAPPEL u. DILLARD, 1981; GAVINO et al. 1985; STEGMANN, 1987). Dagegen stellen BARTOV u. BORNSTEIN (1977) für die Stabilität von Körperfett und Muskulatur eine bessere Wirkung der künstlichen Antioxidantien heraus.

Desweiteren führte offensichtlich auch die Zulage von linolsäurereichem Triglycerid zur Fettkomponente zu einem Anstieg der Pentanbildung, wohingegen eine reine T/S-Fütterung durch ihren geringen Gehalt an Ω -6 Fettsäuren nur eine niedrige Pentanausbeute zeigt (DUMELIN u. TAPPEL, 1977; KIVITS et al., 1981; KAPPUS u. MULIAWAN, 1982; STEGMANN, 1987). Dies ist einsichtig, da das Substrat für die mikrosomale Pentanproduktion die Membran-Phospholipide sind. Das Fettsäuremuster dieser Phospholipide der Leber wird durch das verfütterte Fett beeinflusst (NIESAR, 1965; SPENDEL, 1988).

Die Küken, die Vitamin E in ihrem Futter erhielten, wiesen erwartungsgemäß eine signifikant niedrigere Pentanproduktion auf als die beiden ohne Vitamin E versorgten Gruppen (Mangel- und BHT-Gruppe). Außerdem besteht eine hoch signifikante Differenz zwischen der Vitamin E- und Vit.E+L-400-Gruppe, wobei letztere mehr Pentan produzierte. Dies korrespondiert mit einer tendenziell niedrigeren Vitamin E-Retention in den L-400-Gruppen. Eine reine BHT-Fütterung bei Gabe von oxidiertem T/S/Tg führt im Vergleich zur Mangelgruppe zu höheren Pentanwerten, die Vitamin E-Retention dagegen ist gleich niedrig (Tab. 27). Bei Verabreichung von T/S/Tg-frisch+Cu&Fe-Fettcharge wird dies besonders deutlich. Dort hat die Vit.E+L-400-Gruppe eine signifikant höhere Pentanproduktion als alle anderen Vitamin E gefütterten Gruppen. Bei Gabe von BHT allein erbringt die T/S/Tg-frisch+Cu&Fe-Fettcharge relativ hohe Pentanwerte. Dies deutet möglicherweise auf einen prooxidativen Effekt der Cu&Fe-Zulage hin, wenn BHT allein als Antioxidans verwendet wird.

Die α -Tocopherolgehalte in der Leber waren mit der Zulage im Futter direkt korreliert. Hinsichtlich der verschiedenen Fettchargen führte Talg/Schmalz zu signifikant höheren Vitamin E-Gehalten in der Leber. Erwartungsgemäß zeigten die Resultate

der Vitamin E-Analysen reduzierte Retentionswerte bei Verabreichung des oxidierten Fettes. Dies war signifikant für die Gewebe der Broiler, denen die mit Spurenelementen angereicherte Fettcharge angeboten worden war. Die Absenkung der Vitamin E-Retention durch oxidierte Futterfette beobachteten auch SOLARO (1983) und STEGMANN (1987) beim Broiler, für das Schwein gilt offenbar der gleiche Zusammenhang (KÜCKE, 1983; HEGGEMANN, 1985). Ohne Einfluß auf Vitamin E bleiben oxidierte Fette in den Geglügelstudien von ESCHENBACH (1984).

Die geringen Vitamin E-Speicher während der Verabreichung des oxidierten Öles können beim Huhn vor allem im Hinblick auf die Encephalomalazie zu einer kritischen Situation der Tiere führen. Die Wachstumsdefizite stellen sich aber unabhängig von der Vitamin E-Versorgung ein, wobei ebenfalls langsamer wachsende mit dem Vitamin gut versorgte Tiere (75 ppm Vitamin E) immerhin gleich viel Vitamin E in die Leber einlagerten wie mit handelsüblichem Futter (ca. 30 ppm Vitamin E) versorgte Kontrollküken (SALLMANN et al., 1988).

Die Ursachen für die verminderten Vitamin E-Retentionen konnten bislang nicht eindeutig nachgewiesen werden. In diesem Zusammenhang wird die Oxidation des Wirkstoffes vor Erreichen der Zellorgane diskutiert. Hier ist in erster Linie die Oxidation nativer Vitamingehalte während der Lagerung durch oxidierte Fette zu nennen (CONNOLLY et al., 1970). Diese Möglichkeit ist hier aber unwahrscheinlich, da oxidationsgeschützte Tocopherylester während der Lagerung in Mischungen mit oxidierten Fetten stabil sind (SOLARO, 1973). Über die Möglichkeit einer Oxidation des α -Tocopherol nach Hydrolyse des Esters im Intestinaltrakt (SOLARO, 1983; IZAKI et al., 1984; HEGGEMANN, 1985) kann bisher nur spekuliert werden.

Die Küken, die keine Vitamin E-Zulage im Futter hatten (Mangel- und BHT-Gruppe), zeigten erwartungsgemäß die niedrigsten Vitamin E-Gehalte. Bei Verfütterung von oxidiertem Fett führt eine Mischung von Vitamin E+L-100 zu größeren Mengen von Vitamin E in der Leber, als dies eine reine Vitamin E-Fütterung tut. Dies wurde im zweiten Versuch tendenziell bestätigt. Möglicherweise schützt L-100 das verfütterte Vitamin E besonders gut im Gegenwart oxidierten Fettes. BARTOV u. BORNSTEIN (1981) betonen dagegen die Wirksamkeit von Ethoxyquin und BHT auch bei der Gabe frischen Fetts, wobei BHT nur in einer fettfreien Diät wirken soll.

In den allein mit Vitamin E gefütterten Gruppen hat die T/S/Tg-frisch-Fettcharge signifikant höhere Vitamin E-Leberwerte als die T/S/Tg-oxidiert, wie dies aus früheren Untersuchungen bekannt ist (STEGMANN, 1987).

5.3 Versuch II

Gegenstand des zweiten Versuchs war die Wirksamkeit verschiedener synthetischer Antioxidantien, eingemischt in die Fettkomponente bzw. in das gesamte Futter, bei Gabe frischen und oxidierten Mischfetts. Vitamin E wurde in das gesamte Futter eingemischt.

Es ergab sich bei Verfütterung frischen bzw. oxidierten Fettes im Hinblick auf die Körpergewichte kein gesicherter Unterschied. Die teilweise signifikanten Differenzen innerhalb der einzelnen Fettchargen aus dem ersten Versuch konnten nicht wieder dargestellt werden. Der Ort der Zugabe der synthetischen Antioxidantien hatte keinen Einfluß auf die Körpergewichte.

Im zweiten Versuch wurde nochmals deutlich, daß in den Gruppen, die oxidiertes Fett erhielten, weniger Pentan produziert wurde als in denjenigen, die frisches Fett verzehrten. Dies stimmt mit den Angaben von STEGMANN (1987) überein, es dürfte ebenfalls auf den geringeren Linolsäureanteil im oxidierten Futterfett, und folglich auch in der Leber, beruhen. Die Anpassung des Organ- bzw. Membranfettsäuremusters an das des Futterfettes ist schon seit langem bekannt (NIESAR, 1965). Insgesamt wird das Ergebnis des ersten Versuchs bestätigt. Ohne Einfluß auf die Pentanentstehung war der Ort der Zugabe des Antioxidans.

5.4 Versuch III

Im dritten Versuch ging es um die Wirksamkeit verschiedener Vitamin E-Präparationen und von Loxidan 100 bei Verfütterung frischen und oxidierten Mischfettes.

Im diesem Versuch kamen die Vitamin E-Qualitäten "Spray dried" und "Adsorbat" zum Einsatz. Es ergaben sich keine gesicherten Unterschiede hinsichtlich der Mittelwerte der Körpergewichte. Jedoch entwickelten die Vit.^{ESD}-Gruppen eine niedrigere Pentanproduktion als die Vit.^{EAD}-Gruppen. Dies war besonders deutlich bei der Gabe des frischen Mischfettes. Es entspricht auch den Ergebnissen der Vitamin E-Bestimmung, daß beim Frischfettangebot die Vit.^{ESD}+L-100 Substitution zu den höheren Vitamin E-Ablagerungen im Lebergewebe geführt hat.

5.5 Schlußfolgerung

Insgesamt läßt sich aus den Daten für die verschiedenen Antioxidantien als Reinsubstanz und in Mischung folgendes schließen:

Bei vorsichtiger Interpretation der Körpergewichtsdaten scheint der Einsatz künstlicher Antioxidantien besonders dann sinnvoll,

wenn die Fettkomponente des Futters bereits oxidiert ist. Für die Höhe der Vitamin E-Retention scheint vor allem das Fettsäuremuster und der Oxidationsgrad des Futterfettes von Einfluß zu sein. Die Wirkung der künstlichen Antioxidantien ist in dieser Hinsicht gering. Ähnliches gilt auch für die mikrosomale Pentanproduktion, wobei die Verabreichung der Vitamin E-Präparation "Spray dried" niedrigere Pentanwerte, besonders bei Gabe frischen Fettes, erbrachte. Bindeglied zwischen beiden Parametern ist offensichtlich somit das Fettsäurespektrum des Futterfettes und das dadurch beeinflusste Fettsäuremuster der Leberlipide. Dies wäre in weitergehende Untersuchungen einzubeziehen. Die sich andeutenden Unterschiede in der Körpergewichtsentwicklung wären in dafür konzipierten Versuchsansätzen zu verifizieren.

6.0 Zusammenfassung

Die intermediäre Kompetenz synthetischer Antioxidantien (hier Loxidan, BHT und Propylgallat), die dem Tier über das Futter zugeführt werden, ist noch unklar. Besonders interessiert das Zusammenwirken dieser Substanzen mit dem natürlichen Antioxidans Vitamin E. Zur Klärung dieser Frage wurden insgesamt drei Fütterungsversuche über drei Wochen mit Eintagsküken durchgeführt.

Zur Darstellung der prooxidativen Kapazität im Lebergewebe wurden die provozierte Pentanproduktion (in-vitro) in den Lebermikrosomen bestimmt. Die Vitamin E-Retention im Gewebe sollte Auskunft geben über die antioxidative Kapazität des Organismus.

Beim ersten Versuch erhielten die Broiler einerseits Futtermischungen ohne bzw. mit einer Antioxidanzulage, die aus Vitamin E oder Vitamin E zusammen mit synthetischen Antioxidantien, wie BHT und Loxidan bestand. Andererseits sollte eine peroxidative Belastung der Broiler mit verschiedenen Futterfetten (gesättigte, ungesättigte Fettsäuren, oxidierte Fette) bzw. einer Zulage von Übergangsmetallen herbeigeführt werden.

Im zweiten Versuch wurde die Auswirkung einer Zumischung verschiedener Antioxidantien in das Fett bzw. in der gesamte Futtergemisch getestet. Zusätzlich sollte ein weiteres synthetisches Antioxidans, Propylgallat, überprüft werden.

Beim dritten Fütterungsversuch wurden neben den frischen und oxidierten Mischfetten zwei Vitamin E-Zubereitungen (Adsorbat und Spray dried) mit Loxidan TD-100 kombiniert eingesetzt.

Zwischen dem 21. und 25. Versuchstag wurden die Tiere zur Gewinnung des Probenmaterials getötet. Aus der Leberprobe erfolgte die Pentanmessung im "Head space"-Verfahren über Gaschromatographie. Die Vitamin E-Bestimmung erfolgte mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion.

Insgesamt konnten in den drei Versuchen folgende Befunde erhoben werden :

1 - Ein Vitamin E-Mangel führte bei den Broilerküken, die frische und oxidierte Triglyceride im Futter erhielten, zu Enzephalomalazien. Nach Verfütterung des oxidierten Triglycerides wurden einzelne Gelenkverdickungen beobachtet.

2 - Hinsichtlich der Körpergewichte besteht kein Unterschied bei der Gabe frischen bzw. oxidierten Triglycerides. Jedoch führt oxidiertes Fett zu verminderter Vitamin E-Retention. Höher gesättigtes Fett erbringt bei geringer Neigung zur Peroxidation eine bessere Vitamin E-Retention.

3 - Ob das Antioxidans dem gesamten Futter oder der Fettkomponente zugemischt wird, ist ohne Auswirkung auf Körpergewichte, Pentanproduktion und Vitamin E-Retention.

4 - Die Gabe von Vitamin E in sprühgetrockneter Form resultiert in einer geringeren Neigung zur Peroxidation.

5 - Eine Zumischung von natürlichen oder synthetischen Antioxidantien zur Ration führte ausnahmslos zu höheren Körpergewichten im Vergleich zur Mangelgruppe. Die künstlichen Antioxidantien üben besonders bei der Verfütterung oxidierten Fettes eine positive Wirkung aus. Ihr Einfluß auf Vitamin E-Retention und mikrosomale Pentanproduktion ist gering.

7.0 Summary

Interactions between Vitamin E and Synthetic Antioxidants in View of the Peroxidative Metabolism of the Broiler.

The intermediate efficiency of antioxidants (in this test Loxidan, BHT and propylgallate) given to animals via the feed is still unclear. Of special interest is the synergy of these substances with the natural antioxidant vitamin E. To clear up this question three feeding experiments were carried out over three weeks using day-old chicks.

To show the prooxidative capacity in liver tissue, the provoked pentane production (in vitro) was determined in liver microsomes. The vitamin E retention in tissues was to give information on the antioxidative capacity of the organism.

In the first experiment broilers received on the one hand feed mixtures with or without antioxidative additives. These consisted of vitamin E or vitamin E together with synthetic antioxidants, such as BHT or Loxidan. On the other hand the broilers were put under peroxidative stress through the addition of various edible fats (saturated and unsaturated fatty acids) or transition metals.

In the second experiment the effects of adding various antioxidants to the fat or to the feed mixture was tested. In addition, a further synthetic antioxidant, propylgallate was tested.

In the third experiment, two vitamin E preparations (adsorbate and spray-dried) combined with Loxidan TD-100 were used in addition to fresh and oxidized fat mixtures.

The animals were euthanised between days 21 and 25 of the experiment to obtain tissue samples. Pentane measurements were made from the liver samples using the "head space" technique with gas chromatography. The vitamin E determination were made using HPLC and fluorescence detection.

The following results were obtained from the three experiments:

1 - A deficiency of vitamin E led to encephalomalacy in broiler chicks having received fresh and oxidized triglycerides in the feed. Occasionally joint swellings were seen after feeding oxidized triglycerides.

2 - In terms of body weight, there is no difference between the addition of fresh or oxidized triglycerides. Oxidized fat, however leads to a reduction in vitamin E retention.

3 - The addition of the antioxidant to the final feed mixture or to the fat components has no effect on the body weight, pentane production, or vitamin E retention.

4 - The addition of vitamin E in the spray-dried form results in a lower tendency to peroxidation.

5 - The addition of natural or synthetic antioxidants to the ration led without exception to higher body weights, as compared to the deficiency group. The synthetic antioxidants have a positive effect especially with the feeding of oxidized fat. Their influence on vitamin E retention and microsomal pentane production is minimal.

7.0 Özet

Broiler Peroksidativ Metabolizmasında Vitamin E ve Sentetik Antioksidanlar Arasındaki Etkileşimler

Hayvanlara yemle verilen sentetik antioksidanların (bu çalışmada BHT, Propylgallat ile Loxidan) kendi aralarındaki etkileşimleri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Özellikle bu sentetik antioksidanların, doğal antioksidan vitamin E ile birlikte olan etkilerini açıklamak amacıyla, bir günlük civcivlerle üç haftayı aşan deneme süreleri içerisinde, toplam olarak üç ayrı yemleme deneyi gerçekleştirilmiştir.

Karaciğer dokusundaki peroksidativ kapasiteyi göstermek için, karaciğer mikrozomlarında provoke edilmiş pentan üretimi (in vitro) belirlenmiş ve dokularda depolanan vitamin E seviyesinin organizmanın antioksidativ kapasitesi hakkında bilgi verici özelliğinden yararlanılmıştır.

İlk yemleme deneyinde broilerlere bir yandan antioksidanlı (Vitamin E veya Vitamin E ile birlikte bir sentetik antioksidan yada karışımlarını içeren) yada herhangi bir antioksidan içermeyen yemler verilirken diğer yandan da peroksidativ bir baskı oluşturmak amacı ile yemlere doymuş, doymamış yağ asitleri ile okside edilmiş yağlar ve bunlarla birlikte bakır ve demir gibi geçiş metalleri ilave edilmiştir.

İkinci yemleme deneyinde yemlerin yağ karışımlarına veya yeme katılan çeşitli antioksidanların, etkilerinde bu yolla oluşabilecek farklılıklar araştırılmıştır. Buna ek olarak diğer bir sentetik antioksidan olan propylgallatın etkisi de bu çalışmada kontrol edilmiştir.

Üçüncü yemleme deneyinde ise taze ve okside edilmiş yağ karışımlarının yanısıra değişik formasyonda hazırlanmış iki değişik vitamin E-çesidi (Adsorbat ve Spray dried), yalnız veya Loxidan TD-100 ile kombine edilerek etkileri araştırılmıştır.

Deneklerden 21-25 deneme günleri arasında sağlanan karaciğer numunelerinde "Head space" olarak nitelenen yöntemle, gaz kromatografisi aracılığı ile pentan üretimi ve HPLC-Fluoresenz sistemi yardımı ile de vitamin E düzeyi belirlenmiştir.

Bu üç ayrı yemleme deneyinden sağlanan sonuçlar aşağıda verilmiştir :

1 - Vitamin E-noksanlığı, taze ve okside edilmiş trigliserid içeren yemlerle beslenen kontrol gruplarındaki civcivlerde en-sefalomalasiye neden olmuştur. Okside edilmiş trigliseridlerin verilmesi bazı hayvanların ayak eklemelerinde büyümeye yol açmaktadır.

2 - Yemle civcivlere verilen trigliseridlerin taze yada okside olmasının vucut ağırlığı üzerinde bir etkisi gözlenememiştir. Bununla birlikte okside edilmiş trigliserid verilmesi, karaciğerde vitamin E depolanmasında bir azalmaya yol açmaktadır. İleri derecede doymuş yağların verilmesi peroksidasyona olan eğilimin azalmasına ve Vitamin E retensiyonuna olumlu bir şekilde etkilemektedir.

3 - Antioksidanların veya kombinasyonlarının yemle yada yağla birlikte hayvanlara verilmesinin vucut ağırlığı, pentan üretimi ve vitamin E depolanması üzerinde olası bir etkisine rastlanamamıştır.

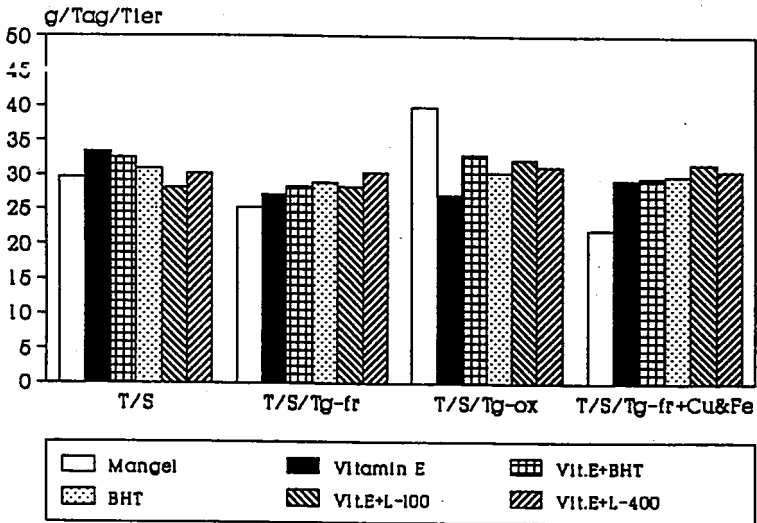
4 - Vitamin E nin "Spray dried" formunun yeme katılması peroksidasyonda sınırlı bir azalmaya neden olmaktadır.

5 - Yemlerinde herhangi bir antioksidan almayan kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, doğal veya sentetik antioksidanların yada kombinasyonlarının verilmesi, hayvanların vucut ağırlığında artışa yol açmaktadır. Özellikle okside olmuş yağlarla beslemede, sentetik antioksidanlar daha etkilidirler. Fakat bunların vitamin E retensiyonu ve mikrosomal pentan üretimi üzerine etkileri ise oldukça sınırlıdır.

A N H A N G

Versuch I

Abb. A-1 : Futtermverzehr



Tab. A-2: Gewichtsentwicklung (g)

	Anfangs- gewicht	5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	n*
Talg/Schmalz						
Mangel	41.7 ± 5.3	64.7 ± 4.2	141.4 ± 11.8	244.9 ± 43.0	384.3 ± 103.3	8
Vitamin E	42.8 ± 4.7	78.6 ± 6.7	166.4 ± 12.2	292.3 ± 25.7	485.6 ± 56.6	8
Vit.E+BHT	39.4 ± 2.7	70.4 ± 3.9	154.6 ± 7.1	262.9 ± 19.1	478.2 ± 26.3	7
BHT	39.3 ± 2.5	70.7 ± 9.6	156.1 ± 9.4	259.3 ± 18.8	436.5 ± 49.5	7
Vit.E+L-100	44.5 ± 3.4	73.2 ± 9.5	152.5 ± 23.6	262.4 ± 36.1	429.8 ± 59.9	8
Vit.E+L-400	44.5 ± 4.9	75.1 ± 14.0	170.7 ± 19.2	303.2 ± 26.2	495.0 ± 53.2	8
\bar{X} ±	42.0 2.3	72.1 4.7	156.9 10.4	270.6 22.1	451.5 42.3	
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch						
Mangel	40.3 ± 1.4	61.6 ± 2.3	139.7 ± 10.8	233.1 ± 21.1	377.7 ± 63.6	6
Vitamin E	40.7 ± 3.7	61.7 ± 11.1	139.4 ± 20.0	243.1 ± 30.6	422.0 ± 33.4	7
Vit.E+BHT	40.2 ± 2.2	63.7 ± 7.5	140.3 ± 11.9	249.4 ± 20.9	384.3 ± 40.8	7
BHT	41.2 ± 4.1	68.1 ± 6.1	147.4 ± 11.2	251.7 ± 26.9	422.2 ± 43.5	7
Vit.E+L-100	44.5 ± 5.4	71.5 ± 12.0	154.3 ± 22.0	275.5 ± 41.6	471.0 ± 50.1	8
Vit.E+L-400	44.5 ± 3.4	73.0 ± 14.5	161.0 ± 30.5	288.4 ± 49.0	496.2 ± 89.7	8
\bar{X} ±	41.9 2.0	66.6 5.0	147.0 9.0	256.8 20.8	428.9 46.9	

Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert

Mangel	± 43.4	± 71.2	± 133.4	± 246.4	± 393.0	4
	± 2.9	± 4.1	± 15.5	± 29.9	± 113.1	
Vitamin E	± 45.1	± 73.7	± 132.3	± 232.0	± 365.7	8
	± 2.0	± 3.9	± 8.6	± 23.0	± 62.1	
Vit.E+BHT	± 43.5	± 76.9	± 165.2	± 318.0	± 507.7	7
	± 1.7	± 5.7	± 14.25	± 25.8	± 29.5	
BHT	± 44.9	± 70.3	± 137.9	± 271.7	± 421.8	5
	± 2.5	± 3.0	± 18.8	± 33.2	± 82.8	
Vit.E+L-100	± 42.4	± 72.2	± 150.7	± 281.4	± 462.9	8
	± 1.0	± 6.7	± 18.2	± 33.2	± 63.0	
Vit.E+L-400	± 44.9	± 73.0	± 147.7	± 281.5	± 449.6	8
	± 3.4	± 6.5	± 18.2	± 33.2	± 69.2	
\bar{X}	44.0	72.8	144.5	271.8	433.4	
\pm	1.0	2.3	12.6	30.1	51.0	

Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch+Cu&Fe

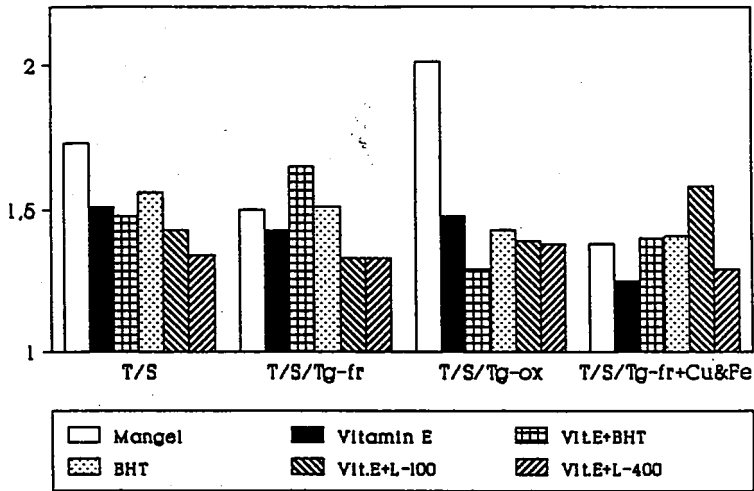
Mangel	± 44.4	± 50.0	± 115.4	± 227.6	± 365.7	6
	± 3.3	± 6.0	± 11.9	± 18.9	± 50.3	
Vitamin E	± 44.5	± 78.3	± 152.6	± 302.7	± 511.0	8
	± 3.5	± 4.8	± 17.6	± 29.9	± 46.8	
Vit.E+BHT	± 44.4	± 65.0	± 136.9	± 270.2	± 466.8	8
	± 2.0	± 4.0	± 9.4	± 26.8	± 52.1	
BHT	± 44.6	± 73.9	± 153.6	± 291.7	± 468.2	7
	± 2.1	± 6.5	± 14.3	± 25.6	± 53.2	
Vit.E+L-100	± 44.7	± 78.2	± 157.4	± 266.6	± 445.8	8
	± 3.4	± 4.8	± 11.9	± 32.2	± 58.3	
Vit.E+L-400	± 44.5	± 71.1	± 145.1	± 310.6	± 517.0	7
	± 1.5	± 7.3	± 13.2	± 31.4	± 70.5	
\bar{X}	44.5	69.4	142.5	278.2	462.4	
\pm	0.1	10.7	15.6	30.3	50.0	

* am 20. Tag.

Tab. A-3: Zwei Faktorielle Unorthogonale Varianzanalyse über das Körpergewicht am 20. Tag

	SQ	FG	MQ	F-Wert		P
Fettcharge	32202.15	3.	10734.05	2.85	*	0.050
Antioxidantien	168904.14	5.	33780.82	8.98	***	0.001
Interaktion	170867.20	15.	11391.14	3.03	***	0.001
Fehler	560089.01	149.	3758.98			
Total	932062.52	172.				
Totalmittelw.	446.05					

Abb. A-4 : Futtermittelverwertung
:



Tab. A-5: Körpergewichtszunahme
(g/Tier/Tag)

	T/S	T/S/Tg	T/S/Tg oxidiert	T/S/Tg +Cu&Fe	$\bar{X} =$
Mangel	17.1	16.8	19.7	16.0	17.4
Vitamin E	22.1	19.0	18.2	23.3	20.6
Vit.E+BHT	21.9	17.2	25.4	21.1	21.4
BHT	19.8	19.0	21.0	21.1	20.2
Vit.E+L-100	19.7	21.3	23.0	20.0	21.0
Vit.E+L-400	22.5	22.6	22.4	23.6	22.8
$\bar{X} =$	20.5	19.3	21.6	20.8	

Tab. A-6: Provozierte Pentanproduktion in Lebermikrosomen nach Zusatz von NADPH und Fe^{++} Belastung (p Mol/Min./mg Mikrosomenprotein)

	Mangel	VE	VE+BHT	BHT	VE+L-100	VE+L-400
Talg/Schmalz						
	2.23	0.20	0.57	2.64	1.07	0.54
	± 0.63 n=7	± 0.15 n=8	± 0.47 n=7	± 0.45 n=7	± 0.61 n=7	± 0.41 n=8
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch						
	3.43	1.96	1.90	3.15	1.61	2.28
	± 0.90 n=4	± 0.82 n=7	± 0.72 n=7	± 1.25 n=7	± 0.70 n=8	± 0.38 n=8
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert						
	3.57	1.14	1.15	4.76	1.92	1.65
	± 0.34 n=4	± 0.32 n=8	± 0.17 n=7	± 1.94 n=4	± 0.38 n=8	± 0.94 n=8
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch+Cu&Fe						
	3.52	1.35	1.81	4.00	1.40	2.59
	± 1.34 n=6	± 0.70 n=8	± 0.44 n=8	± 0.55 n=7	± 0.83 n=8	± 1.05 n=7

Tab. A-7: Zweifaktorielle Unorthogonale Varianzanalyse über die Pentanproduktion

	SQ	FG	MQ	F-Wert	P
Fettcharge	38.77	3.	12.92	23.47	*** 0.001
Antioxidantien	124.63	5.	24.92	45.26	*** 0.001
Interaktion	24.96	15.	1.66	3.02	*** 0.001
Fehler	79.30	144.	0.55		
Total	267.67	167.			
Totalmittelw.	1.95				

Tab. A-8: Die Vitamin E Gehalte im Lebergewebe (ppm)

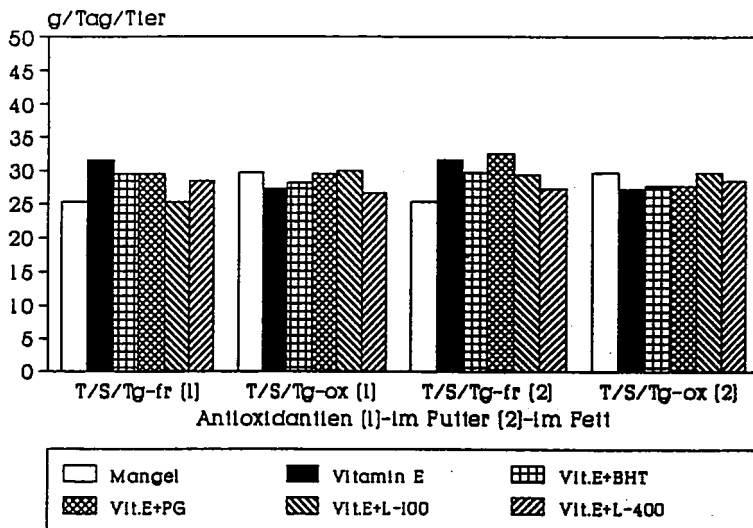
	Mangel	VE	VE+BHT	BHT	VE+L-100	VE+L-400
Talg/Schmalz						
	0.26	11.65	10.38	0.25	9.91	9.13
	± 0.23 n=7	± 2.90 n=8	± 2.41 n=8	± 0.12 n=7	± 5.43 n=8	± 3.50 n=8
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch						
	0.41	7.28	6.91	0.37	6.94	6.31
	± 0.22 n=8	± 1.44 n=7	± 2.51 n=8	± 0.23 n=8	± 3.06 n=8	± 0.65 n=8
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert						
	0.47	4.05	5.49	0.43	7.40	5.95
	± 0.08 n=7	± 0.53 n=8	± 1.52 n=7	± 0.22 n=8	± 1.37 n=8	± 1.11 n=8
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch+Cu&Fe						
	0.72	8.59	7.09	0.41	8.44	6.66
	± 1.05 n=8	± 2.10 n=8	± 1.97 n=8	± 0.70 n=8	± 1.16 n=8	± 1.93 n=7

Tab. A-9: Zweifaktorielle Unorthogonale Varianzanalyse über die Vitamin E-Ergebnisse

	SQ	FG	MQ	F-Wert	P
Fettcharge	266.42	3.	88.80	21.80	*** 0.001
Antioxidantien	2175.47	5.	435.09	106.84	*** 0.001
Interaktion	162.38	15.	10.82	2.65	** 0.010
Fehler	659.69	162.	4.07		
Total	3263.98	185.			
Totalmittelw.	5.29				

VERSUCH II

Abb. A-10: Futterverzehr



Tab. A-11: Gewichtsentwicklung (g)

	Anfangs- gewicht	5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	n*
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E und Antioxidantien im Futter						
Mangel	43.3 ± 2.5	76.6 ± 9.4	163.0 ± 18.4	302.9 ± 39.0	387.0 ± 59.4	5
Vitamin E	44.5 ± 4.0	74.9 ± 4.3	161.9 ± 9.4	297.7 ± 22.2	491.7 ± 58.6	8
Vit.E+BHT	44.0 ± 3.7	80.5 ± 6.0	165.1 ± 9.9	301.6 ± 23.6	487.9 ± 55.3	8
Vit.E+PG	44.7 ± 4.1	76.6 ± 7.0	165.0 ± 10.4	296.1 ± 25.1	465.4 ± 58.1	8
Vit.E+L-100	44.6 ± 3.3	63.8 ± 6.7	141.4 ± 8.7	263.7 ± 19.5	398.0 ± 38.1	8
Vit.E+L-400	44.5 ± 2.7	57.8 ± 4.5	131.6 ± 10.8	258.7 ± 30.9	438.4 ± 97.2	6
\bar{X} ±	44.4 0.2	71.7 8.8	154.6 14.4	286.8 20.0	444.6 44.8	
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E und Antioxidantien im Futter						
Mangel	43.7 ± 3.0	74.1 ± 8.5	153.6 ± 23.2	277.1 ± 40.9	453.6 ± 47.9	8
Vitamin E	44.6 ± 3.3	68.7 ± 5.6	147.8 ± 10.0	264.9 ± 16.4	424.7 ± 38.3	8
Vit.E+BHT	44.6 ± 2.5	75.6 ± 9.2	158.6 ± 13.2	292.5 ± 40.3	435.5 ± 45.7	8
Vit.E+PG	44.8 ± 3.6	74.7 ± 10.0	160.1 ± 20.2	289.3 ± 40.9	452.1 ± 81.2	8
Vit.E+L-100	44.3 ± 2.0	77.6 ± 11.2	162.3 ± 21.9	309.6 ± 44.8	478.6 ± 61.0	8
Vit.E+L-400	44.2 ± 2.4	67.1 ± 8.7	142.5 ± 17.7	264.4 ± 46.7	426.5 ± 92.8	7
\bar{X} ±	44.3 0.4	72.9 4.1	154.1 17.7	282.2 17.6	445.1 20.5	

Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch
Vitamin E im Futter und Antioxidantien im Fett

Mangel	± 43.3 ± 2.5	± 76.6 ± 9.4	± 163.0 ± 18.4	± 302.9 ± 39.0	± 387.0 ± 59.4	5
Vitamin E	± 44.5 ± 4.0	± 74.9 ± 4.3	± 161.9 ± 9.4	± 297.7 ± 22.2	± 491.7 ± 58.6	8
Vit.E+BHT	± 44.6 ± 3.2	± 76.1 ± 7.6	± 162.5 ± 15.5	± 303.0 ± 31.8	± 480.2 ± 59.1	8
Vit.E+PG	± 44.8 ± 3.8	± 62.7 ± 4.5	± 140.2 ± 13.8	± 273.8 ± 36.2	± 467.8 ± 58.0	7
Vit.E+L-100	± 44.8 ± 3.8	± 74.2 ± 11.2	± 166.3 ± 24.7	± 310.2 ± 49.2	± 497.3 ± 79.0	8
Vit.E+L-400	± 44.5 ± 2.6	± 73.0 ± 14.5	± 154.7 ± 15.9	± 274.0 ± 44.5	± 445.3 ± 47.8	6
\bar{X} ±	= 44.4 0.5	72.9 5.1	158.1 9.5	293.6 15.7	461.5 40.9	

Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert
Vitamin E im Futter und Antioxidantien im Fett

Mangel	± 43.7 ± 3.0	± 74.1 ± 8.5	± 153.6 ± 23.2	± 277.1 ± 40.9	± 453.6 ± 47.9	8
Vitamin E	± 44.6 ± 3.3	± 68.7 ± 5.6	± 147.8 ± 10.0	± 264.9 ± 16.4	± 424.7 ± 38.3	8
Vit.E+BHT	± 44.6 ± 3.3	± 72.0 ± 10.3	± 154.3 ± 19.3	± 278.8 ± 34.2	± 423.0 ± 53.9	7
Vit.E+PG	± 45.0 ± 3.0	± 75.9 ± 9.3	± 154.2 ± 19.0	± 272.0 ± 19.7	± 405.4 ± 43.7	6
Vit.E+L-100	± 45.1 ± 2.6	± 82.6 ± 5.7	± 169.3 ± 14.8	± 304.9 ± 33.2	± 481.7 ± 79.1	8
Vit.E+L-400	± 44.2 ± 3.2	± 73.5 ± 11.3	± 157.8 ± 20.9	± 284.5 ± 42.2	± 454.8 ± 77.8	8
\bar{X} ±	= 44.5 0.5	74.4 4.6	156.1 7.2	280.3 13.7	440.5 27.8	

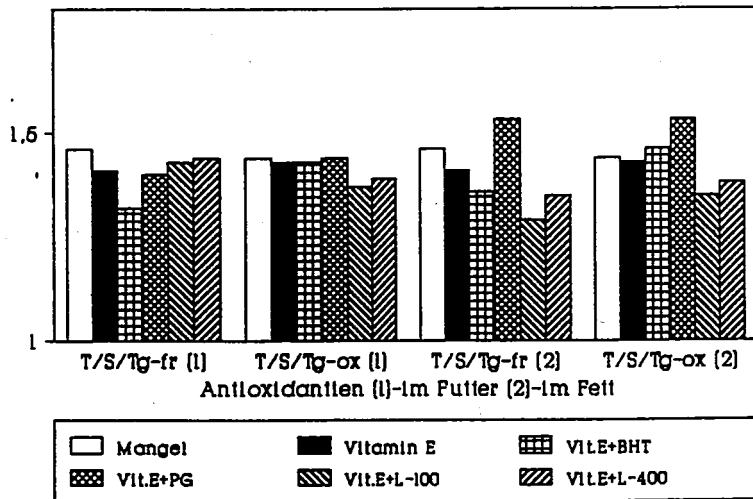
* am 20. Tag

Tab. A-12: Dreifaktorielle Unorthogonale Varianzanalyse
über das Körpergewicht am 20. Tag

	SQ	FG	MQ	F-Wert	P
Fettcharge	8937.16	1.	8937.16	2.58	0.990
Antioxidantien	24777.23	5.	4955.44	1.43	0.990
Ort der Zugabe	2362.18	1.	2362.18	0.68	0.990
Interaktion					
Fett/Antioxi.	93931.65	5.	18786.33	5.42	*** 0.001
Fett/Ort der Z.	5122.83	1.	5122.83	1.47	0.990
Antioxi./Ort	24892.05	5.	4978.41	1.43	0.990
Fett/Anti./Ort	19519.34	5.	3903.86	1.12	0.990
Fehler	529974.54	153.	3463.88		
Total	709517.02	176.			
Totalmittelw.	450.90				

Abb. A-13 : Futtermittelverwertung

1:



Tab. A-14: Körpergewichtszunahme
(g/Tier/Tag)

	Antioxidantien im Futter		Antioxidantien im Fett		$\bar{X} =$
	T/S/Tg	T/S/Tg	T/S/Tg	T/S/Tg	
	frisch	oxidiert	frisch	oxidiert	
Mangel	25.2	29.6	25.2	29.6	27.4
Vitamin E	31.5	27.2	31.5	27.2	29.3
Vit.E+BHT	29.4	28.1	29.6	27.6	28.6
Vit.E+PG	29.4	29.4	32.4	27.7	29.7
Vit.E+L-100	25.3	29.9	29.9	29.6	28.6
Vit.E+L-400	28.4	26.5	27.2	28.4	27.6
$\bar{X} =$	28.2	28.4	29.3	28.3	

Tab. A-15: Provozierte Pentanproduktion in Lebermikrosomen
nach Zusatz von NADPH und Fe^{++} Belastung
(p Mol/Min./mg Mikrosomenprotein)

	Mangel	VE	VE+BHT	VE+PG	VE+L100	VE+L400
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E und Antioxidantien im Futter						
	5.63	3.53	2.88	2.36	3.64	3.59
	± 1.91	± 1.13	± 0.85	± 0.88	± 1.51	± 0.92
	n=5	n=7	n=6	n=6	n=6	n=5
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E und Antioxidantien im Futter						
	4.07	2.59	2.57	2.42	2.96	2.66
	± 0.53	± 1.10	± 1.38	± 0.74	± 0.45	± 1.01
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E im Futter und Antioxidantien im Fett						
	5.63	3.53	2.72	2.73	2.98	2.22
	± 1.91	± 1.13	± 0.53	± 1.17	± 1.00	± 0.63
	n=5	n=7	n=6	n=6	n=6	n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E im Futter und Antioxidantien im Fett						
	4.07	2.59	2.20	2.55	3.22	2.21
	± 0.53	± 1.10	± 1.05	± 0.76	± 0.71	± 1.04
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6

Tab. A-16: Dreifaktorielle Unorthogonale Varianzanalyse
über die Pentanproduktion

	SQ	FG	MQ	F-Wert	P
Fettcharge	10.81	1.	10.81	9.38	** 0.010
Antioxidantien	81.64	5.	16.32	14.17	*** 0.001
Ort der Zugabe	1.18	1.	1.18	1.02	0.990
Interaktion					
Fett/Antioxi.	10.47	5.	2.09	1.81	0.990
Fett/Ort der Z.	0.54	1.	0.54	0.47	0.990
Antioxi./Ort	4.16	5.	0.83	0.72	0.990
Fett/Anti./Ort	2.30	5.	0.46	0.40	0.990
Fehler	137.11	119.	1.15		
Total	248.24	142.			
Totalmittelw.	3.11				

Tab. A-17: Die Vitamin E Gehalte im Lebergewebe (ppm)

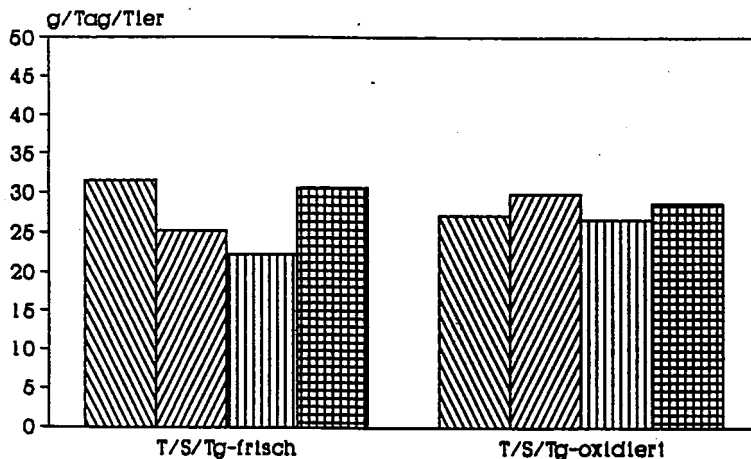
	Mangel	VE	VE+BHT	VE+PG	VE+L100	VE+L400
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E und Antioxidantien im Futter						
	0.41	5.46	3.93	6.43	4.53	5.77
	± 0.12	± 1.32	± 1.47	± 1.32	± 1.66	± 1.91
	n=5	n=7	n=6	n=7	n=6	n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E und Antioxidantien im Futter						
	0.42	5.00	5.76	5.25	5.72	5.89
	± 0.20	± 1.41	± 1.11	± 0.93	± 1.16	± 1.15
	n=6	n=7	n=6	n=6	n=6	n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E im Futter und Antioxidantien im Fett						
	0.41	5.46	5.36	6.06	6.08	7.00
	± 0.12	± 1.32	± 1.37	± 1.41	± 1.96	± 1.51
	n=5	n=7	n=7	n=6	n=6	n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E im Futter und Antioxidantien im Fett						
	0.42	5.00	5.62	5.19	5.58	5.27
	± 0.20	± 1.41	± 1.75	± 1.34	± 1.42	± 0.89
	n=6	n=7	n=7	n=6	n=6	n=7

Tab. A-18: Dreifaktorielle Unorthogonale Varianzanalyse
über die Vitamin E Ergebnisse

	SQ	FG	MQ	F-Wert	P
Fettcharge	2.98	1.	2.98	1.73	0.990
Antioxidantien	498.83	5.	99.76	57.79	*** 0.001
Ort der Zugabe	2.04	1.	2.04	1.18	0.990
Interaktion					
Fett/Antioxi.	16.49	5.	3.29	1.91	0.990
Fett/Ort der Z.	4.67	1.	4.67	2.70	0.990
Antioxi./Ort	4.38	5.	0.87	0.50	0.990
Fett/Anti./Ort	8.99	5.	1.79	1.04	0.990
Fehler	217.51	126.	1.72		
Total	755.92	149.			
Totalmittelw.	4.77				

VERSUCH III

Abb. A-19: Futtermittelverzehr



 VE-Ad
  VE-Ad + L-100
  VE-Sd
  VE-Sd + L-100

Ad - Adsorbat Sd - Spray dried

Tab. A-20: Gewichtsentwicklung (g)

	Anfangs- gewicht	5. Tag	10. Tag	15. Tag	20. Tag	n*
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch						
Vitamin E ^{AD} und Antioxidant (Loxidan 100) im Futter						
Vitamin E ^{AD}	44.5 ± 4.0	74.9 ± 4.3	161.9 ± 9.4	297.7 ± 22.2	491.7 ± 56.6	8
Vit.E ^{AD} +L-100	44.6 ± 3.3	63.8 ± 6.7	141.4 ± 8.7	263.7 ± 19.5	398.0 ± 38.1	8
\bar{X} ±	44.5 0.0	69.3 7.8	151.6 14.5	280.7 24.0	444.8 66.2	
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert						
Vitamin E ^{AD} und Antioxidant (Loxidan 100) im Futter						
Vitamin E ^{AD}	44.6 ± 3.3	68.7 ± 5.6	147.8 ± 10.0	264.9 ± 16.4	424.7 ± 38.3	8
Vit.E ^{AD} +L-100	44.3 ± 2.0	77.6 ± 11.2	162.3 ± 21.9	309.6 ± 44.8	478.6 ± 61.0	8
\bar{X} ±	44.4 0.2	73.1 6.3	155.0 10.2	287.2 31.6	451.6 38.1	
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch						
Vitamin E ^{SD} und Antioxidant (Loxidan 100) im Futter						
Vitamin E ^{SD}	45.5 ± 1.6	77.5 ± 9.0	158.0 ± 16.2	290.4 ± 33.6	448.1 ± 58.7	8
Vit.E ^{SD} +100	44.8 ± 3.8	79.8 ± 8.7	169.3 ± 13.8	319.2 ± 25.1	490.3 ± 65.1	8
\bar{X} ±	45.1 0.5	78.6 1.6	163.6 8.0	304.8 20.3	469.2 29.8	
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert						
Vitamin E ^{SD} und Antioxidant (Loxidan 100) im Futter						
Vitamin E ^{SD}	44.8 ± 3.7	70.8 ± 4.1	143.5 ± 9.1	260.9 ± 29.4	428.4 ± 57.2	7
Vit.E ^{SD} +L-100	44.5 ± 2.0	70.7 ± 8.2	151.3 ± 19.0	268.3 ± 50.5	446.6 ± 96.8	8
\bar{X} ±	44.6 0.2	70.7 0.0	147.4 5.5	264.6 5.2	437.5 12.8	

* am 20. Tag

Tab. A-21: Dreifaktorielle Unorthogonale Varianzanalyse
über das Körpergewichte am 20. Tag

	SQ	FG	MQ	F-Wert	P
Fettcharge	11089.1	1.	11089.17	1.63	0.990
Vitamin E	2463.7	1.	2463.79	0.36	0.990
Loxidan 100	0.5	1.	0.58	0.00	0.990
Interaktion					
Fett/Vitamin E	23441.0	1.	23441.03	3.46	0.990
Fett/Loxidan 100	10835.0	1.	10835.03	1.60	0.990
Vit. E/Lox.100	6002.8	1.	6002.81	0.88	0.990
Fett/VE/Lox.100	38351.2	1.	38351.21	5.66	* 0.050
Fehler	372259.5	55.	6889.86		
Total	464443.2	62.			
Totalmittelw.	444.2				

Tab. A-22: Gewichtszunahme
(g/Tier/Tag)

	T/S/Tg-frisch	T/S/Tg-oxidiert	$\bar{X} =$
Vitamin E ^{AD}	22.3	19.0	20.6
Vit.E ^{AD} +L-100	17.6	21.7	19.6
Vitamin E ^{SD}	20.1	19.1	19.6
Vit.E ^{SD} +L-100	22.2	20.1	21.1
$\bar{X} =$	20.5	19.9	

Tab. A-23: Provozierte Pentanproduktion in Lebermikrosomen
nach Zusatz von NADPH und Fe⁺⁺ Belastung
(p Mol/Min./mg Mikrosomenprotein)

	Vitamin E	Vitamin E + Loxidant 100
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E ^{AD}	3.53 ± 1.13 n=7	3.64 ± 1.51 n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E ^{AD}	2.59 ± 1.10 n=6	2.96 ± 0.45 n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E ^{SD}	2.20 ± 1.27 n=6	2.23 ± 1.66 n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E ^{SD}	2.43 ± 1.35 n=6	2.58 ± 1.09 n=6

Tab. A-24: Dreifaktorielle Unorthogonale Varianzanalyse
über die Pentanproduktion

	SQ	FG	MQ	F-Wert	P
Fettcharge	0.99	1.	0.99	0.61	0.990
Vitamin E	8.55	1.	8.55	5.32	* 0.050
Loxidant 100	0.21	1.	0.21	0.13	0.990
Interaktion					
Fett/Vitamin E	3.54	1.	3.54	2.21	0.990
Fett/Loxidant 100	0.20	1.	0.20	0.12	0.990
Vit. E/Lox. 100	0.09	1.	0.09	0.05	0.990
Fett/VE/Lox. 100	0.01	1.	0.01	0.00	0.990
Fehler	65.83	41.	1.60		
Total	79.44	48.			
Totalmittelw.	2.78				

Tab. A-25: Die Vitamin E Gehalte im Lebergewebe (ppm)

	Vitamin E	Vitamin E + Loxidan 100
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E ^{AD}	5.46 ± 1.32 n=7	4.53 ± 1.66 n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E ^{AD}	5.00 ± 1.41 n=7	5.72 ± 1.16 n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-frisch Vitamin E ^{SD}	5.85 ± 1.38 n=6	7.12 ± 3.86 n=6
Talg/Schmalz/Triglycerid-oxidiert Vitamin E ^{SD}	4.23 ± 1.67 n=6	5.71 ± 1.01 n=6

Tab. 26: Dreifaktorielle Unorthogonale Varianzanalyse
über die Vitamin E Ergebnisse

	SQ	FG	MQ	F-Wert	P
Fettcharge	0.04	1.	0.04	1.16	0.990
Vitamin E	0.03	1.	0.03	1.03	0.990
Loxidan 100	0.04	1.	0.04	1.36	0.990
Interaktion					
Fett/Vitamin E	0.10	1.	0.10	2.92	0.990
Fett/Loxidan 100	0.02	1.	0.02	0.67	0.990
Vit. E/Lox. 100	0.06	1.	0.06	1.91	0.990
Fett/VE/Lox. 100	0.02	1.	0.02	0.57	0.990
Fehler	1.48	42.	0.03		
Total	1.82	49.			
Totalmittelw.	0.54				

10.0 Literaturverzeichnis

- AKAGI, M. u. I. AOKI (1962 a):
Studies on food additives. VI. Metabolism of 2,6-di-tert-butyl-p-cresol (BHT) in a rabbit. (1) Determination and paper chromatography of a metabolite.
Chem. Pharm. Bull., 10, 101-105
- AKAGI, M. u. I. AOKI (1962 b):
Studies on food additives. VIII. Metabolism of α -hydroxy-2,6-di-tert-butyl-p-cresol. Isolation of metabolites.
Chem. Pharm. Bull., 10, 200-204
- AKERIB, M. u. W. STERNER (1971):
Inhibition of vitamin E absorption by a lipid fraction.
Internat. J. Vit. Nutr. Res., 41, 42-43
- ALEXANDER, J.C. (1978):
Biological effects due to changes in fats during heating.
J. Am. Oil. Chem. Soc., 55, 357-359
- ALFIN-SLATER, R.B. u. R.S. MORRIS (1963):
Vitamin E and lipid metabolism.
In: PAOLETTI, R. u. D. KRITCHEVSKY (Ed.):
Advances in Lipid Research, 1.
Academic Press, New York, 183-210
- ANDO, M. u. A.L. TAPPEL (1985):
Effect of dietary vitamin E on methyl ethyl ketone peroxide damage to microsomal cytochrome P-450 peroxidase.
Chem.-Biol. Interactions, 55, 317-326
- ARUOMA, O.I., B. HALLIWELL, M.J. LAUGHTON, G.J. QUINLAN u. J.M.C. GUTTERIDGE (1989):
The mechanism of initiation of lipid peroxidation. Evidence against a requirement for an iron(II)-iron(III) complex.
Biochem. J., 258, 617-620
- ASTILL B.D. u. L.T. MULLIGAN (1977):
Phenolic antioxidants and the inhibition of hepatotoxicity from N-dimethylnitrosamine formed in situ in the rat stomach.
Fd. Cosmet. Toxicol., 15, 167-
- ASTRUP, H.N. (1962):
Antioxidants for grass meal.
Acta Agric. Scand., 12, 199-209
- ASTRUP, H.N. (1983):
Untersuchungen über Fettoxidation in Futtermitteln.
Fette, Seifen, Anstrichmittel, 85, 30-35

- AYRES u. MIHAN (1978):
zit. in : Vitamin E in der Tierernährung.
BASF, Dokumentation, MEA 3207 AD
- BABICH, H. (1982):
Butylated Hydroxytoluene (BHT): A Review.
Environmental Research, 29, 1-29
- BALL, S.S., R. WEINDRUCH u. R.L. WALFORD (1986):
Antioxidants and the immune Response.
In : Free Radicals, Aging and Degenerative Diseases.
(Ed.) J.E. JOHNSON, (Modern aging research-8)
Alan R. Liss Inc., New York, 427-456
- BALTES, W. (1983):
Lebensmittelchemie.
Springer Verlag, Berlin, 147-149
- BARTOV, I. u. S. BORNSTEIN (1972 a):
Comparisons of BHT and ethoxyquin as antioxidants in the
nutrition of broilers.
Poultry Sci., 51, 859-868
- BARTOV, I. u. S. BORNSTEIN (1972 b):
Nutritional factors affecting the occurrence of experimental
encephalomalacia in chicks.
Poult. Sci., 51, 868-876
- BARTOV, I. u. S. BORNSTEIN (1977):
Stability of abdominal fat and meat of broilers: Relative
effects of vitamin E, butylated hydroxytoluene and ethoxyquin.
Br. Poult. Sci., 18, 59-68
- BARTOV, I. u. S. BORNSTEIN (1978):
Stability of abdominal fat and meat of broilers: Effect of
duration of feeding antioxidants.
Brit. Poult. Sci., 19, 129-135
- BARTOV, I. u. S. BORNSTEIN (1981):
Stability of abdominal fat and meat of broilers: Combined
effect of dietary vitamin E and synthetic antioxidants.
Poultry Sci., 60, 1840-1845
- BASCETTA, E., F.D. GUNSTONE u. J.C. WALTON (1983):
Electron spin resonance study of the role of vitamin E and
vitamin C in the inhibition of fatty acid oxidation in a model
membrane.
Chem and Phy. of Lipids, 33, 207-210
- BELITZ, H.D. u. GROSCH, W. (1987):
Lehrbuch der Lebensmittelchemie.
Springer Verlag, Berlin, 180-185

- BENDICH, A. u. L.J. MACHLIN (1988):
Safety of oral intake of vitamin E.
Am. J. Clin. Nutr., 48, 612-619
- BEUTER, V. (1982):
Radikalbildung durch Schwermetalle.
Prakt. Tierarzt., 63, 792-800
- BIERI, J.G. (1972):
Kinetics of tissue α -tocopherol depletion and repletion.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 203, 181-191
- BINDOLI, A., M. VALENTE u. L. CAVALLINI (1985):
Inhibition of lipid peroxidation by α -tocopherolquinone and α -tocopherolhydroquinone.
Biochem. Int., 10, 753-761
- BJÖRNSON, L.K. u. H.E. GALLO-TORRES (1975):
A comparison of the lymphatic absorption of α -tocopherol (TOC) and cholesterol (Chol) in the rat.
Fed. Proc., 34, 913-918
- BONETTI, E., A. ABBONDANZA, E. DELLA COSTE, F. NOVELLO u. F. STIRPE (1975):
Studies on the formation of lipid peroxides and on some enzymic activities in the liver of vitamin E-deficient rats.
J. Nutr., 105, 364-371
- BOOTH, A., M. MASRI, D. ROBINSON, O. EMERSON, F. JONES u. F. De EDS (1959):
The metabolic fate of gallic acid and related compounds.
J. Biol. Chem., 234, 3014-3019
- BOVERIS, A., E. CADENAS u. B. CHANCE (1981):
Ultraweak chemiluminescence: a sensitive assay for oxidative radical reactions.
Fed. Proc., 40, 195-198
- BOYD, I. u. E.G. BEVERIDGE (1979):
Relationship between antibacterial activity towards E. Coli NCTC 5933 and physico-chemical properties of some esters of 3,4,5-trihydroxybenzoic acid (gallic acid).
Microscopy, 24, 173-183
- BÖHLES, H. (1985):
Vitamin E im Zwiespalt der Meinungen - Was ist gesichert?
D. Apoth. Ztg., 12, 598-600
- BRUCKNER, G., J. INFANTE, G.F. Jr. COMBS u. J.E. KINSELLA (1983):
Effects of vitamin E and aspirin on the incidence of encephalomalacia, fatty acid status and serum thromboxane levels in chicks.
J. Nutr., 113, 1885-1890

- BRÖGGEMANN, J., J. TIEWS u. G. BOCK (1967):
Über Ausscheidung und Gewebsrückstände von ^{14}C -markiertem BHT
in Bilanzstudien am Mastkükén.
Z. für Tierphys., Tierernährung und Futtermittelk., 22, 249-263
- BRZHEVSKAYA, O.N., L.P. KUYUSHIN u. O.S. NEDELINA (1966):
Existence of free radicals during enzymic hydrolysis of ATP.
Biofizika, 11, 213
- BUDOWSKI, P., I. BARTOV, Y. DROR u. E.N. FRANKEL (1979):
Lipid oxidation products and chick nutritional encephalopathy.
Lipids, 14, 768-772
- BUEGE, J.A. u. S.D. AUST (1978):
Microsomal lipid peroxidation.
In: PACKER, L. (Ed.): Methods in Enzymology, 52.
Academic Press, New York, 302-310
- BUNK, M.J. u. G.F. COMBS jr. (1981):
Relationship of selenium-dependent glutathione peroxidase
activity and nutritional pancreatic atrophy in selenium-
deficient chicks.
J. Nutr., 111, 1611-1620
- BURTON, G.W. K.H. CHEESEMAN, T. DOBA, K.U. INGOLD u. T.F.
SLATER (1983):
Vitamin E as an antioxidant in vitro and in vivo.
In: PORTER, R. u. J. WHELAN (Ed.): Biology of vitamin E.
Verlag Pitman Books, London, 4-18
- BURTON, G.W., D.O. FOSTER, B. PERLY, T.F. SLATER, I.C.P. SMITH
u. K.U. INGOLD (1985):
Biological antioxidants.
Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 311, 565-578.
- BUS, J.S. u. J.E. GIBSON (1979):
Lipid Peroxidation and its Role in Toxicology.
In: Reviews in Biochemical Toxicology
HODGSON, BERND, PHILPOT (Ed.):
Elsevier North Holland Inc., Amsterdam
- CADENAS, E., R. BRIGELIUS, T. AKERBOOM u. H. SIES (1983):
Oxygen radicals and hydroperoxides in mammalian organs:
Aspects of redox cycling and hydrogen peroxide metabolism.
In: SUND, H. u. V. ULLRICH (Ed.): Biological oxidations.
Verlag Springer, Berlin, 288-310
- CADENAS, E. u. H. SIES (1984):
Low-level chemiluminescence as an indicator of singlet
molecular oxygen in biological systems.
In: PACKER, L. (Ed.): Methods in Enzymology, 105.
Academic Press, Orlando, 221-231

- CAMIRUAGA, M., L. MASSON Y.D. u. D.L. VEGA (1984):
Feeding broiler chickens with high levels of acidulated soap-
stock: III. Effect of addition of vitamin E and BHT in the
ration on carcass fat stability.
Ciencia E Investigacion Agraria, 11, 3-7
- CANTOR, A.H., M.L. SCOTT u. T. NOGUCHI (1975):
Biological availability of selenium in feedstuffs and selenium
compounds for prevention of exudative diathesis in chicks.
J. Nutr., 105, 95-105
- CARPENTER, M.P. (1972):
Vitamin E and microsomal drug hydroxylations.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 203, 81-92
- CATIGNANI, G.L. (1980 a):
Hepatic α -Tocopherol-Binding Protein.
In: MC CORMICK, D.B. u. L.D. WRIGHT: *Methods in Enzymology*, 67,
Vitamins and Coenzymes, 117-122
- CATIGNANI, G.L. (1980 b):
Role in nucleic acid and protein metabolism.
In: MACHLIN, L.J. (Ed.): *Vitamin E - A comprehensive treatise*.
Dekker, New York, 318-332
- CHAN, H.W.S. u. G. LAVETT (1977):
Autoxidation of methyl linoleate: Separation of isomeric
mixtures of methyl linoleate hydroperoxides and methyl
hydroxylinoleate.
Lipids, 12, 99-104
- CHEN, C. u. Y.S. SHAW (1974):
Cyclic metabolic pathway of Butylated Hydroxytoluene by rat
liver microsomal fractions.
Biochem. J., 144, 497-501
- CHEN, L.H., M.S. LEE, W.F. HSING, S.H. CHEN (1980):
Effect of Vitamin C on tissue antioxidant status of Vitamin E
deficient rats.
Int. J. Nutr. Res., 50, 156-162
- CHEN, L.H. (1988):
Ascorbic acid - stimulated peroxidation in hepatocytes and
inhibition by antioxidants.
Biochemical Archives, 4, 373-380
- CHOW, C.K. (1979):
Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems.
Am. J. Clin. Nutr., 32, 1066-1081
- CHOW, C.K. (1985):
Vitamin E and blood.
Wld. Rev. Nutr. Diet, 45, 133-166

- CLAVEL, J.P., J. EMERIT u. A. THUILLIER (1985):
Lipidperoxidation and free radikals.
Role in cellular biology and pathology.
Pathol. Biol., 33, 61-69
- COLNAGO, G.L., L.S. JENSEN u. P.L. LONG (1984):
Effect of selenium and vitamin E on the development of
coccidiosis in chickens.
Poult. Sci., 63, 1136-1143
- COMBS, G.F. Jr. (1976):
Differential effects of high dietary levels of Vitamin A on the
Vitamin E-Selenium nutrition of young and adult chickens.
J. Nutr., 106, 967-975
- COMBS, G.F. Jr. (1978):
Influence of ethoxyquin on the utilization of selenium by the
chick.
Poultry Sci., 57, 210-222
- COMBS, G.F. Jr. u. J.M. REGENSTEIN (1980):
Influence of selenium, Vitamin E and ethoxyquin on lipid
peroxidation in muscle tissues from fowl during low temperature
storage.
Poultry Sci., 59, 347-351
- COMBS, G.F. Jr., C.H. LUI, Z.H. LU u. Q. SU (1984):
Uncomplicated selenium deficiency produced in chicks fed a
corn-soy-based diet.
J. Nutr., 114, 964-976
- CONNOLLY, J.F., T.A. SPILLANE, D.B.R. POOLE (1970):
Nutritional effects of oxidized lipids in fresh and stored
pigs diets.
Ir. J. Agr. Res., 9, 39-58
- CORWIN, L.M. (1980):
The role of vitamin E in mitochondrial metabolism.
In : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Dekker, New York, 332-347
- COSTAGLIOLA, C., T. LIBONDI, M. MENZIONE, E. RINALDI u. G.
AURICCHIO (1985):
Vitamin E and red blood cell glutathione.
Metabolism, 34, 712-714
- DACRE, J.C. (1960):
Metabolic pathways of the phenolic antioxidants.
Jl. N. Z. Inst. Chem., 24, 161-171
- DACRE, J.C. (1961):
The metabolism of 3,5 di-tert-butyl-4-hydroxytoluene and 3,5-
di-tert-butyl-4-hydroxybenzoic acid in the rabbit.
Biochem. J., 78, 758-766

DACRE, J.C. (1974):

Long-term toxicity study of n-propyl gallate in mice.
Fd. Cosmet. Toxicol., 12, 125

DAHLE, L.K., E.G. HILL u. R.T. HOLMAN (1962):

The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters.
Arch. Biochem. Biophys., 98, 253-261

DAM u. GLAVIND (1939):

Zit. MASON, K.E. (1980):

The first two decades of vitamin E history.

in: MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Dekker, New York, 1-6

DAM, H. (1962):

Interrelations between vitamin E and polyunsaturated fatty acids in animals.

Symposium on vitamin E and metabolism

Zürich, 3-5 June, 527-540

Academic Press, New York, London

DANIEL, J.W. u. J.C. GAGE (1965):

The absorption and excretion of butylated hydroxytoluene (BHT) in the rat.

Food Cosmet. Toxicol., 3, 405-415

DANIEL, J.W., J.C. GAGE u. D.I. JONES (1968):

The metabolism of 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene in the rat and in man.

Biochem. J., 106, 783-790

DANIEL, J.W. (1986):

Metabolic aspects of antioxidants and preservatives.

Xenobiotica, 16, 1073-1078

DE, A.K. u. R. DARAD (1988):

Physiological antioxidants and antioxidative enzymes in vitamin E-deficient rats.

Toxicology Letters, 44, 47-54

DE MILLE, F., R.B. MILLER u. J.G. BUCHANAN-SMITH (1972):

Effects of vitamin E or ethoxyquin and rumen development upon muscular dystrophie in lambs.

Can. J. Anim. Sci., 52, 351-361

DE SESSO, J.M. (1981):

Amelioration of teratogenesis by the antioxidant propyl gallate.

Teratology, 24, 19-35.

- DEWDNEY, P.A. u. M.L. MEARA (1977):
Natural fat-soluble antioxidants.
The British Food Manufacturing Ind. Res. Ass., Scientific and
Technical Surveys, No.96
- DILLARD, C.J., E.E. DUMELIN u. A.L. TAPPEL (1977):
Effect of dietary vitamin E on expiration of pentane and ethane
by the rat.
Lipids, 12, 109-114
- DINNING, J.S. (1962):
Nucleic acid metabolism in vitamin E deficiency.
Vit. and Horm., 20, 511-402
- DIPLOCK, A.T. u. J.A. LUCY (1973):
The biochemical modes of action of vitamin E and selenium:
A hypothesis.
FEBS Lett., 29, 205-210
- DIPLOCK, A.T. (1974):
Possible stabilizing effect of vitamin E on microsomal,
membrane-bound, selenide-containing protein and drug-
metabolizing enzyme-systems.
Amer. J. Clin. Nutr., 27, 995-998
- DIPLOCK, A.T. (1985):
Vitamin E.
In : A.T. DIPLOCK (Ed.): Fat-soluble vitamins
Their biochemistry and applications.
Verlag Heinemann, London, 154-224
- DJU, M.A., M.L. QUAIFE u. P.L. HARRIS (1950):
Utilization of pure α -, γ -, and δ -tocopherols by laying hens.
Amer. J. Physiol., 160, 259-263
- DOUGHRERTY, J.J., W.A. CROFT u. W.G. HOEKSTRA (1981):
Effects of ferrous chloride and iron-dextran on lipid
peroxidation in vivo in vitamin E and selenium adequate and
deficient rats.
J. Nutr., 111, 1784-1796
- DOWNEY, J.E., D.H. IRVING u. A.L. TAPPEL (1977):
Effects of dietary antioxidants on in vivo lipid peroxidation in
the rat as measured pentane production.
Lipids, 13, 403-407
- DROR, Y., P. BUDOWSKI, J.J. BUBIS, U. SANDBANK u. M. WOLMAN
(1976):
Chick nutritional encephalopathy induced by diet rich in
oxidized oil and deficient in tocopherol.
Progress in Neuropathology, 3, 343-357

- DUGAN, L.R. (1980):
Natural antioxidants.
In : SIMIC, M.G. u. M. KAREL (Ed.):
Autoxidation in food and biological systems.
Plenum Press, New York, 261-282
- DUMELIN, E.E. u. A. L. TAPPEL (1977):
Hydrocarbon gases produced during in vitro peroxidation of
polyunsaturated fatty acids and preformed hydroperoxides.
Lipids 12, 894-900
- DUMELIN, E.E., C.J. DILLARD u. A.L. TAPPEL (1978):
Effects of vitamin E and ozon on pentane and ethane expired by
rats.
Arch. Environ. Health, 31, 129-134
- DVINSKAYA, L.M. (1973):
Effect of antioxidants on Vitamin A and E status of broiler
chickens with a high dietary fat level.
Vitam. pit. sel'skoho. zhivot., 342-348
Zit. nach ESCHENBACH, 1984
- ELMADFA, I. (1989):
Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol.
Vitamin E Symposium, Bochum
- EL-RASHIDY, R. u. S. NIAZI (1980):
Comperative pharmacokinetics of butylated hydroxyanisole and
butylated hydroxytoluene in rabbits.
J. Pharm. Sci., 69, 1455-1457
- EMERSON, O.H., G.A. EMERSON, A. MOHAMMAD u. H.M. EVANS (1937):
The chemistry of vitamin E : Tocopherols from various sources.
J. Biol. Chem., 122, 99-108
- ENGL, B. (1988):
Pentanexhalation und antioxidativer Stoffwechsel beim Broiler
nach diätetischer Belastung.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- ERIN, A.N., M.M. SPIRIN, L.V. TABIDZE u. V.E. KAGAN (1984):
Formation of α -Tocopherol complexes with fatty acids.
A hypothetical mechanism of stabilization of biomembranes by
vitamin E.
Biochim. Biophys. Acta, 774, 96-102
- ESCH G.J. van (1955):
The toxicity of the antioxidants propyl, octyl and dodecyl
gallate.
Voeding, 16, 683-687

ESCHENBACH, R. (1984):

Einfluß von oxidierten Ölen/Fetten sowie α -Tocopherol- und Antioxidanzienzulage auf das Wachstum und die Vitamin E- und A-Gehalte in Gewebe von Masthühnerküken.
Universität Bonn, Diss.

ESTERBAUER, H. (1982):

Aldehydic products of lipid peroxidation.
In : BRIEN, D.C.H. Mc u. SLATER, T.F. (Ed.):
Free radicals, lipid peroxidation and cancer.
Academic Press, New York, 101-128

ESTERBAUER, H., J. LANG, S. ZADRAVEC u. T.F. SLATER (1984):
Detection of malonaldehyde by High-Performance Liquid Chromatography.

In: PACKER, L. (Ed.): Methods in Enzymology, 105.
Academic Press, Orlando, 319-328

EVANS, H. M. u. K. S. BISHOP (1922):

On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction.
Science 56, 650-651

EVANS, H. M. (1925):

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 11, 373

zit. nach K.E. MASON (1980):

First two decades of Vitamin E history

in : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Dekker, Inc., New York, 1-5

EVANS, H. M., G. O. BURR u. T. L. ALTHAUSEN (1927):

Mem. Univ. Calif. 8, 1-176

zit. in "Vitamin E in der Tierernährung", BASF Dokumentation.

EVANS, H. M., O. H. EMERSON u. G. A. EMERSON (1936):

The isolation from wheat germ oil of an alcohol, α -tocopherol having the properties of vitamin E.

J. Biol. Chem. 113, 319 - 332

FAHRENHOLTZ, S.R., F.H. DOLEIDEN, A.M. TROZZOLO u. A.A. LAMOLA (1974):

On the quenching of singlet oxygen by alpha-tocopherol.
Photochem. Photobiol. 20, 505-509

FAO/WHO (1976):

Expert committee on food additives, toxicological evaluation of certain food additives and cont., WHO Fd. Add. Ser. 10, 45

FAO/WHO (1987):

WHO Food Additives Series : 21, Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants, prepared by the 30th Meeting of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, June 2-11, 1986, Cambridge University Press, 55-69

- FERNHOLZ, E. J. (1938):
 Amer. Chem. Soc., 60, 700
 zit. nach K.E. MASON (1980):
 First two decades of Vitamin E history
 in : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
 Dekker, Inc., New York, 1-5
- FILSER, J.G., H.M. BOLT, H. MULIAWAN u. H. KAPPUS (1983):
 Quantitative evaluation of ethane and n-pentane as indicators of
 lipid peroxidation in vivo.
 Arch. Toxicol., 52, 135-147
- FORMAN, H.J. u. A. BOVERIS (1982):
 Superoxide radical and hydrogen peroxide in mitochondria.
 In : PRYOR, W.A. (Ed.): Free radicals in biology, Vol. V.
 Academic Press, New York, 65-90
- FRAGA, C.G., R.F. ARIAS, S.F. LLESUY, O.R. KOCH u. A. BOVERIS
 (1987):
 Effect of vitamin E- and selenium-deficiency on rat liver
 chemiluminescence.
 Biochem. J., 242, 383-386
- FRANK, H., T. HINTZE u. H. REMMER (1980):
 Volatile hydrocarbons in breath, an indication for peroxidative
 degradation of lipids.
 In : KOLB, B. (Ed.): Applied headspace gas chromatography.
 Heyden, 155-165
- FRANCHINI, A., S. BERTUZZI u. A. MELUZZI (1986):
 The influence of high doses of vitamin E on immune response of
 chicks to inactivated oil adjuvant vaccine.
 Clin. Vet. Vol., 109, 117-127
- FRANCHINI, A., A. MELUZZI, S. BERTUZZI u. G. GIORDANI (1988):
 High doses of vitamin E in the broilers diets.
 Arch. Geflügelk., 52, 12-16
- FRANZKE, C., G. HEDER u. J. SCHULTE (1965):
 Zur Stabilisierung von Fetten in Geflügelmastfutter mit
 Antioxidantien.
 Arch. Tierernähr., 15, 181-193
- FRAWLEY, J.R., J.H. KAY u. J.C. CALANDRA (1965):
 The residue of butylated hydroxytoluene (BHT) and metabolites
 in tissue and eggs of chickens fed diets containing radioactive
 BHT.
 Food Cosmet. Toxicol., 3, 471-474
- FREUDENFELD, J. (1985):
 Intermediäre Stoffwechselfparameter bei Belastung des Masthuhnes
 mit oxidierten Fetten. (Modellstudien am wachsenden Broiler).
 Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

- FRIDOVICH, I. (1975):
Superoxide dismutases.
Ann. Rev. Biochem., 44, 147-159
- FROMMER, U., V. ULLRICH u. H. STAUDINGER (1970):
Hydroxylation of aliphatic compounds by liver microsomes.
I : The distribution pattern of isomeric alcohols.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 351, 903-912
- FUKUZAWA, K. u. J.M. GEBICKI (1983):
Oxidation of alpha tocopherol in micelles and liposomes by the hydroxyl, perhydroxyl and superoxide free radicals.
Arch. Biochem. Biophys. 226, 242-251
- GALLO-TORRES, H.E. (1970):
Obligatory role of bile for intestinal absorbtion of vitamin E.
Lipids, 5, 379-384
- GALLO-TORRES, H.E. (1973):
Studies on the intestinal lymphatic absorbtion, tissue-distribution and storage of vitamin E.
Acta Agric. Scand. Suppl., 19, 97-104
- GALLO-TORRES, H.E. (1980 a):
Absorbtion.
In: MACHLIN, L. J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Marcel Dekker, New York, 170-192
- GALLO-TORRES, H.E. (1980 b):
Transport and metabolism.
In: MACHLIN, L. J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Marcel Dekker, New York, 193-267
- GAVINO, V.C., C.J. DILLARD u. A.L. TAPPEL (1984):
Release of ethane and pentane from rat tissue slices: Effect of vitamin E, halogenated hydrocarbons, and iron overload.
Arch. Biochem. Biophys., 233, 741-747
- GAVINO, V.C., C.J. DILLARD u. A.L. TAPPEL (1985):
Effect of dietary vitamin E and santokuin on regenerating rat liver.
Life sciences, 36, 1771-1777
- GEE, D.L. u. A.L. TAPPEL (1981):
Production of volatile hydrocarbons by isolated hepatocytes:
An in vitro model for lipid peroxidation studies.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 60, 112-120
- GERTZ, C. (1983):
Antioxidantien in Lebensmitteln.
Ernährungs-Umschau, 10, 337-339

GILBERT, D. u. I. GOLDBERG (1967):
 BHT oxidase: A liver microsomal enzyme induced by the treatment
 of rats with butylated hydroxytoluene .
 Food. Cosmet. Toxicol., 5, 481-490

GOODWIN, J.S. u. J. CEUPPINS (1983):
 Regulation of the immune response by prostaglandins.
 J. Clin. Immunol., 3, 295-315

GRCSCH, W. (1975):
 Ablauf und Analytik des oxidativen Fettverderbs.
 Z. Lebensm. -Unters. -Forsch., 157, 70-83

GRUPP, S.A. u. J.A.C. HARMONY (1985):
 Increased phosphatidylinositol metabolism is an important but
 not obligatory early event in B lymphocyte activation.
 J. Immunol., 134, 4087-4094

HAFEMANN, D.G. u. W.G. HOEKSTRA (1977):
 Lipid peroxidation in vivo during vitamin E and selenium
 deficiency in the rat as monitored by ethane evolution.
 J. Nutr., 107, 666-672

HAIGH, R. (1986):
 Safety and necessity of antioxidants: EEC approach.
 Food Chem. Toxicol., 24, 997-1255

HARMAN, D. (1982):
 The free-radical theory of aging.
 In : PRYOR, W. A. (Ed.): Free radicals in biology, Vol. 5.
 Academic Press, New York, 255-275

HARTFIEL, W. u. D. TUSCHY (1973):
 Der Fettverderb und sein Einfluß auf den Geschmack von
 Mastgeflügel.
 Kraftfutter, 56, 64-72

HARTFIEL, W. (1981):
 Fettoxidation und -stabilisation im Mischfutter und ihre
 Auswirkungen.
 Fats in feeds and feeding.
 Scandinavian Forum Lipid Res. and Techn., Göteborg, 30-39

HARTFIEL, W. (1982):
 Oxidativer Fettverderb und Futterqualität.
 Wiss. Vortragstagung der Fa. Lohmann, Cuxhaven

HATWAY, D.E. (1966):
 Metabolic fate in animals of hindered phenolic antioxidants in
 relation to their safety evaluation and antioxidant function.
 Advan. Food. Res., 15, 1-56

HEGEMANN, R. (1985):

Leistung, Gesundheit und antioxidativer Stoffwechsel des Mastschweines nach Verzehr oxidierten Fettes unter Berücksichtigung der Vitamin E/Selen-Versorgung. Tierärztl. Hochsch. Hannover, Diss.

HEINZERLING, R.H., R.P. TENGEDY, L.L. WICK u. D.C. LUEKEV (1974):

Vitamin E protects mice against *Diplococcus pneumoniae* type I infection.

Infect. Immun., 10, 1292-1295

HELAL, F.R., A.A. EL-NIMR u. N.S. AHMED (1979):

Effect of some synergists on buffalo milk fat oxidation. Egyptian Journal of Dairy Science, 7, 171-176

HEMLER, M.E. u. W.E.M. LANDS (1980):

Evidence for a peroxide-initiated free radical mechanism of prostaglandin biosynthesis.

J. Biol. Chem., 255, 6253-6261

HERSCHBERGER, L.A. u. A.L. TAPPEL (1982):

Effect of vitamin E on pentane exhalation by rats treated with methyl ethyl ketone peroxide.

Lipids, 17, 686-691

HICKS, M. u. J.M. GEBICKI (1979):

A spectrophotometric method for the determination of lipid hydroperoxides.

Anal. Biochem., 99, 249-253

HOBSON-FROHOCK, A. (1982):

Residues of Ethoxyquin in poultry tissues and eggs.

J. Sci. Food Agric., 33, 1269-1274

HOCHSTEIN, P. u. L. ERNSTER (1963):

ADP- activated lipid peroxidation coupled to the TPNH oxidase system of microsomes.

Biochem. Biophys. Res. Commun., 12, 388-394

HOEKSTRA, W.G. (1975):

Biochemical function of selenium and its relation to Vitamin E. Fed. Proc. 34, 2083-2089

HOFFELD, J.T. (1981): Agents which block membrane lipid peroxidation enhance mouse spleen cell immune activities.

In vitro relationship to the enhancing activity of 2-mercapto-ethanol.

Eur. J. Immunol., 11, 371-376

HOLDER, G.M., A.J. RYAN, R.T. WATSON u. L.I. WIEBE (1970) . The biliary metabolism of butylated hydroxytoluene (3,5-di-tertbutyl-4-hydroxytoluene) and its derivatives in the rats.

J. Pharm. Pharmacol., 22, 832-838

HOLLANDER, D. (1981):

Intestinal absorption of vitamins A, E, D and K.
J. Lab. Clin. Med., 97, 449-462

HORVAT, R.J., W.G. LANE, H. NG u. A.D. SHEPHERD (1964):

Saturated hydrocarbons from autoxidizing methyl linoleate.
Nature (London), 203, 523-524

HUNG, S.S.O., C.Y. CHO u. S.J. SLINGER (1981):

Effect of oxidized fish oil, dl- α -Tocopherylacetate and ethoxyquin supplementation on the vitamin E nutrition of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) fed practical diets.
J. Nutr., 111, 648-657

ISLER, O. u. G. BRUBACHER (1982):

Vitamine I

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 126-147

IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature of Tocopherols and Related Compounds (1974):

Eur. J. Biochem., 46, 217

IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature of Tocopherols and Related Compounds (1975):

Eur. J. Biochem., 53, 15

IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature of Tocopherols and Related Compounds (1982):

Eur. J. Biochem., 123, 473

IZAKI, Y., S. YOSHIKAWA u. M. UCHIYAMA (1984):

Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats.
Lipids, 19, 324-331

JACKSON, D.W., G.R.J. LAW u. C.F. NOCKELS (1978):

Maternal vitamin E alters passively acquired immunity of chicks.
Polt. Sci., 57, 70-75

JANZEN, E.G. (1984):

Spin trapping.

In: PACKER, L. (Ed.): Methods in Enzymology, 105.
Academic Press, Orlando, 188-198

JORTNER, B.S., J.B. MELDRUM, C.H. DOMMERMUTH u. L.M. POTTER (1984):

Encephalomalacia associated with hypovitaminosis E in turkey poults.

Avian Dis. vol. 29, 2, 488-497

KANNER, J. u. J. E. KINSELLA (1983):

Initiation of lipid peroxidation by a peroxidase / hydrogen peroxide / halide system.

Lipids, 18, 204-210

KAPPUS, H., H. MULIAWAN (1982):

Alkane formation during liver microsomal lipid peroxidation.
Biochem. Pharmacol., 31, 597-600

KAPPUS, H. (1989):

Toxikologie freier Radikale und Antioxidantien
unter besonderer Berücksichtigung von Vitamin E.
Vitamin E Symposium, Bochum.

KANNO, C., K. YAMAUCHI u. I. TSUGO (1970):

Antioxidant effect of tocopherols on autoxidation of milk fat.
Part II. Antioxidant activity of tocopherols in the churned and
the solvent-extracted milk fat.
Agr. Biol. Chem., 43, 886-890

KARRER, P., H. FRITZCHE, B.H. RINGIER u. H. SALOMON (1938):

Zit. MASON, K.E. (1980):

The first two decades of vitamin E history.

In : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Dekker, New York, 1-6

KASPAREK, S. (1980):

Chemistry of tocopherols and tocotrienols.

In : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Marcel Dekker, New York, 7-65

KÄSTNER W. u. H. KAPPUS (1990):

Sicherheit bei Einnahme von Vitamin E, Toxikologische Aspekte
und Verträglichkeit bei oraler Aufnahme.

VERIS, Vitamin E Research & Information Service, 2, 1-24

KATO, K. u. S. MUROTA (1985):

Lipoxygenase specific inhibitors inhibit murine lymphocyte
reactivity to Con A by reducing IL-2 production and action.
Prostagland. Leukotr. Med., 18, 39-52

KAUNITZ, H. (1967):

Nutritional aspects of thermally oxidized fats & oils.
Fd. Tech., 21, 6064

KAWANISHI, T., Y. OHNO, A. TAKAHASHI, H. ISHIWATA, A. TANIMURA,
Y. KASUYA u. Y. OMORI (1981):

Studies on nitrosamine formation by interaction between drugs
and nitrite. I. Measurement of the amount of nitrosamine formed
in rat and guinea pig stomachs.

J. Toxicol. Sci., 6, 261-270

KING, D.W. (1964):

Comperative effects of certain antioxidants on gestational
performance and teratogeny in vitamin E deficient rats.

J. Int. Med. Res., 4, 138.

KITABCHI, A.E. (1980):

Hormonal status in vitamin E deficiency.

In : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Dekker Inc., New York, 348-371

KIVITS, G.A.A., C.R. GANGULI-SWARTTOUW, E.J. CHRIST (1981):

The composition of alkanes in exhaled air of rats as a result of lipid peroxidation in vivo.

Biochim. Biophys. Acta 665, 559-570

KONG, S. u. A.J. DAVIDSON (1980):

The role of interactions between O_2 , H_2O_2 , OH^* , e^- and O_2^- in free radical damage to biological systems.

Arch. Biochem. Biophys., 204, 18-29

KRINSKY, N.I. (1989):

Antioxidant functions of carotenoids.

Free Radical Biol. Med., 7, 617-635

KUHNERT, P., W. PLÖERT u. K.A. SCHROTER (1983):

Lebensmittel-Zusatzstoffe.

Deutsche Fachverlag, Frankfurt am Main, 146-152

KÖCKE, K. (1983):

Untersuchungen zum Einfluß oxidierter Futterfette auf die Wachstumsleistung, Schlachtkörperqualität und den Vitamin E-Status des Mastschweines.

Göttingen, Georg-August-Universität, Diss.

LADOMERY, L. D., A.J. RYAN u. S.E. WRIGHT (1967 a):

The excretion of [C^{14}]butylated hydroxytoluene in the rat.

J. Pharm. Pharmac., 19, 383-387

LADOMERY, L. D., A.J. RYAN u. S.E. WRIGHT (1967 b):

The biliary metabolites of butylated hydroxytoluene in the rat.

J. Pharm. Pharmac., 19, 388-394

LAMBELET, P., F. SAUCY u. J. LOELIGER (1985):

Chemical evidence for interactions between vitamin E and C.

Experientia, 41, 1384-1388

LAWRENCE, R.A. u. G. COHEN (1981):

Ethane exhalation by vitamin E-deficient rats.

Ann. NY Acad. Sci., 393, 227-228

LAWRENCE, G.D. u. G. COHEN (1982):

Ethane exhalation as an index of in vivo lipid peroxidation:

Concentrating ethane from a breath collection chamber.

Anal. Bioch., 122, 283-290

- LAWRENCE, G.D. u. G. COHEN (1984):
Concentrating ethane from a breath to monitor lipid peroxidation in vivo.
In : PACKER, L. (Ed.): Oxygen radicals in biological systems. Methods in enzymologie, Vol. 105.
Academic Press, New York, 305-311
- LEE, H.B. (1975):
Synergistic effect of citric acid on antioxidant property of BHT.
Korean Journal of Nutrition, 8, 95-100
- LEMOYNE, M., A. VAN GOSSUM, R. KURIAN, M. OSTRO, J. AXLER u. K.N. JEEJEEBHOY (1987):
Breath pentane analysis as an index of lipid peroxidation: A functional test of vitamin E status.
Am. J. Clin. Nutr., 46, 267-272
- LEUNG, H.W., M.J. WANG u. R.D. MAVIS (1981):
The cooperative interaction between vitamin E and C in suppression of peroxidation of membrane phospholipids.
Biochim. Biophys. Acta, 664, 266-272
- LINDNER, H. (1984):
Aktuelle Fragen zur Vitaminversorgung und Möglichkeiten der Bedarfsdeckung in der Fütterung landwirtschaftlicher Nutztiere.
Kraftfutter, 67, 3
- LUCY, J.A. (1972):
Functional and structural aspects of biological membranes: A suggested structural role for vitamin E in the control of membrane permeability and stability.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 203, 4-11
- LÜBBE, F. (1982):
Zur Effektivität von Antioxidantien.
Wiss. Vortragstagung der Fa. Lohmann, Cuxhaven.
- MACHLIN, L.J., R.S. GORDON u. K.H. MEISKY (1959):
The effects of antioxidants on vitamin E deficiency symptoms and production of liver peroxide in the chicken.
J. Nutr., 67, 333-343
- MACHLIN, L.J. u. R.S. GORDON (1962):
Linoleic acid as a causative agent of encephalomalacia in chicks fed oxidized fats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 103, 659-663
- MACHLIN, L.J., J. KEATING, J. NELSON, M. BRIN, R. FILIPSKI u. O. N. MILLER (1979):
Availability of adipose tissue tocopherol in the guinea pig.
J. Nutr., 109, 105-109

MACHLIN, L.J. (1980):

Epilogue.

In : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Dekker Inc., Basel, New York, 637-645

MACHLIN, L.J. (1984):

Food in science and technology (Handbuch der Vitamine).

Hoffmann-La Roche Inc., New Jersey, 99-145

MARUSICH, W.L., E. De RITTER, E.F. OGRINZ, J. KEATING, M.
MITROVIE u. R.H. BUNNELL (1975):

Effect of supplemental vitamin E in control rancidity in
poultry meat.

Poult. Sci., 54, 831-844

MC CAY, P.B. u. M. KING (1980):

Vitamin E: Its role as a biologic free radical scavenger and
its relationship to the microsomal mixed-function oxidase
system.

In : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Marcel Dekker, New York, 289-317

MC CAY, P.B., T. NOGUCHI, K.L. FONG, E.K. LAI u. J.L. POYER
(1980):

Production of radicals from enzyme systems and the use of spin
traps.

In : PRYOR, W.A. (Ed.): Free Radicals in Biology, IV.

Academic Press, New York, 155-186

MC CAY, P.B. (1985):

Vitamin E: interactions with free radicals and ascorbate.

Annu. Rev. Nutr. 5, 323-340

MC CUAIG, L.W. u. I. MOTZOK (1970):

Excessive dietary vitamin E: its alleviation of
hypervitaminosis A and lack of toxicity.

Poultry Sci., 49, 1050

MC MURRAY, C.H. (1980):

Nutritional supplies, requirements and effects of deficiencies
of vitamin E and selenium.

Proceeding of the Roche Symposium, London, Oct.23., 1980.

MEAD, J.F. (1980):

Membrane lipid peroxidation and its prevention.

J. Am. Oil Chem. Soc., 57, 393-397

MEAD, J.F. (1984):

Free radical mechanisms in lipid peroxidation and
prostaglandins.

In : ARMSTRONG, D. et al. (Ed.):

Free Radical in Molecular Biology Aging and Disease.

New York, 53-66

- MEADE, C.J., M.K. BIJSTERBOSCH, G.A. TURNER u. G.G.B. KLAUS (1985):
Triphosphoinositide breakdown in B-lymphocytes.
Biochem. Soc. Trans., 13, 383
- MEHLENBACHER, V. C. (1960):
The analysis of fats and oils.
Garrard Press, Champaign, IL
zit. nach GRAY, I. J. (1978)
- MENZEL, D.B. (1980):
In : MACHLIN, L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Dekker Inc., New York, 474-494
- MEULEN, U., M. ENDE, D.H. HUNNEMAN, G. REMBERG u. R. WALKER (1980):
Metabolic Studies on the Antioxidant Ethoxyquin.
Z. Tierphysiol., Tierer ahrung u. Futtermittelkunde, 43, 164-170
- MINOTTI, G. u. S.D. AUST (1987):
The role of iron in the initiation of lipid peroxidation.
Chem. and Physics of Lipids, 44, 191-208
- MIYASHITA, K., K. FUJIMOTO u. T. KANEDA (1982 a):
Structures of dimers produced from methyl linoleate during initial stage of autoxidation.
Agric. Biol. Chem, 46, 2293-2297
- MIYASHITA, K., K. FUJIMOTO u. T. KANEDA (1982 b):
Formation of dimers during the initial stage of autoxidation in methyl linoleate.
Agric. Biol. Chem, 46, 751-755
- MIYAZAWA, T., T. ANDO u. T. KANEDA (1983):
Tissue lipid peroxidation and ultraweak chemiluminescence in rats dosed with methyl linoleate hydroperoxide.
Agric. Biol. Chem., 47, 1333-1339
- MIYAZAWA, T. T. ANDO u. T. KANEDA (1986):
Effect of dietary vitamin C and vitamin E on tissue lipid peroxidation of guinea pigs fed with oxidized oil.
Agric. Biol. Chem., 50, 71-78
- MOLNAR, S. (1976):
Pr ufung der Lagerf ahigkeit von Futterfetten und fetthaltigen Futtermitteln.
Kraftfutter, 59, 208-209
- MURAI, T. u. J.W. ANDREWS (1974):
Interactions of dietary alpha-tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin in channel catfish (Ictalurus punctatus).
J. Nutr., 104, 1416-1431

- MURPHY, J.D. u. R.D. MAVIS (1981):
Membrane transfer of α -tocopherol.
J. Biol. Chem., 256, 10464-10468
- MÖLLER, H. (1980):
Anwendung von Ethoxyquin zur Qualitätserhaltung pflanzlicher
Produkte.
Fette, Seifen, Anstrichmittel, 82, 200-203
- MÖLLER, A., H. SIES (1984):
Assay of ethane and pentane from isolated organs and cells.
in: PACKER, L. (Ed.): Oxygen radicals in biological systems.
Methods in enzymology 105, Academic Press, Orlando, 311-319
- NAKAGAWA, Y., M. IKAWA u. K. HIRAGA (1978):
Biological fate of butylated hydroxytoluene (BHT): Subcellular
distribution of BHT in rat liver.
Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 26, 374-378
- NAKAGAWA, Y., K. HIRAGA u. T. SUGA (1979 a):
Biological fate of butylated hydroxytoluene (BHT): Binding in
vitro of BHT to macromolecules of the rat liver.
Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 27, 442-446
- NAKAGAWA, Y., K. HIRAGA u. T. SUGA (1979 b):
Biological fate of butylated hydroxytoluene (BHT): Binding in
vitro of BHT to liver microsomes.
Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 27, 480-485
- NAKAGAWA, Y., K. HIRAGA u. T. SUGA (1981 a):
Effects of Butylated Hydroxytoluene (BHT) on the level of
gluthathione and the activity of gluthathione-s-transferase in
rat liver.
Pharm. Dyn., 4, 823-826.
- NAKAGAWA, Y., K. HIRAGA u. T. SUGA (1981 b):
Biological fate of BHT: binding of BHT metabolites to cysteine
in vitro.
Biochemical Pharm., 30, 887-890
- NAKAGAWA, Y., K. HIRAGA u. T. SUGA (1983):
On the mechanism of covalent binding of butylated
hydroxytoluene
to microsomal protein.
Biochem. Pharmac., 32, 1417-1421
- NATHANS, A.H. u. A.E. KITABCHI (1975):
Effect of ascorbic acid on ACTH-induced cyclic AMP formation
and steroidogenesis in isolated adrenal cells of Vitamin E-
deficient rats.
Biochim. Biophys. Acta, 399, 244-253

- NELSON, J.S. (1980):
Pathology of vitamin E deficiency.
In : MACHLIN L.J. (Ed.): Vitamin E - A comprehensive treatise.
Verlag Dekker, New York, 397-428
- NIESAR, K.H. (1965):
Der Fetteinsatz in der Nutztierernährung.
Mitteilungen für Tierernährung, 63, 1-10
- NIESAR, K.H. u. H.P. SALLMANN (1966):
Zit. nach BRÜGGEMANN et al. (1967)
- NIKI, E., J. TSUCHIYA, R. TANIMURA u. Y. KAMIYA (1982):
Regeneration of vitamin E from α -chromanoxyl radical by
gluthatione and vitamin C.
Chem. Lett., 789-792
- NIKI, E., Y. YAMAMOTO u. Y. KAMIYA (1984):
Oxidation of phosphatidylcholine and its inhibition by vitamin
E and Vitamin C.
In : W. BORS, M. SARAN u. D. TAIT (Ed.):
Oxygen radicals in chemistry and biology.
Verlag de Gruyter, Berlin, New York, 273-280
- NIKI, E., J. TSUCHIYA, Y. YOSHIKAWA, Y. YAMAMOTO u. Y. KAMIYA
(1986):
Oxidation of lipids. XIII. Antioxidants activities of α -, β -, γ -
and δ -tocopherols.
Bull. Chem. Soc. Jpn., 59, 497-501
- NIKI, E. (1987):
Antioxidants in relation to lipid peroxidation.
Chemistry and Physics of Lipids, 44, 227-253
- NOCKELS C.F. (1979):
Protective effects of supplemental vitamin E against infection.
Fed. Proc., 38, 2134-2138
- OBERBACH, H. u. W. HARTFIEL (1988):
Untersuchungen über die Wirkung synthetischer Antioxidantien im
Vergleich zu Vitamin E und Selen im Futter von
Regenbogenforellen (Salmo gairdnerii R.).
Fat Sci. Technol., 90, 227-230
- OERTEL, M.L. (1980):
Einfluß von frischen und oxidierten Fetten/Ölen unter
Verwendung von Pro- und Antioxidantien auf das Wachstum von
Masthühnerküken sowie die Einlagerung von Carotinoiden im
Eidotter.
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, Diss.
- OHFUJI, T. u. T. KANEDA (1973):
Characterization of toxic compounds in thermally oxidized oil.
Lipids, 8, 353-359

- OLSON, R.E. (1967):
Are we looking at the right enzyme system ?
Amer. J. Clin. Nutr., 20, 604-608
- OLSON, R.E. (1974):
Creatine kinase and myofibrillar proteins in hereditary
muscular dystrophy and vitamin E deficiency.
Amer. J. Clin. Nutr., 27, 1117-1124
- OSKI, F.A. (1980):
Vitamin E a radical defense.
N. Engl. J. Med., 12, 454-460
- PAPPENHEIMER, A.M. u. M.A. GOETTSCH (1931):
A cerebellar disorder in chicks, apparently of nutritional
origin.
Jour. Exp. Med., 53, 11-16
- PARKER, D.V., A. RAHIM u. R. WALKER (1974):
Reversibility of hepatic changes caused by ethoxyquin.
Biochemical Pharm., 23, 1871-1876
- PEARSON, C.K. u. M.C. BARNES (1970):
Absorption of tocopherols by small intestinal loops of the rat
in vivo.
Int. J. Vit. Res., 40, 19-22
- PERCY, M.E. (1984):
Catalase: an old enzyme with a new role ?
Can. J. Biochem. Cell. Biol., 62, 1006-1014
- PIKUL, J., A. NIEWIAROWICZ u. J. KIJOWSKI (1983):
Einfluß von Antioxidantien auf die Stabilität maschinell
gewonnenen und gefrorenen Geflügelfleisches.
Fleischwirtschaft, 63, 960-964
- PINCEMAIL, J., C. DEBY u. A. DETHIER (1987):
Pentane measurement in man as an index of lipoperoxidation.
Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 18, 117-125
- PONGRACZ, G. (1988):
Hitzestabilität der Tocopherole.
Fat Sci. Technol., 90, 247-251
- PRYOR, W.A. (1973):
Free radical reactions and their importance in biochemical
systems.
Fed. Proc., 32, 1862-1868
- PUTNAM, M. E. u. N. COMBEN (1987):
Vitamin E.
Veterinary Record 121, 541-545

- RAEITHEL, H. (1955):
Fettverderb und Antioxydantien.
Fette, Seifen, Anstrichmittel, 57, 799-806
- RAMMEL, C.G., B. CUNLIFFE u. A.J. KIEBOOM (1983):
Determination of alpha-tocopherol in biological specimens by
high-performance liquid chromatography.
J. Liq. Chrom., 6, 1123-1130
- RANNEY, M.W. (1979):
Antioxidants.
Noyes Data Corporation, New Jersey, 308-352
- RECKNAGEL, R.O., A.K. GHOSHAL (1966):
Quantitative estimation of peroxidative degeneration of rat
liver microsomal and mitochondrial lipids after carbon
tetrachloride poisoning.
Exp. Mol. Pathol., 5, 413-426
- RIELY, C.A., G. COHEN u. M. LIEBERMANN (1974):
Ethane evolution: A new index of lipid peroxidation.
Science 183, 208-210
- ROLA-PLESZCZYNSKI, M., L. GAGNON u. P. SIROIS (1983):
Leukotriene B₄ augments human natural cytotoxic cell activity.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 113, 531-537
- ROSS, R. (1974):
Wissenwertes über Antioxydantien.
Abt. Anwendungstechnische Forschung, Naarden Geschmackszentrum.
- RUITER, DE, N., H. OTTENWÄLDER, H. MULIAWAN, H. KAPPUS (1982):
Lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes measured by
ethane and n-pentane formation.
Arch. Toxicol., 49, 265-273
- SAGEI, M. u. A.L. TAPPEL (1978):
Effect of vitamin E on carbon tetrachloride-induced lipid
peroxidation as demonstrated by in vivo pentane production.
Toxicol. Letters, 2, 149-155
- SALLMANN, H.P. (1965):
Über den Einsatz von Antioxydantien in der Tierernährung.
Bilanzstudie mit 2,6 Ditertiär-butyl-hydroxy-toluol (BHT)
am Geflügel.
Tierärztl. Fak. der Uni. München, Diss.
- SALLMANN, H.P., W. DROMMER u. K.L. SOLARO (1988):
Pathogenic and metabolic impact on broilers strained by
oxidized fats.
Isr. J. Vet. Med., 44, 183-194

- SALLMANN H.P. u. H. FUHRMANN (1990):
Metabolische Effekte oxidiertes Futterfette.
Fat Sci. Technol., 92, 539-543
- SCHÄFER, H. u. I. ELMADFA (1984):
Einfluß verschiedener Lagerungstemperaturen und Lagerungszeiten
auf die Peroxidbildung in Futterproben bei Zusatz von α - oder
 γ -Tocopherol.
Z. Tierphys., Tierernähr., Futtermittelk., 51, 229-236
- SCHÄFER, K., K. MÄNNER, D. WOLLIEU u. K. BRONSCH (1984):
Beitrag zur optimalen Selenversorgung von Junghennen.
Z. Tierphys., Tierernähr., Futtermittelk., 51, 70-79
- SCHOLE, J., G. HARISCH u. H.P. SALLMANN (1978):
Belastung, Ernährung und Resistenz.
Fortschritte in der Tierphysiologie und Tierernährung.
Verlag Parey, 9, 37-56, 62-68
- SCHOLE, J. (1982):
Theory of metabolic regulation including hormonal effects on
the molecular level.
J. Theor., Biol., 96, 579-615
- SCHWARZ, K. u. W. BAUMGARTNER (1970):
Kinetic studies in mitochondrial enzymes during respiratory
decline related to the mode of action of tocopherol.
In: DE LUCA, H.F., u. J.W. SUTTIE (Ed.):
The fat soluble vitamins.
Madison, Univ. of Wisconsin Press, 317
- SCOTT, M.L., T. NOGUCHI u. G.F. COMBS (1974):
New evidence concerning mechanism of action of vitamin E and
selenium.
Vit. Horm., 32, 429-444
- SCOTT, M.L., N.C. NESHEIM u. J. YOUNG (1976):
Nutrition of the chicken.
M.L. Scott Assoc., Ithaca
- SCOTT, M.L. (1980):
Advances in our understanding of Vitamin E.
Fed. Proc. 39, 2736-2739
- SEGAGNI, E. (1955):
Vitamin E effect on vaccination.
Minerva Ped., 7, 985-987
- SEVANIAN, A. u. E. KIM (1985):
Phospholipase A₂ dependent release of fatty acids from
peroxidized membranes.
J. Free-Radical Biol. Med., 1, 263-271

- SEVANIAN, A. u. P. HOCHSTEIN (1985):
Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems.
Ann. Rev. Nutr., 5, 365-390
- SHAW, Y.S. u. C. CHEN (1972):
Ring hydroxylation of di-tert-butyl hydroxytoluene by rat liver microsomal preparations.
Biochem. J., 128, 1285-1291
- SHEFFY, B.E. u. R.D. SCHULTZ (1979):
Influence of vitamin E and selenium on immune response mechanisms.
Fed. Proc., 38, 2139-2143
- SIMARD, P. u. U. SRIVASTAVA (1974):
Protein synthesis in the skeletal muscle of vitamin E-deficient rabbits.
J. Nutr., 104, 521-531
- SINGSEN, E.P., R.H. BUNNEL, A. KOZEFF, L.D. MATTERSON u. E.L. JUNGHERR (1955):
Studies on encephalomalacia in the chick. The protective action of diphenyl-p-phenylenediamine against encephalomalacia.
Poultry Sci. 34, 262-271
- SKAARE, J.U. (1979):
Studies on the biliary excretion and metabolites of the antioxidant ethoxyquin, 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline in the rat.
Xenobiotica, 9, 659-668
- SKAARE, J.U. u. E. SOLHEIM (1979):
Studies on the metabolism of the antioxidant ethoxyquin, 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline in the rat.
Xenobiotica, 9, 649-657
- SLATER, T.F. (1984):
Overview of methods used for detecting lipid peroxidation.
In: PACKER, L. (Ed.): Methods in Enzymology, 105, Academic Press, Orlando, s. 283-293
- SMITH, L.L. (1981):
In: Cholesterol, Autoxidation.
Plenum Press, New York, s. 125-127
- SMITH, M.T., H. THOR, P. HARZELL u. S. ORRENIUS (1982):
The measurement of lipid peroxidation in isolated hepatocytes.
Biochem. Pharmacol., 31, 19-26

SOLARO, K.L. (1983):

Auswirkungen oxidierten Sojaöles auf Gesundheit und antioxidativen Stoffwechsel des Masthuhnes unter besonderer Berücksichtigung der Vitamin E- und Selenversorgung.
Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

SPENDEL, T. (1988):

Untersuchungen zur endogenen Lipidperoxidation beim Ferkel: Einfluss der Art der Fettzulage und der Vitamin E-Supplementierung auf die Peroxidationsrate in vivo und in vitro.
Göttingen, Georg-August-Uni., Diss.

STACEY, N.H., H. OTTENWÄLDER u. H. KAPPUS (1982):

CCl₄ - induced lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes with different oxygen concentrations.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 62, 421-427

STEGMANN, T. (1987):

Peroxidativer und antioxidativer Stoffwechsel des Masthuhnes bei diätetischer Belastung.
Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

SURE, B. (1924):

Dietary requirements of reproduction:
II. The existence of a specific vitamin for reproduction.
J. Biol. Chem. 58, 639 - 709

SÜLFLOHN, K. (1988):

Das geltende Futtermittelrecht mit Typenliste für Einzel- und Mischfuttermittel.
ASR-Verlag GMBH, Rheinbach, 106

TAKAHASHI, O. u. K. HIRAGA (1979):

2,6-Di-tert-butyl-4-methylene-2,5-cyclohexadienone: A hepatic metabolite of butylated hydroxytoluene in rats.
Food Cosmet. Toxicol., 17, 451-454

TAKAHASHI, O. u. K. HIRAGA (1980):

Excretion of dietary butylated hydroxytoluene (BHT) in the rat.
Toxicol. Lett., 6, 287-292

TAPPEL, A.L. (1962):

Vitamin E as the biological lipid antioxidant.
Vitamins. Horm. 20, 493-510

TAPPEL, A.L. (1972):

Free radical peroxidation of lipids.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 203, 12-28

TAPPEL, A.L. (1980):

Measurement of and protection from in vivo lipid peroxidation.
In: PRYOR, W.A. (Ed.): Free radicals in biology.
Academic Press, New York, London, 4, 1-47

- TAPPEL, A.L. u. C.J. DILLARD (1981):
In vivo lipid peroxidation: Measurement via exhaled pentane
and protection by vitamin E.
Fed. Proc., 40, 147-178
- TENGERDY, R.P., R.H. HEINZERLING, G.L. BROWN u. H.H. MATHIAS
(1973):
Enhancement of the humoral immune response by vitamin E.
Int. Arch. Allergy, 44, 221
- TENGERDY, R. u. C.F. NOCKELS (1975):
Vitamin E or vitamin A protects chickens against E. coli
infection.
Poult. Sci., 54, 1292-1296
- TENGERDY, R.P. u. J.C. BROWN (1977):
Effects of vitamin E and A on humoral immunity and phagocytosis
in E coli infected chicken.
Poult. Sci., 56, 957-963
- TENGERDY, R.P., M.M. MATHIAS u. C.F. NOCKELS (1981):
Vitamin E, immunity and disease resistance.
Adv. Exp. Med. Biol., 135, 27-42
- TAUFEL, K. (1958):
Verhütung des Fettverderbs.
Wiss. Veröffentl. DGE, 1, 128-156
- THOMPSON, J.N. u. M.L. SCOTT (1970):
Impaired lipid and vitamin E absorption related to atrophy of
the pancreas in selenium deficient chicks.
J. Nut., 100, 797-809
- TIEN, M. u. S.D. AUST (1982):
Rabbit liver microsomal lipid peroxidation. The effect of lipid
on the rate of peroxidation.
Biochim. Biophys. Acta, 712, 1-9
- TIEWS, J. u. H. ZUCKER (1969):
Organische Stoffe mit Sonderwirkungen als Futtermittel und
Mischfutterkomponenten.
In: BECKER, M. u. K. NEHRING (Ed.): Handbuch der Futtermittel.
Verlag Paul Parey, Hamburg, 491-494
- TSUCHIDA, M., T. MIURA, K. MIZUTANI u. K. AIBARA (1985):
Fluorescent substances in mouse and human sera as a parameter
of in vivo lipid peroxidation.
Biochim. Biophys. Acta, 834, 196-204
- TYE, R., J.D. ENGEL u. I. RAPIEN (1965):
Disposition of butylated hydroxytoluene (BHT) in the rat.
Food Cosmet. Toxicol., 3, 547-551

- VLEET, J.F. van u. R.R. WATSON (1984):
Effects of selenium and vitamin E on resistance to infectious disease.
Clin. Exp. Nutr. Ser., 1, 299-312
- VORECK, O. u. M. KIRCHGESSNER (1981):
Ausfallerscheinungen von Legehennen bei autoxydiertem, nativem Fett im Futter.
Arch. Geflügelk., 45, 19-23
- WEICHSELBAUM, T.E. (1946):
An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of blood serum and plasma.
Am. J. Clin. Path. (Techn. Sect.) 10, 40-49.
- WENDEL, A. (1980):
Gluthation peroxidase.
In: JACOBY, W.B. (Ed.): Enzymatic Basis of Detoxication, I, Academic Press, New York, 333-353
- WHEELER, D.H. (1932):
Methode zur Bestimmung der Peroxidzahl.
in: PARDUN, H. (Ed.): Analyse der Nahrungsfette, 16.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg
- WIEBE, L.I., J.R. MERCER u. A.J. RYAN (1978):
Urinary metabolites of 3,5-di-(1-[¹³C]methyl-1-methylethyl)-4-hydroxytoluene (BHT-¹³C) in man.
Drug. Metab. Dispos., 6, 296-302
- WILLIAMSON, D., P. ESTEREZ u. H.P. WITSCHI (1978):
Studies on the pathogenesis of butylated hydroxytoluene-induced lung damage in mice.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 43, 577-578
- WITSCHI, H., A.M. MALKINSON u. J.A. THOMPSON (1989):
Metabolism and pulmonary toxicity of butylated hydroxytoluene (BHT).
Pharmac. Ther., 42, 89-113
- WISPE, J.R., E.F. BELL u. R.J. ROBERTS (1985):
Assessment of lipid peroxidation in newborn infants and rabbits by measurements of expired ethane and pentane:
Influence of parenteral lipid infusion.
Pediatric Res., 19, 374-379
- YAMAMOTO, K., K. TAJIMA u. T. MIZUTANI (1979):
Three new BHT metabolites.
J. Pharmacobio. Dyn., 2, 164-169
- ZINTZEN, H. (1976):
Vitamin E und Selen in der Tierernährung.
Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen

ZUCKER, H. (1969):

Zusatzstoffe.

In : LENKEIT, W., K. BREIREM u. E. CRASEMANN (Ed.):

Handbuch der Tierernährung.

Verlag Paul Parey, 143-152

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. H.-P. Sallmann für die Überlassung des Themas und die gewährleistete Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit bedanken.

Ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. H. Fuhrmann für die wertvolle Beratung bei dieser Arbeit.

Auch ein ganz herzlicher Dank gilt Frau D. Fehr für die Hilfe bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Im weiteren danke ich Frau A. Widdel und Herrn U. Glockenthör für die technische Unterstützung sowie allen anderen Mitarbeitern für ihre verständnisvolle Hilfe.