

3. Material und Methoden

3.1. Zeitlicher Ablauf der Versuche

Die Tab. 14 und 15 geben eine Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Untersuchungen mit Angaben zu Beginn und Ende sowie zur Aufgabenstellung des jeweiligen Versuchsabschnittes.

Tab. 14: Übersicht über die einzelnen Versuchsphasen (V)

V	Datum	Aufgabenstellung	
1	04.02.2003 – 11.03.2003	Verabreichung von CaCl ₂ bzw. CaSO ₄ zur Langzeitstudie	
	12.03.2003 – 07.04.2003	Washout-Phase	
2	08.04.2003 – 28.04.2003	Verabreichung von CaCl ₂ bzw. CaSO ₄ bei moderater Energieversorgung (Stroh u. Kraftfutter, Erhaltungsbedarf NEL)	
3	29.04.2003 – 20.05.2003	Verabreichung von CaCl ₂ bzw. CaSO ₄ bei reduzierter Energieversorgung (Stroh, Erhaltungsbedarf NEL)	
	21.05.2003 – 02.06.2003	Washout-Phase	
4	03.06.2003 – 11.06.2003	Gleichzeitige Gabe von KHCO ₃ und CaCl ₂ bzw. CaSO ₄	
	12.06.2003 – 23.06.2003	Washout-Phase	
5	24.06.2003 – 02.07.2003	Gleichzeitige Gabe von NaHCO ₃ und CaCl ₂ bzw. CaSO ₄	
	03.07.2003 – 14.07.2003	Washout-Phase	
6	15.07.2003 – 23.07.2003	Gleichzeitige Gabe von KHCO ₃ und NaHCO ₃ und CaCl ₂ bzw. CaSO ₄	
	24.07.2003 – 04.08.2003	Washout-Phase	
7	05.08.2003 – 13.08.2003	Verabreichung von KHCO ₃ bzw. NaHCO ₃	
	14.08.2003 – 01.09.2003	Washout-Phase	
8	02.09.2003 – 12.09.2003	Verabreichung von CaCl ₂ bzw. CaSO ₄ bei einer calciumarmen Fütterung (Stroh- und Maisschrot)	
	13.09.2003 – 29.09.2003	Washout-Phase	
9	30.09.2003 – 09.10.2003	Verabreichung von CaCl ₂ bzw. CaSO ₄ bei einer ausgeglichenen Calciumversorgung (Stroh, Maisschrot und Kalk)	
	10.10.2003 – 27.10.2003	Washout-Phase	
10	28.10.2003 – 02.12.2003	Verabreichung von CaCl ₂ bzw. CaSO ₄ zur Langzeitstudie	
	03.12.2003 – 07.12.2003	Washout-Phase	
11	08.12.2003 – 15.12.2003	Einmalige Verabreichung von CaCl ₂ bzw. CaSO ₄ pro Tag	
	16.12.2003 – 04.01.2004	Washout-Phase	
12	05.01.2004 – 11.01.2004	Verabreichung von 2,5 Äquivalenten CaSO ₄	Wöchentliche Steigerung der CaSO ₄ -Gabe
	12.01.2004 – 18.01.2004	Verabreichung von 3 Äquivalenten CaSO ₄	
	19.01.2004 – 25.01.2004	Verabreichung von 3,5 Äquivalenten CaSO ₄	
	26.01.2004 – 01.02.2004	Verabreichung von 4 Äquivalenten CaSO ₄	
	02.02.2004 – 08.02.2004	Verabreichung von 4,5 Äquivalenten CaSO ₄	
	09.02.2004 – 15.02.2004	Verabreichung von 5 Äquivalenten CaSO ₄	
	16.02.2004 – 22.02.2004	Verabreichung von 5,5 Äquivalenten CaSO ₄	
	23.02.2004 – 01.03.2004	Verabreichung von 6 Äquivalenten CaSO ₄	
02.03.2004 – 08.03.2004	Washout-Phase		

Tab. 15: Übersicht über die Tagesprofile

Tagesprofil	Versuch	Datum
1	V11	08.12.2003
2	V11	15.12.2003 – 16.12.2003
3	V12 (Übergang von 2,5 zu 3 equ)	12.01.2003 – 13.01.2003
4	V12 (4 equ)	27.01.2003 – 28.01.2003

3.2. Versuchstiere und Versuchstierhaltung

Als Versuchstiere standen elf pansenfistulierte, nichtlaktierende, nichttragende Milchrinder der Rasse Holstein-Frisian* zur Verfügung, deren Alter von sechs bis elf Jahren variierte. Das Gewicht betrug 550 bis 850 kg. Die Tiere befanden sich in Anbindehaltung mit Stroheinstreu.

3.3. Fütterung

Die Fütterung der Versuchstiere fand stets ab 07.⁰⁰ Uhr und ab 14.⁰⁰ Uhr statt. Es wurde Wiesenheu (Heu), Gerstenstroh (Stroh), Krafftutter (KF), Maisschrot (Schrot), Viehsalz (Salz) und Futterkalk (Kalk) verabreicht (Tab. 16 – 19). Die Anfütterung der jeweiligen Ration erfolgte eine Woche vor Beginn des Versuches. Bei dem Versuch 12 wurde das Heu I bis zum 29. Probenstag und Heu II ab diesem Zeitpunkt den Tieren 4, 5 und 6 vorgelegt. Da die Akzeptanz von Heu I nur mäßig war, wurde die Menge auf 5 kg pro Tag reduziert. Die Menge von 8 kg bei dem Heu II wurde vollständig von den Tieren 4, 5 und 6 aufgenommen. Bei den Versuchen 8 und 9 wurde statt Gerstenstroh am dritten und zweiten Tag vor der letzten Salzprobe Heu verfüttert. Einen Tag zuvor und am letzten Probenstag der Salzphase wurde die reguläre Strohration vorgelegt. Danach wurde eine Ration aus Heu, Krafftutter und Futterkalk verfüttert. Jedes Versuchstier erhielt Wasser über eine Selbsttränke, von deren Wasseruhr täglich der Wasserverbrauch abgelesen wurde.

Tab. 16: DCAB der Futterration ohne und mit Salz in den Versuchen 1 bis 11

V	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
DCAB Futter (meq/kg TS)	399	438	575	276	287	288	288	318	319	390	234
DCAB Salz (meq/kg TS)	167	170	216	(276)	(287)	(288)	450	47	49	172	0

$$\text{DCAB} = (\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + \text{S}) \text{ [meq/kg TS]}$$

Tab. 17: DCAB der Futterration ohne und mit Salz im Versuch 12

Futter	DCAB Futter (meq/kg TS)	DCAB Salz (meq/kg TS)								
bis zum 29. Tag	179	-211	-289	-367	-440					
ab dem 29. Tag	183					-315	-370	-425	-481	
Menge von CaSO ₄ (equ/ Kuh/d)		2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	

$$\text{DCAB} = (\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + \text{S}) \text{ [meq/kg TS]}$$

* Versuchstiernummer: G 0134/01

Tab. 18: Futterration der einzelnen Versuche – Futterinhaltsstoffe (pro kg TS)

V	Futter	OS (kg/ d)	TS (g/kg OS)	Na (g/kg TS)	K (g/kg TS)	Cl (g/kg TS)	S (g/kg TS)	Ca (g/kg TS)	Mg (g/kg TS)	P (g/kg TS)	NEL (MJ/ kg TS)
1	Heu	8	856	0,30	23,36	3,24	0,77	12,6	2,28	3,57	5,60
	KF	2	895	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,10	6,27
	Kalk	0,3						185			
	gesamt			0,48	19,40	2,95	0,78	17,33	2,32	3,76	5,55
2	Stroh	6	949	0,64	21,39	0,88	0,49	3,32	0,35	0,45	3,80
	KF	2	895	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,10	6,27
	Kalk	0,3						185			
	Salz	0,03		397		603					
gesamt			2,78	17,31	3,50	0,57	11,20	0,91	1,50	4,21	
3	Stroh	6	927	0,30	23,65	1,02	0,24	4,13	0,41	0,58	3,8
	Kalk	0,3						185			
	Salz	0,03		397		603					
	gesamt			2,31	22,33	4,03	0,23	13,32	0,39	0,55	3,59
4	Heu	8	909	0,33	21,50	5,36	1,60	10,28	2,75	2,57	5,40
	KF	2	895	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,10	6,27
	Kalk	0,3						185			
	gesamt			0,5	18,14	4,61	1,42	15,32	2,68	3,11	5,39
5	Heu	8	925	< 0,1	19,83	4,69	0,77	5,53	1,3	2,32	4,6
	KF	2	895	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,1	6,27
	Kalk	0,3						185			
	gesamt			0,31	16,88	4,23	0,80	11,92	1,60	2,86	4,93
6	Heu	8	933	0,26	16,16	2,61	0,38	7,19	1,58	2,25	4,9
	KF	2	895	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,1	6,27
	Kalk	0,3						185			
	gesamt			0,44	14,03	2,48	0,47	12,80	1,77	2,71	5,00
7	Heu	8	933	0,26	16,16	2,61	0,38	7,19	1,58	2,25	4,9
	KF	2	895	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,1	6,27
	Kalk	0,3						185			
	gesamt			0,44	14,03	2,48	0,47	12,80	1,77	2,71	5,00
8	Stroh	6	933	0,62	16,55	1,64	0,24	3,66	0,76	0,70	3,80
	Schrot	2	895	< 0,1	4,48	0,50	0,09	0,17	1,27	3,29	8,50
	gesamt			0,49	13,63	1,36	0,20	2,81	0,88	1,33	4,94
9	Stroh	6	935	0,68	16,5	1,17	0,34	3,89	0,58	0,58	3,60
	Schrot	2	891	< 0,1	3,45	0,47	0,07	0,11	1,15	3,07	8,40
	Kalk	0,3						185			
	gesamt			0,52	12,83	0,96	0,26	10,08	0,69	1,14	4,57
10	Heu	8	926	0,21	24,6	4,36	1,11	8,36	2,12	3,27	5,58
	KF	2	883	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,10	6,27
	Kalk	0,3						185			
	gesamt			0,40	20,64	3,85	1,04	13,76	2,19	3,51	5,53
11	Heu	8	846	< 0,1	17,81	3,97	1,44	2,45	1,61	1,87	4,60
	KF	2	883	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,10	6,27
	Kalk	0,3						185			
	gesamt			0,33	15,15	3,51	1,29	9,63	1,81	2,45	4,78
12	Heu I	5	931	0,17	17,33	7,93	0,64	3,57	0,21	1,74	4,40
	Heu II	8	910	0,25	19,46	8,44	1,32	7,99	2,16	2,30	5,30
	KF	2	883	1,25	7,52	2,35	0,93	7,34	2,86	5,10	6,27
	Kalk	0,3						185			
	gesamt I			0,45	13,99	6,11	0,69	12,66	0,90	2,55	4,70
	gesamt II			0,43	16,58	7,05	1,20	13,55	2,22	2,76	5,31

Tab. 19: Futterration der einzelnen Versuche – Futterinhaltsstoffe der Gesamtration (pro d)

V	Na (g/d)	K (g/d)	Cl (g/d)	S (g/d)	Ca (g/d)	Mg (g/d)	P (g/d)	NEL (MJ/d)
1	4,29	173,40	26,37	6,97	154,9	20,74	33,61	49,61
2	21,72	135,26	27,35	4,46	87,52	7,11	11,72	32,90
3	13,61	131,57	23,75	1,36	78,48	2,30	3,24	21,15
4	4,68	169,83	43,16	13,3	143,43	25,09	29,12	50,46
5	2,94	160,19	40,14	7,59	113,12	15,18	27,14	46,79
6	4,20	134,04	23,69	4,49	112,29	16,91	25,89	47,77
7	4,20	134,08	23,69	4,49	112,29	16,91	25,89	47,77
8	3,62	100,70	10,05	1,48	20,76	6,50	9,83	36,50
9	4,00	98,69	7,38	2,00	77,54	5,31	8,77	35,15
10	3,79	195,54	36,48	9,85	130,36	20,75	33,25	52,39
11	2,92	133,84	31,01	11,40	85,07	15,99	21,64	42,23
12 I	3,03	93,96	41,07	4,64	85,08	6,05	17,14	31,59
12 II	4,02	154,96	65,89	11,22	126,64	20,75	25,80	49,63

3.4. Durchführung der Salzgabe

In Tab. 20 ist die Art und die Menge der verwendeten sauren Salze sowie die Aufteilung der elf Versuchstiere in sogenannte Salzgruppen verdeutlicht. So wird ersichtlich, dass die Kühe, mit Ausnahme des Versuches 12, stets in zwei Salzgruppen eingeteilt wurden. Die Auswahl der Tiere erfolgte zufällig. Entsprechend dieser Gruppierung wurden die bestimmten Salze während eines Versuches direkt in den Pansen verabreicht.

Bei der Vorbereitung wurden dazu die Salze in Plastikflaschen mit deionisiertem Wasser in Lösung gebracht. Die Verabreichung der Salzlösungen CaCl_2 und KHCO_3 erfolgte über eine Tropfinfusion, die an einen Dreiwegehahn an die Pansenfistel befestigt wurde. Die durchschnittliche Laufdauer betrug für zwei Liter etwa eineinhalb Stunden zwischen 7.³⁰ und 9.⁰⁰ Uhr und zwischen 14.³⁰ und 16.⁰⁰ Uhr. CaSO_4 und NaHCO_3 wurde im Bolus über ein Trichterschlauchsystem durch die Pansenfistel in den Pansen gegeben. Begonnen wurde eine halbe Stunde nach Vorlage des Heus, also gegen 7.⁴⁵ Uhr und 14.⁴⁵ Uhr.

Die Salzgabe wurde erstmals am Probenstag 0 um 14.⁰⁰ Uhr nach der Entnahme der Ausgangsprobe vorgenommen. An die Salzphasen schloss sich eine Washout-Phase an, während der keine Salze verabreicht wurden. Lediglich bei dem Versuch 2 und 12 (2,5 Äquivalente) wurde keine Washout-Phase eingeräumt. Bei dem Versuch 12 wurde wöchentlich die Salzmenge gesteigert, wobei keine Washout-Phase vor der Verabreichung der nächst höheren Dosierung vorhanden war. Stattdessen wurde die Salzgabe bei jedem Versuchstier unabhängig von der Dosierung und der Dauer der Salzphase bei Auftreten von Appetitmangel beendet, so dass sich daran eine Washout-Phase für jedes Einzeltier anschloss.

Tab. 20: Übersicht über die Mengen verwendeter Salze und die Anzahl der Tiere

V	CaCl ₂ (equ/Kuh/d)	n	CaSO ₄ (equ/Kuh/d)	n	KHCO ₃ (equ/Kuh/d)	n	NaHCO ₃ (equ/Kuh/d)	n
1	2	5	2	6				
2	2	5	2	6				
3	2	5	2	6				
4	1,5	5	1,5	6	1,5	11		
5	1,5	5	1,5	6			1,5	11
6	1,5	5	1,5	6	0,75	11	0,75	11
7					1,5	5	1,5	6
8	2	5	2	6				
9	2	5	2	6				
10	2	5	2	6				
11	2	5	2	6				
12	2,5		2,5	11				
	3		3	11				
	3,5		3,5					
	4		4					
	4,5		4,5	bis				
	5		5					
	5,5		5,5	2				
6		6						

n = Anzahl der Versuchstiere

3.5. Durchführung der Beprobung

Die Beprobung der Versuchstiere erfolgte mehrmals wöchentlich. Die Tab. 21 bis 23 geben einen Überblick über den Ablauf der Beprobung.

Für die Uringewinnung wurden die Kühe trainiert, bei leichtem, reibendem Streicheln unterhalb der Vulva Harn abzugeben. Dazu wurde vorerst die Scham mit Zellstoff feucht und anschließend trocken gereinigt. Der Urin wurde in 100 ml großen Plastikgefäßen aufgefangen.

Nach Punktion der Vena jugularis wurde das venöse Blut in 10 ml großen Serum-Polypropylenröhrchen mit Gerinnungsförderer und Trennmittel verbracht.

Tab.21: Zeitlicher Ablauf der Probengewinnung während der Salzphase

Uhrzeit	Behandlung
07. ⁰⁰ –	Fütterung
07. ⁰⁰ – 09. ⁰⁰	Verabreichung der Salze über die Pansenfistel
10. ⁰⁰ – 10. ³⁰	Urinprobenentnahme
11. ⁰⁰ – 11. ³⁰	Blutprobenentnahme
11. ³⁰ – 14. ⁰⁰	Laborarbeit
14. ⁰⁰ –	Fütterung
14. ⁰⁰ – 16. ⁰⁰	Verabreichung der Salze über die Pansenfistel (nicht bei V 11)

Tab. 22: Zeitlicher Ablauf der Probengewinnung während der Washout-Phase

Uhrzeit	Behandlung
07. ⁰⁰ –	Fütterung
10. ⁰⁰ – 10. ³⁰	Urinprobenentnahme
11. ⁰⁰ – 11. ³⁰	Blutprobenentnahme
11. ³⁰ – 14. ⁰⁰	Laborarbeit
14. ⁰⁰ –	Fütterung

Tab. 23: Zeitpunkte der Beprobung, Fütterung und Salzgabe bei den Tagesprofilen

Stunden	Uhrzeit	Beprobung	Fütterung	Salzgabe
0	06. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 1 – 4		
	07. ⁰⁰ Uhr - 09. ⁰⁰ Uhr		Tagesprofil 1 – 4	Tagesprofil 1 – 4
4	10. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 1 – 4		
8	14. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 2 – 4		
	14. ⁰⁰ Uhr - 16. ⁰⁰ Uhr		Tagesprofil 1 – 4	Tagesprofil 3, 4
11	17. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 1		
12	18. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 2 – 4		
15	21. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 1		
16	22. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 2 – 4		
20	02. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 2 – 4		
24	06. ⁰⁰ Uhr	Tagesprofil 2 – 4		

3.6. Durchführung der Laborarbeiten

Etwa eine Stunde nach Probengewinnung wurde das Vollblut bei 4000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Die Zentrifugation des Urins erfolgte über 10 Minuten bei 3000 U/min. Das Serum und der Urin wurden in 5 ml Plastikröhrchen umgefüllt und bei -23 °C tiefgefroren. Die Probenmaterialien wurden einen Tag vor bzw. am Tag der Bestimmung der Laborparameter bei 7 °C im Kühlschrank oder bei Raumtemperatur aufgetaut. Zu den Laborparametern im Serum und Urin gehörten die Calcium-, Chlorid-, Magnesium-, Natrium-, Kalium-, Phosphat- und Creatininkonzentration.

3.6.1. Atomabsorptionsspektrophotometrie: Calcium-, Magnesiumkonzentration im Serum und Urin

Die Bestimmung der Calcium- und Magnesiumkonzentration im Urin und Serum wurde durch die Atomabsorptionsspektrophotometrie am Atomabsorptionsspektrophotometer PU 9200 der Firma Philips durchgeführt. Dabei wird mittels einer Luft-Acetylen-Flamme, die als Atomisator dient, das Untersuchungsmaterial verdampft. Dieser Dampf wird von einem elementspezifischen Licht durchstrahlt. Die in dem Dampf befindlichen Atome absorbieren einen Teil des Lichtes, so dass es zu einer Abschwächung der Strahlung kommt. Diese Abschwächung wird gemessen, in Beziehung zu der zuvor erstellten Kalibriergeraden gesetzt und so die Konzentration des Elementes erhoben. Die Kalibriergerade der Urinparameter wird mittels Standardlösungen, die eine Konzentration von 2, 4, 10 und 20

mmol/l Calcium bzw. Magnesium je Liter Urin besitzen, erstellt. Die der Serumparameter wird mit einer Standardlösung mit einer Konzentration von 4 mmol/l Calcium und 2 mmol/l Magnesium erstellt. Die Verdünnung der Urinprobe erfolgt 1:40 mit 5 %igem Schinkelpuffer und die der Serumprobe 1:40 mit 0,25 %igem Lanthan(III)-oxid-Puffer in salzsaurer Lösung.

3.6.2. Flammenphotometrie: Natrium-, Kaliumkonzentration im Urin

Auch die Bestimmung der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin wurde mit dem Atomabsorptionsspektrophotometer PU 9200 der Firma Philips durchgeführt. Das Grundprinzip besteht in einer thermischen Anregung der Atome durch die Flammenenergie. Fallen die Atome in den Grundzustand zurück, so ergibt sich ein charakteristisches Emissionsspektrum. Dabei ist die Strahlungsintensität zu der Konzentration im Untersuchungsmaterial proportional. Der zu untersuchende Urin wird bei dieser Methode 1:400 verdünnt. Vor Beginn der Bestimmung wird eine Kalibriergerade mittels Standardlösungen, die eine Natriumkonzentration von 20, 40, 100, 200 mmol/l bzw. eine Kaliumkonzentration von 40, 80, 200, 400 mmol/l enthalten, erstellt.

3.6.3. Ionenselektive Elektrode: Chloridkonzentration im Serum und Urin, Natrium-, Kaliumkonzentration im Serum

Die Chloridkonzentration im Urin und Serum, die Natriumkonzentration im Serum und die Kaliumkonzentration im Serum wurde potentiometrisch an dem Beckmann Synchron EL-ISE 4 bestimmt. Dabei wird unter Verwendung von ionenselektiven Elektroden die von den zu untersuchenden Ionen verursachten Spannungsänderungen gemessen und in Konzentration angegeben. Eine Verdünnung des Untersuchungsmaterials erfolgt automatisch mit einer Pufferlösung im Verhältnis von 1:50.

3.6.4. Molybdat-Reaktion: Phosphatkonzentration im Serum und Urin

Die Bestimmung der Phosphatkonzentration im Urin und Serum erfolgte vollautomatisch mit dem Gerät HITACHI 704 der Firma Boehringer Mannheim. Dabei reagiert das anorganische Phosphat des unverdünnten Untersuchungsmaterials mit Ammoniummolybdat in schwefelsaurer Lösung, wobei sich Ammoniumphosphomolybdat-Komplexe bilden. Photometrisch werden diese Komplexe im ultravioletten Bereich (340 nm) gemessen.

3.6.5. Pikrinsäure-Reaktion (modifizierte Jaffe-Methode von Bartels et al.): Creatininkonzentration im Serum und Urin

Die Creatininkonzentration im Urin und Serum wurde auch hier vollautomatisch mit dem Gerät HITACHI 704 der Firma Boehringer Mannheim durchgeführt. Bei der Pikrat-Reaktion bildet das Creatinin des Untersuchungsmaterials in alkalischer Lösung mit Pikrat einen gelb-orangen Creatinin-Pikrinsäure-Komplex. Die Farbintensität dieses Komplexes wird photometrisch gemessen. Da im Serum enthaltene Proteine unspezifisch mit der Jaffe-

Methode reagieren, werden die Ergebnisse für das Serum um 26 µmol/l korrigiert. Eine Verdünnung von 1:10 erfolgt nur bei Urin mit 0,9 %ige NaCl-Lösung.

3.7. Berechnung der fraktionellen Exkretion

Die Berechnung der fraktionellen Exkretion von Calcium, Chlorid, Magnesium, Natrium, Kalium und Phosphat erfolgte nach folgender Formel:

$$FE_{\text{Elektrolyt}} = \frac{\text{Urin}_{\text{Elektrolyt}}}{\text{Plasma}_{\text{Elektrolyt}}} \times \frac{\text{Plasma}_{\text{Creatinin}}}{\text{Urin}_{\text{Creatinin}}} \times 100 \quad [\%]$$

(FLEMING et al. 1992, HARTMANN u. BANDT 2000, ULUTAS et al. 2003)

3.8. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS Version 11.5.

Dabei wurden die beiden Salzgruppen getrennt voneinander ausgewertet. Die Zahl der untersuchten Tiere ist in Tab. 24 aufgeführt.

Die biostatistische Auswertung der oben genannten Ergebnisse erfolgte durch eine zweifaktorielle Varianzanalyse in einem gemischten Modell mit dem fixen Faktor Probenstag und dem zufälligen Faktor Kuh und nachfolgendem Post-Hoc-Test nach Dunnett für den Probenstag im Vergleich zum Tag der Nullprobe mit korrigiertem α .

Es wurde davon ausgegangen, dass die Verteilung der untersuchten Parameter annähernd normalverteilt ist. Um die Plausibilität dieser Annahme für die Ergebnisse dieser Versuche zu überprüfen, wurde ein Kolmogorov-Smirnov-Test mit Signifikanzkorrektur nach Lilliefors für die standardisierten Residuen des linearen Modells mit $\alpha = 0,05$ durchgeführt. In Tab. 25 sind beispielhaft die Ergebnisse dargestellt.

Des Weiteren wurde ein Mittelwertvergleich der zwei Salzgruppen zueinander an jedem Probenstag innerhalb eines Versuches durch einen t-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Außerdem wurden die Versuche 8 und 9 bzw. 4, 5 und 6 zueinander an jedem Probenstag mittels des t-Testes für unabhängige Stichproben verglichen.

Diese Testverfahren wurden nicht bei dem Versuch 12 (wöchentliche Steigerung der Sulfatmenge) durchgeführt.

Durch eine lineare Regressionanalyse wurde der Zusammenhang zwischen der DCAB und der Calciumkonzentration im Serum bzw. Urin untersucht, wobei die Mittelwerte der Serum- bzw. Urinkonzentration des vorletzten und letzten Probenstages der Salzphase verwendet wurde.

Bei einer Überschreitungswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde von signifikanten Unterschieden gesprochen.

Tab. 24: Stichprobenumfang während der einzelnen Untersuchungszeiträume

Versuch / Tagesprofil	Stichprobenumfang bei den einzelnen Salzgruppen	
	CaCl ₂ , KHCO ₃	CaSO ₄ , NaHCO ₃
V1 – V11	5	6
V12 (wöchentl. Steigerung)		11 (– 2)
Tagesprofil 1 (V11)	5	6
Tagesprofil 2 (V11)	5	6
Tagesprofil 3 (V12, 2,5/3 equ)		11
Tagesprofil 4 (V12, 4 equ)		6

Tab. 25: Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov

Parameter	Salzgruppe	
	CaCl ₂	CaSO ₄
Calciumkonzentration im Serum	> 0,2	> 0,2
Calciumkonzentration im Urin	> 0,2	> 0,2
Fraktionelle Exkretion von Calcium	0,089	> 0,2
Chloridkonzentration im Serum	> 0,2	> 0,2
Chloridkonzentration im Urin	> 0,2	> 0,2
Fraktionelle Exkretion von Chlorid	> 0,2	> 0,2
Magnesiumkonzentration im Serum	> 0,2	0,119
Magnesiumkonzentration im Urin	> 0,2	> 0,2
Fraktionelle Exkretion von Magnesium	> 0,2	> 0,2
Natriumkonzentration im Serum	> 0,2	> 0,2
Natriumkonzentration im Urin	0,136	0,158
Fraktionelle Exkretion von Natrium	0,063	0,182
Kaliumkonzentration im Serum	> 0,2	> 0,2
Kaliumkonzentration im Urin	> 0,2	> 0,2
Fraktionelle Exkretion von Kalium	> 0,2	0,165
Phosphatkonzentration im Serum	> 0,2	> 0,2
Phosphatkonzentration im Urin	> 0,2	> 0,2
Fraktionelle Exkretion von Phosphat	> 0,2	> 0,2

3.9. Darstellung der Graphiken und Tabellen

Die x-Achse der Boxplot-Graphiken und die Zeitskalierung der Tabellen sind diskontinuierlich in Probentagen bzw. bei den Tagesprofilen in Stunden angegeben. In Tab. 23 ist die Beziehung zwischen Stunden, Uhrzeit, Fütterungszeitpunkt und Salzgabe aufgeschlüsselt. In den Boxplot-Graphiken und den Tabellen ist am Probentag 0 bzw. Stunde 0 stets die Ausgangskonzentration abzulesen. Diese steht, mit Ausnahme des Versuches 3 und der Tagesprofile 2 – 4, noch nicht unter dem Einfluss der verabreichten Salze.

Der Übergang der Ausgangsprobe zu der Salzphase und der Salz- zu der Washout-Phase ist mit einem senkrechten Strich gekennzeichnet. Die Ausgangsprobe und die Washout-Phase ist grau unterlegt in den Tabellen gekennzeichnet. Der Übergang von dem Versuch 2 zu dem Versuch 3 nach dem 17. Probentag ist in den Abbildungen und Tabellen durch einen durchbrochenen Strich dargestellt.

Signifikant veränderte Konzentrationen an den verschiedenen Proben Tagen im Vergleich zu der Ausgangskonzentration sind mit einem hochgestellten Sternchen (*) versehen.

Signifikante Unterschiede zwischen den zwei Salzgruppen sind mit einem hochgestellten a ^(a) bzw. b ^(b) hervorgehoben.

Signifikante Unterschiede zwischen zwei Versuchen sind mit einem hochgestellten Großbuchstaben gekennzeichnet. Als Zeichen für einen signifikanten Unterschied der Konzentrationen am jeweiligen Proben Tag zwischen den Versuchen 8 und 9 wurde ein hochgestelltes P ^(P) bzw. Q ^(Q), zwischen den Versuchen 4 und 5 ein S ^(S) bzw. T ^(T), zwischen den Versuchen 4 und 6 ein V ^(V) bzw. W ^(W) und zwischen den Versuchen 5 und 6 ein X ^(X) bzw. Z ^(Z) gewählt.

3.10. Referenzwerte

Die folgenden Tabellen (Tab. 26 – 31) geben einen Überblick über die Referenzwerte der einzelnen Mengenelemente. Dabei sind die bei dieser Arbeit verwendeten Referenzwerte hervorgehoben.

Tab. 26: Referenzwerte von Calcium

Autor	Serum-Calcium (mmol/l)	Urin-Calcium (mmol/l)	FE _{Ca} (%)
KRAFT u. DÜRR (1999)*	2,30 – 2,80		
RADOSTITS et al. (2000)	2,43 – 3,10		
HARTMANN u. MEYER (1994)	2,40 – 3,10		
HOFMANN (1992)		> 1,25	
JACOBI (1988)	2,45 – 2,72	< 1,50	
HARTMANN et al. (2001)			1,53 ± 0,44
HARTMANN u. BANDT (2000)			1 – 2

*1 Tag a. p. bis 2 Tage p. p. kann es zu einer Absenkung des Gesamtcalciums auf 2 mmol/l und des ionisierten Calciums auf 1 mmol/l kommen (physiologische Hypocalcämie).

Tab. 27: Referenzwerte von Chlorid

Autor	Serum-Chlorid (mmol/l)	Urin-Chlorid (mmol/l)	FE _{Cl} (%)
KRAFT u. DÜRR (1999)	95 - 110		
RADOSTITS et al. (2000)	95 - 110		
HARTMANN u. MEYER (1994)	97 - 111		
JACOBI (1988)	96 - 110	40 - 160	
PULS (1994)	95 - 110	22 - 100	
MEYER u. HARVEY (2004)			0,40 – 2,30

Tab. 28: Referenzwerte von Magnesium

Autor	Serum-Magnesium (mmol/l)	Urin-Magnesium (mmol/l)	FE _{Mg} (%)
KRAFT u. DÜRR (1999)	0,80 – 1,30		
RADOSTITS et al. (2000)	0,74 – 1,10		
HARTMANN u. MEYER (1994)	0,70 – 1,30	> 4	
JACOBI (1988)	0,99 – 1,23	3,70 – 16,50	
HOFMANN (1992)		> 1,03	
HARTMANN et al. (2001)			7,90 ± 1,60
HARTMANN u. BANDT (2000)			10 - 14

Tab. 29: Referenzwerte von Natrium

Autor	Serum-Natrium (mmol/l)	Urin-Natrium (mmol/l)	FE _{Na} (%)
KRAFT u. DÜRR (1999)	135 - 157		
RADOSTITS et al. (2000)	132 - 152		
HARTMANN u. MEYER (1994)	132 - 152		
JACOBI (1988)	126 - 159	> 8,70	
PULS (1994)	135 - 150	8,00 – 40,00	
HOFMANN (1992)		> 21,8	
ROSENBERGER (1990)		> 20,00	
MEYER u. HARVEY (2004)			0,20 – 1,43

Tab. 30: Referenzwerte von Kalium

Autor	Serum-Kalium (mmol/l)	Urin-Kalium (mmol/l)	FE _K (%)
KRAFT u. DÜRR (1999)	3,50 – 4,50		
RADOSTITS et al. (2000)	3,90 – 5,80		
HARTMANN u. MEYER (1994)	3,90 – 5,80		
JACOBI (1988)	4,34 – 6,06	140 – 320	
PULS (1994)	4,10 – 5,50	19 - 120	
MEYER u. HARVEY (2004)			15 - 63

Tab. 31: Referenzwerte von Phosphat

Autor	Serum-Phosphat (mmol/l)	Urin-Phosphat (mmol/l)	FE _{Pi} (%)
KRAFT u. DÜRR (1999)	1,50 – 2,30		
RADOSTITS et al. (2000)	1,08 – 2,76		
HARTMANN u. MEYER (1994)	1,80 – 2,00		
JACOBI (1988)	1,71 – 2,13	0,32 – 5,70	
HARTMANN et al. (2001)			0,05 ± 0,04