

### 2 MATERIAL UND METHODEN

#### 2.1 Versuchsorgane und Versuchsgruppeneinteilung

Insgesamt wurden 28 Vorderextremitäten von Schweinen (deutsche Landrasse-Hybriden) verwendet. Die Tiere waren gesund, die Extremitäten wiesen keine Verletzungen auf. Das Extremitätengewicht lag zwischen 2 und 4 Kilogramm. Als Testsubstanz wurde Cadmium in Form von Cadmiumchlorid ( $\text{CdCl}_2$ ) gewählt. Es wurden 15 Vorversuche durchgeführt: 8 Extremitäten ohne Schadstoffapplikation, um den Perfusionsaufbau zu etablieren, sowie 7 Versuche mit Cadmiumapplikation in verschiedenen Dosen (siehe Tabelle 2). Die Vorversuche dienten auch zur Entwicklung einer Methode, die zu untersuchenden Böden sicher an der Extremität zu applizieren.

Versuchsart, Besonderheiten	Anzahl n
Extremitätenperfusion ohne Cadmiumapplikation	8
Hochdosis-Versuche mit reinem Cadmium	2
Cadmium und Sand, Dosis 5mg/100g	2
Cadmium und Sand, Dosis 1mg/100g	2
Cadmium und Sand, Dosis 100mg/100g	1

Tabelle 2: Vorversuche, Versuchsanordnungen

Die 13 Hauptversuche beinhalteten Perfusionen mit verschiedenen Applikationsformen, wobei die Cadmiumdosis jeweils 10mg Cadmium/100g Sand betrug. Dabei wurde nicht nur der Hautkontakt mit trockenem Sand, sondern auch mit feuchtem Sand sowie Sand und Creme geprüft, um einen Kontakt der Haut mit cadmiumbelasteten Böden in verschiedenen Umgebungssituationen zu simulieren. Eine Übersicht dazu liefert die folgende Tabelle 3.

## Material und Methoden

Gruppe	Applikationsart	Anzahl	Position der Extremität
Dry	Trockener Sand	n=5	Senkrecht hängend, Klauenspitze nach oben
Grease	Sand und Creme	n=3	Senkrecht hängend, Klauenspitze nach oben
Wet	Sand und dest. Wasser	n=5	75° geneigt, Klauenspitze nach oben

Tabelle 3: Hauptversuche, Versuchsanordnungen

Die Auftragungsfläche betrug in allen Applikationsformen 15 mal 15 Zentimeter, der Abstand zum Wundrand jeweils mindestens 2,5 Zentimeter.

## 2.2 Organgewinnung und –vorbereitung

### 2.2.1 Organgewinnung

Für die Operation erhielten die Tiere folgende Narkose: zur Einleitung 0,25 - 0,5 mg/kg Etomidate (Braun, Melsungen) und 4mg Pancuronium (Curamed, Karlsruhe) intravenös sowie anschließend eine Inhalationsnarkose mit 40%O<sub>2</sub>, 60%N<sub>2</sub>O, 1,5-1,8% Isofluran (Curamed, Karlsruhe). Intraoperativ wurde das Tier durch Entbluten getötet. Die Vorderextremität wurde zwischen Humerus und Scapula abgesetzt. Anschließend wurde die Arteria brachialis mit einer Heidelberger Verlängerung (Fresenius Hemocare, Bad Homburg) kanüliert und die Extremität zwecks Antikoagulation mit 800ml NaCl-Lösung (warm), zugesetzt 15000 I.E. Heparin (Hoffmann-La Roche, Grenzach-Wyhlen) durchspült. Die warme Ischämiezeit (Zeitraum vom Tod des Tieres durch Entbluten bis zur Abnahme der Extremität) betrug bei allen Versuchen 20-45 Minuten, die weitere kalte Ischämiezeit bis zum Anschluß an die Perfusionsapparatur ebenfalls 20-45 Minuten, so dass eine Gesamt-Ischämiezeit von 90 Minuten nicht überschritten wurde. Es folgte eine Reinigung der Extremität, die Haut wurde an der Applikationsstelle behutsam geschoren.

## Material und Methoden

### 2.2.2 Blutgewinnung

Für alle Perfusionen wurde autologes Blut des Spendertieres als Perfusat verwendet. Für eine Perfusion werden ca. 800ml autologes Blut benötigt. Diese Menge wurde unter Zusatz von Heparin (10000.I.E., Hoffmann-La Roche, Grenzach-Wyhlen) in Compoflex-Blutbeuteln (Fresenius Hemocare, Bad Homburg) aufgefangen. Ferner wurden je 50ml Augmentan 2,2g (Amoxicillin und Clavulansäure, Glaxo Smith Kline, München) pro 800ml Blut als Antibiose zugesetzt, um eine Keimbesiedlung im Perfusionskreislauf zu vermeiden.

### 2.3 Versuchsaufbau zur Organperfusion

Die verwendete Perfusionsapparatur bestand aus drei Kreisläufen: Dialysatkreislauf, Wärmekreislauf und Perfusatkreislauf. Basierend auf mehreren Studien an perfundierten Organen (Nogueira et al., 1999; Grosse-Siestrup, Unger et al., 2002; Grosse-Siestrup et al., 2004) wurde der Versuchsaufbau leicht modifiziert.

Dialysatkreislauf: Der Dialysatkreislauf dient der Versorgung des Perfusates (Blut) mit Elektrolyten, Nährstoffen, Sauerstoff und Wärme (Grosse-Siestrup, Pfeffer et al., 2003; Grosse-Siestrup et al., 2001). Im Dialysatbehälter findet die Begasung mit einem Sauerstoff-Raumluftgemisch (80% O<sub>2</sub>) sowie bei Bedarf Kohlendioxid (zur pH-Einstellung) statt. Vom Dialysatbehälter aus wird das Dialysat mit einer Rollenpumpe (Stöckert, München) über einen Wärmetauscher (Sorin Biomedica Cardio, Saluggia, Italien) zum Dialysemodul (Hemoflux F7 HPS Kapillardialysator, Fresenius, Bad Homburg) geleitet. Dort fließen Dialysat und Blut im Gegenstromprinzip entlang einer semipermeablen Membran aneinander vorbei; es besteht ein Gas- und Wärmeaustausch zwischen beiden Kompartimenten (Grosse-Siestrup, Unger et al., 2003). Das Dialysemodul ist für Moleküle bis zu einer Größe von 5000 Dalton durchlässig. Hier wird das Blut oxygeniert und auf eine Temperatur von 38°C erwärmt, und es findet auch ein Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Dialysat statt, so dass das Blutvolumen und damit der Hämatokrit den Versuchserfordernissen angepasst werden kann. Aus dem Dialysatkreislauf können Dialysatproben entnommen werden; ferner gibt es hier die Möglichkeit, mittels CO<sub>2</sub>-Zufuhr oder Natrium-Bicarbonat (Braun, Melsungen) den pH-Wert des Systems zu regulieren. Die Zusammensetzung des Dialysats ist in der folgenden Tabelle 4 aufgeführt.

## Material und Methoden

Substanz	Konzentration
NaCl	110 mmol/l
KCl	4 mmol/l
CaCl <sub>2</sub>	1,5 mmol/l
MgCl <sub>2</sub>	1 mmol/l
NaHCO <sub>3</sub>	20 mmol/l
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5 mmol/l
Glukose	144 mg/dl
Harnstoff	30 mg/dl
Kreatinin	6 mg/dl

Tabelle 4: Zusammensetzung der Dialysatflüssigkeit

Wärmekreislauf: Das Dialysat, und damit über das Dialysemodul auch der Perfusionskreislauf, werden über einen an den Wärmetauscher anschließenden Wasserkreislauf mit Heizpumpe (Julabo Labortechnik, Seelbach) erwärmt.

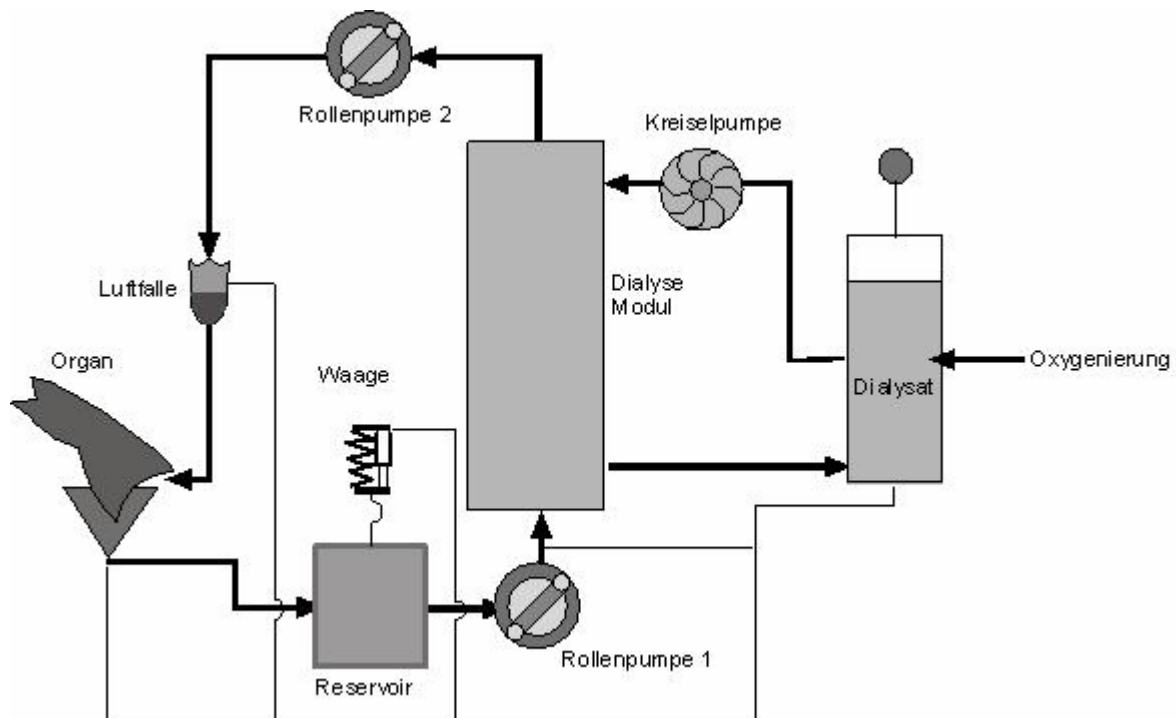


Abbildung 2: Skizze des Perfusionsaufbaus

## Material und Methoden

Perfusionskreislauf: Der Perfusionskreislauf (siehe Abbildung 2) führt das Blut mittels zweier je vor und nach das Dialysem modul geschalteter Rollenpumpen (Watson-Marlow, Rommerskirchen) über eine Luftfalle zur Extremität. Vor den Eintritt in die kanülierte A. brachialis sind ein Druckmesser und ein Temperaturfühler eingebaut. Das aus der Extremität kommende venöse Blut wird aufgefangen und über Schläuche zum Reservoir in Form eines Compoflex-Blutbeutels (Fresenius, Bad Homburg) geleitet. Dieses Reservoir liegt auf einer Waage (Sartorius, Göttingen). Vom Reservoir wird das Blut über die untere Rollenpumpe zum Dialysem modul geleitet. Der zentrale Punkt des Perfusionskreislaufes ist die Steuerungseinheit (Mediport Biotechnik, Berlin). Über diese Steuerungseinheit kann die Pumpenumdrehungszahl und damit der Perfusionsfluß geregelt werden. Die Waage des Blutreservoirs ist mit der Steuerungseinheit verbunden. Durch Eingabe eines Reservoir-Sollgewichtes kann die Dilution des Blutes eingestellt werden. Bei Bedarf reagiert die Steuerungseinheit mit schnellerer oder langsamerer Umdrehungszahl der unteren Rollenpumpe, um das Reservoirgewicht und damit die Dilution des Blutes aufrechtzuerhalten bzw. anzupassen. Alle Einstellungen sind auch manuell regelbar. Alle wieder verwendbaren Teile des Perfusionsaufbaus wurden nach jeder Perfusion gereinigt und dampfsterilisiert. Tabelle 5 zeigt die Grenzwerte der Einstellungsmöglichkeiten der Perfusionsapparatur.

Perfusionsfluß	50-250 ml/min
Perfusionsdruck	bis 300 mmHg
Waagebereich: Blutreservoir	bis 3000g
Wassertemperatur (Heizpumpe)	20-70° C
Dialysatfluß	bis 5000 ml/min
Bluttemperatur	bis 45° C

Tabelle 5: Grenzwerte der Einstellungen der Perfusionsapparatur

Eine komplette Ansicht des Versuchsaufbaues liefert Abbildung 3.

## Material und Methoden



Abbildung 3: Versuchsaufbau. Links im Bild die Extremität, rechts der Perfusionsaufbau mit Rollenpumpen und Steuerungseinheit. Ganz rechts ist das Dialysemodul zu erkennen.

### **2.4 Herstellung und Applikation der Prüfsubstanzen**

Die applizierte Menge Cadmiumchlorid (Sigma-Aldrich, München), in den Hauptversuchen 10mg, in den Vorversuchen unterschiedliche Konzentrationen, wurde mittels einer Präzisionswaage (Sartorius, Göttingen) abgemessen. Das Cadmiumchlorid wurde mit jeweils 100g Aquariumsand vermischt und über 5 Minuten zermörsert. Sämtliche Arbeiten mit Verwendung von Cadmiumchlorid wurden nach den Anweisungen eines staatlich geprüften Lebensmittelchemikers mit Handschuhen, Mundschutz und in staubarmer Umgebung unter einem Abzug durchgeführt. In der Versuchsgruppe „grease“ wurde den vorbereiteten Cadmium-Sand-Proben jeweils 25g Nivea-Creme (Beiersdorf, Hamburg), in der Gruppe „wet“ 25ml destilliertes Wasser zugesetzt.

## Material und Methoden

### 2.4.1 Applikationsweg der Prüfsubstanzen

Bisher wurden im Modell der isolierten, hämoperfundierte Schweineextremität nur dermal applizierte Substanzen in Form von Gel oder transdermalen therapeutischen Systemen (TTS) (Nogueira et al., 1999) getestet. Beide, TTS und Gel, haften von sich aus am Versuchsorgan. Die Prüfung von Bodenproben, hergestellt aus Sand und Cadmiumchlorid, wurde jedoch noch nie in diesem Modell durchgeführt. Sie erforderte die Entwicklung eines neuen Applikationsweges, der einerseits einen ausreichenden Kontakt der Bodenprobe mit der Extremität gewährleisten, andererseits aber jegliches Eindringen von Boden- bzw. Cadmiumanteilen in den Perfusionskreislauf verhindern musste. Ausgehend von diesen Anforderungen wurde eine Applikationskammer („Toxic release chamber“) konstruiert. In allen Applikationsformen wird die Wundfläche und damit der venöse Blutabfluss durch an der Extremität rundherum mit Pflaster (3M Medica, Neuss) befestigter Plastikfolie abgedeckt (siehe Abbildung). Der Aufbau der Toxic release chamber variiert in den drei Applikationsarten (Applikationsfläche je 15 x 15 Zentimeter):

- für die Gruppe „dry“ (trockener Sand und Cadmium) wurde die Prüfsubstanz in eine Tasche aus Gaze (Lohmann-Rauscher, Rengsdorf) gefüllt, die der Extremität an der Applikationsstelle dicht auflag und allseitig - in besonderem Maße zur Wundfläche - mit Pflaster abgedichtet wurde (siehe Abbildung 4).
- für die Gruppe „grease“ (Sand und Creme) wurde die Prüfsubstanz, da selbstaftend und nicht abrutschend, direkt auf die Extremität aufgetragen und abgedeckt. Auch in dieser Applikationsform wurde eine Schutzfolie zwischen Applikationsstelle und Wundfläche angebracht.
- für die Gruppe „wet“ wurde die Extremität um ca. 75° geneigt, um ein Abrutschen des Sand-Wassergemisches in den venösen Abfluss zu verhindern. Die Abdeckung erfolgte in dieser Gruppe durch eine über der gesamten Applikationsfläche gespannte Plastikfolie, die am Rand mit der Extremitätenoberfläche durch Pflaster verbunden war.

## Material und Methoden



Abbildung 4: Versuchsaufbau mit Toxic release chamber (Applikation dry).



## **Material und Methoden**

### **2.5 Versuchsablauf und Perfusionstechnik**

#### **2.5.1 Vorbereitung des Perfusionsaufbaues**

Der Perfusionskreislauf wurde zunächst mit erwärmter, heparinierter NaCl-Lösung (15000 I.E. Heparin, Hoffmann-La Roche, Grenzach-Wyhlen) durchspült. Anschließend wurde er mit dem durch Antibiose und Heparinisierung vorbereiteten, ebenfalls erwärmten Blut gefüllt. Das Dialysat wurde ebenfalls etwa 1 Stunde vor Versuchsbeginn in den Dialysatbehälter gefüllt, der Dialysatkreislauf in Gang gebracht und an den Wärmekreislauf zwecks Erwärmung angeschlossen. Somit war der Perfusionsaufbau bereit zum Anschluss der Extremität.

#### **2.5.2 Anschluß der Extremität an das System, Versuchsablauf**

Die Extremität wurde, unter kurzem Abschalten der Rollenpumpen, durch Verbindung der kanülierten Arteria brachialis mit dem arteriellen Schenkel des Perfusionskreislaufes verbunden und sofort mit dem auf physiologische Temperatur erwärmten, oxygenierten Blut perfundiert. Bis zu einem Erreichen des „steady state“-Zustandes, ca. 20 Minuten lang, wurde der Perfusionsdruck langsam angehoben (in den ersten Minuten unter 60mmHg), um ein Ödematisierung des Gewebes zu vermeiden. Ferner wurden in dieser Phase der pH-Wert und die Hämoglobinkonzentration des Perfusates überprüft und gegebenenfalls in den physiologischen Bereich nachgestellt. Über die volle Versuchslänge wurde der Perfusionsfluss anhand der Rollenpumpen so geregelt, dass sich der Perfusionsdruck im Referenzbereich von 80-140mmHg befand. Nach Erreichen des Steady-state erfolgte der eigentlichen Versuchsbeginn mit dem Messen der Werte für die Versuchsminute 0. Nun wurden die Prüfsubstanzen in der Toxic Release Chamber am medialen Teil der Extremität appliziert. In der Gruppe „wet“ wurde die Cadmium-Sandmischung schon direkt vor Anschluss der Extremität an den Perfusionskreislauf appliziert, da aufgrund der Neigung der Extremität und der Feuchtigkeit des Sandes das Risiko einer Kontamination des Perfusates zu hoch war. Nach Versuchsende wurden die Extremitäten, das Perfusat und alle kontaminierten Teile in Sonderabfall-Behältern speziell entsorgt.

Zur Cadmiumbestimmung wurden eine Nullprobe aus dem Blut des Schweines (vor Befüllung des Perfusionskreislaufes) sowie zur Versuchsminute 60, 120, 180 und 210 Blut- und Dialysatproben in EDTA-Röhrchen (Sarstedt, Nürnberg) entnommen.

## **Material und Methoden**

abgenommen. Um die Qualität der Perfusionen zu sichern, wurde von Versuchsbeginn an alle 30 Minuten Blut für eine Blutgasanalyse, Heparin-Röhrchen (arteriell und venös) und EDTA-Röhrchen (arteriell) entnommen. Die gemessenen Parameter sind in Tabelle 6 aufgeführt.

## Material und Methoden

Parameter	Referenzbereich	Literatur	Meßmethode/Gerät
Mittlerer arterieller Perfusionsdruck MAP	40-120 mmHg	(de Lange et al., 1992)	Drucksensor/Monitor HP, Böblingen
Art.Perfusionsfluss	100-200 ml/min	(Grosse-Siestrup, Wiemer et al., 2002)	Steuerungseinheit
Organwiderstand R	0,4-2 mmHg x min/ml	(Grosse-Siestrup, Wiemer et al., 2002)	Errechnet nach MAP / PF
Maximale Ödembildung	10 %	(de Lange et al., 1992)	Gewichtszunahme vor / nach Perfusion in %
Bluttemperatur, arteriell	37,5-39 °C	(Engelhardt, 2005)	Temperaturfühler/Monitor HP, Böblingen
Sauerstoffverbrauch, Skelettmuskel in Ruhe	0,3-0,5 ml/min x 100g	(Schmidt, 2004)	Errechnet nach Formel 1 (siehe Anhang)
pH-Wert, arterielles Blut	7,36-7,46	(Engelhardt, 2005)	ABL 505, Radiometer A/S, Kopenhagen/Dänemark
Art. Hämatokrit	25-30 %	(Nogueira et al., 1999)	Klinisch-chem. Analytik
Freies Hämoglobin, arteriell	<150mg/dl	(Nogueira et al., 1999)	Klinisch-chem. Analytik
Art.Natriumgehalt	139-152 mmol/l	(Kraft, 1995)	ABL 505, Radiometer A/S, Kopenhagen/Dänemark
Art. Kaliumgehalt	4,4-6,7 mmol/l	(Kaneko, 1980)	ABL 505, Radiometer A/S, Kopenhagen/Dänemark
Laktatgehalt, ven. Blut	<100 mg/dl	(Nogueira et al., 1999)	Klinisch-chem. Analytik
Art. Gesamtprotein	5,5-8,6 g/dl	(Engelhardt, 2005)	Klinisch-chem. Analytik
Art. Albumingehalt	1,8-3,3 g/dl	(Kaneko, 1980)	Klinisch-chem. Analytik
Glukoseverbrauch	>250 mg/min/100g	(de Lange et al., 1992)	Errechnet nach Formel 2 (siehe Anhang)

Tabelle 6: Vitalitätsparameter der Extremitätenperfusionen

## Material und Methoden

### 2.5.3 Gabe von Substanzen

Glukose und Insulin: Um die Glukoseversorgung des Gewebes zu gewährleisten, wurden 120 Minuten nach Versuchsbeginn 20ml einer 5%igen Glukoselösung (Glukose 5%, Berlin Chemie, Berlin) in das Dialysat gegeben. Zum gleichen Zeitraum wurden 0,8 I.E. Insulin (Insuman® Rapid, Aventis, Bad Soden) in den arteriellen Schenkel des Perfusionskreislaufes gegeben.

Kalzium: Die angestrebte Kalziumkonzentration im Perfusat wurde auf 1,5-2 mmol/l festgelegt, also knapp unterhalb des beim Schwein physiologischen Bereiches (Nogueira et al., 1999), um einer überschießenden Gerinnung im Schlauchsystem vorzubeugen. Lag der Kalziumgehalt unter 1,5 mmol/l, so wurden pro 0,5 mmol/l Abweichung 10ml einer 10%igen Kalziumlösung (Kalzium 10%, Braun, Melsungen) intraarteriell gegeben.

Natriumhydrogenkarbonat: Lag der pH-Wert im arteriellen Blut unter 7,35, so wurde pro 0,2 Einheiten Abweichung 1ml NaBic® (8,4%, Braun, Melsungen) gegeben.

## 2.6 Probengewinnung und Analytik

### 2.6.1 Klinisch-chemische Analysen

Die Blutproben wurden zentrifugiert und im Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité-Universitätsmedizin Berlin, Leitung Prof. Dr. Köttgen, analysiert. Eine Blutgasanalyse wurde in arteriellen und venösen Blutproben sowie Dialysatproben unmittelbar nach Entnahme durchgeführt. Hierbei wurden der Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck, der pH-Wert sowie Elektrolytstatus mit Standardblutgaselektroden im Gerät ABL 505 (Radiometer A/S, Kopenhagen, Dänemark) gemessen. Im Hemoximeter OSM3 (Radiometer A/S, Kopenhagen, Dänemark) wurden die Sauerstoffsättigung und der Hämoglobingehalt des Blutes gemessen. Das OSM3 beinhaltet ein optisches System aus einer Photolampe, einem Sammellinsensystem, einer HämolySAToreinheit und einer Monochromatoreinheit mit sechs Photodioden. Die Photodioden tasten die Menge des durch die Blutprobe strömenden Lichtes bei 6 verschiedenen Wellenlängen ab. Aus den Absorptionwerten werden die gewünschten Zielgrößen errechnet.

## Material und Methoden

### 2.6.2 Atom-Absorptions-Spektroskopie zur Cadmiumbestimmung

Die Atom-Absorptions-Spektroskopie ist ein Verfahren zur Bestimmung der Cadmiumkonzentration, wird aber auch für Blei und andere Elemente als Nachweismethode benutzt. Sie basiert auf dem Verfahren der Elektronenanregung durch thermische Energie und der daraus resultierenden Energieänderung, die in Form von elementspezifischen Absorptionslinien im elektromagnetischen Spektrum nachweisbar ist. Die Cadmiumbestimmungen wurden im toxikologischen Labor der SOFIA GmbH, Berlin durchgeführt.

Den Blut- und Dialysatproben wird zunächst Triton X-100 pro analysis als Solvens sowie HNO<sub>3</sub> Suprapur Matrix Modifier (beides Merck KGaA, Darmstadt) zugesetzt. Die so vorbereitete Probe wird dann zur Cadmiummessung in den Probenbehälter des Atom-Absorptionsspektroskops verbracht. Im benutzten Spektroskop 4100 ZL (Perkin Elmer, Norwalk, Connecticut, USA) werden die Proben in einem Endkappen-Graphitrohr in fünf Stufen erhitzt: 110° bzw. 130°C zum Trocknen der Probe, 500°C zur Veraschung. Bei 1500°C erfolgt die Atomisation, also das Anheben der Elektronen auf eine höhere Atomschale. Ein letzter Schritt ( 2450°C) dient dem Ausheizen zur Reinigung des Graphitrohres (Beaty, 1993).

Während der Atomisation wird das Graphitrohr von einer Hohlkathodenlampe (HKL) durchleuchtet. Die Kathode der Lampe ist jeweils mit dem zu untersuchenden Material (hier: Cadmium) beschichtet, da die Absorptionslinien einzelner Atome sehr schmal sind. Nachdem eine Spannung an die HKL angelegt wird, wandern Elektronen von der Kathode zur Anode. Dabei stoßen die Elektronen mit den Cadmiumatomen zusammen und ionisieren diese. Die nun positiv geladenen Cadmiumionen beschleunigen in Richtung der Kathode und schlagen bei ihrem Aufprall Elementatome heraus. Die freien Elementatome werden nun wiederum durch Kollisionen mit den Elektronen angeregt und senden charakteristische Photonen aus (Linienspektrum für Cadmium 228,8 nm).

Die Photonen verlassen die Lampe mit den charakteristischen Wellenlängen für das Element (gerichtetes Licht). Nach Durchtritt durch das Graphitrohr erscheint ungerichtetes Licht mit einer Schwächung, die proportional zur Cadmiumkonzentration in der atomisierten Probe ist. Das ankommende, geschwächte Licht wird mit einem Photomultiplier gemessen. Anhand des

## Material und Methoden

Ausmaßes der Lichtschwächung kann die Cadmiumkonzentration in der Probe bestimmt werden. Eine Untergrundkorrektur wird mittels einer Deuteriumlampe nach der Zeeman-Methode durchgeführt. Hierbei wird die Probe zusätzlich mit einer Deuteriumlampe durchleuchtet, die nur die Untergrundlichtemissionen misst. Aus beiden Werten (Absorption durch Cadmiumkonzentration und Untergrund) kann die Cadmiummenge genau bestimmt werden.

### 2.7 Statistik

Zur statistischen Auswertung wurden die Programme Microsoft Excel und Microsoft SPSS 11.5 benutzt. Die graphische Darstellung wurde mit Balkendiagrammen (jeweils Mittelwert und Standardabweichung) und Box and Whisker-Plots (siehe Abbildung 5) durchgeführt. Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U Test für unverbundene Stichproben im Vergleich zwischen den Gruppen, sowie mit dem Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben innerhalb der Gruppen bestimmt und sind mit einem x markiert.

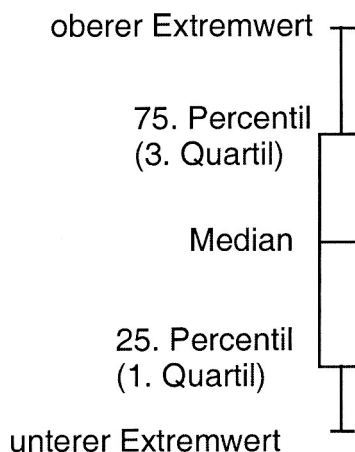


Abbildung 5: Box and Whisker-Plot