



Hochschule Neubrandenburg
University of Applied Sciences

**Fachbereich Agrarwirtschaft und
Lebensmittelwissenschaften**

**Studienarbeit zur Erlangung des
akademischen Grades
Bachelor of Science**

**Möglichkeit der Nutzung der Analysenparameter Allantoin, Harn-
säure und Hippursäure zur Beurteilung der Ernährungssituation
von Rindern**

vorgelegt von: Martina Andrea Rimpl

Studiengang: Agrarwirtschaft

Eingereicht am: 21.07.2011

urn:nbn:de:gbv:519-thesis2011-0278-5

- 1. Prüfer:** Professorin Dr. Anke Schuldt
- 2. Prüfer:** Dr. Wolfram Richardt

1	Einleitung und Problemstellung	1
2	Stoffwechsel des Wiederkäuers	3
2.1	Proteinstoffwechsel	3
2.1.1	Abbau der Futterproteine im Pansen	3
2.1.2	Einfluss der Energie- und N-Versorgung auf die mikrobielle Proteinsynthese	5
2.1.3	Nukleinsäurenabbau	8
2.1.4	Purinausscheidung als Indikator für die Ernährungssituation	12
2.2	Kohlenhydratstoffwechsel	16
2.2.1	Abbau der Kohlenhydrate im Pansen	16
2.2.2	Bedeutung der Gerüstsubstanzen für die Wiederkäuerernährung	17
2.2.3	Hippursäure als Indikator für die Verdauung von Gerüstsubstanzen	20
2.3	Kreatinin als interner Marker	24
3	Material und Methoden	26
3.1	Tier- und Probenmaterial	26
3.1.1	Versuchsaufbau der Gewinnung der Harnproben	26
3.1.2	Versuchsaufbau bei der Prüfung der Lagerstabilität	26
3.2	Labormethoden	27
3.2.1	Chemikalien und Reagenzien	27
3.2.2	Instrumentelle Anordnung	27
3.2.3	Weitere Geräte und Hilfsmittel	28
3.2.4	Herstellung der Stammlösungen	28
3.2.5	Herstellung der Standards	29
3.2.6	Extraktion der Stoffe	30
3.2.7	Berechnung der Konzentration	31
3.2.8	Vorbereitung der Proben des Konservierungsmittelvergleichs	32
3.3	Mathematisch statistische Methoden	34
4	Ergebnisse	35
4.1	Konzentrationen der untersuchten Parameter im Harn	35
4.2	Einfluss der Tageszeit auf die Gehalte der Inhaltsstoffe	37
4.3	Einfluss der Ration auf die Gehalte der Inhaltsstoffe	39
4.4	Einfluss der Tageszeit innerhalb der Rationen auf die Gehalte der Inhaltsstoffe	43
4.5	Einfluss des Konservierungsmittels auf die Gehalte der Inhaltsstoffe	50
5	Diskussion	57
5.1	Konzentrationen der untersuchten Parameter im Harn	57
5.2	Einfluss der Tageszeit auf die Gehalte der Inhaltsstoffe	64
5.3	Einfluss der Ration auf die Gehalte der Inhaltsstoffe	65

5.4	Einfluss der Tageszeit innerhalb der Rationen auf die Gehalte der Inhaltsstoffe	65
5.5	Einfluss des Konservierungsmittels auf die Gehalte der Inhaltsstoffe	67
6	Zusammenfassung	68
7	Summary	69
8	Literaturverzeichnis.....	70

Anhang

Danksagung

Eidesstattliche Erklärung

Verzeichnisse der:

Abbildungen,

Abkürzungen,

Tabellen.

Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
Aufl.	Auflage
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
c	Konzentration
ca.	circa
d	Tag
d. h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
etc.	et cetera
g	Gramm
GC	Gaschromatograph
GF	Grundfutter
h	Stunde(n)
Hrsg.	Herausgeber
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
KF	Krafffutter
kg	Kilogramm
l	Liter
LM	Lebendmasse
ME	metabolische Energie
min	Minute
MJ	Mega Joule
MS	Massenspektrometer
n	Anzahl
N	Stickstoff
NH ₃	Ammoniak
NSBA	Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung
NPN	Nicht-Protein-Stickstoff
PD	Purinderivate
RNA	Ribonukleinsäure
SD	Standard Deviation (Standard-Abweichung)
STD	Standard
TM	Trockenmasse

UDP	unabgebautes Durchflussprotein
u. a.	unter anderen
v. a.	vor allem
VDLUFA	Verein deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
V	Volumen
XP	Rohprotein

1 Einleitung und Problemstellung

Der Stoffwechsel moderner Hochleistungsrinder ist starken Belastungen ausgesetzt. (ROSSKOPF und GIESECKE, 1992) Um Grenzen der Belastbarkeit zu erkennen und eine leistungsgerechte Fütterung sicher zu stellen, werden vermehrt die Metaboliten des Intermediärstoffwechsels herangezogen. Beispiele hierfür sind: Glucose, Fettsäuren, Ketonkörper, Harnstoff. Die Bestimmung der Ketonkörper oder des Harnstoffs z. B. in der Milch bietet bei großen Tierzahlen besondere Vorteile. Die erste Stufe der Nährstoffumwandlung findet im Pansen statt. Es wird u. a. der für die Milchleistung besonders wichtige Acetat/Propionat-Quotient, die Höhe der mikrobiellen Proteinsynthese und die ruminale Ketogenese determiniert. Deshalb erscheint es wichtig, biochemische Kriterien für die Bewertung des Pansenstoffwechsels mittels Blut-, Milch- und/oder Harnanalysen zu entwickeln (ROSSKOPF et al., 1991). Es gibt aussagefähige Parameter die den Gesamtstoffwechsel beurteilen, z. B. den Fett-Eiweiß-Quotienten, Fett-, Eiweiß-, Harnstoff- und Acetongehalt der Milch, die Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung (NSBA). Diese Parameter zeigen, dass ein Problem besteht, aber nicht an welcher Stelle. Beispielsweise wurde anhand der NSBA eine Acidose festgestellt, aber diese kann den gesamten Stoffwechsel oder nur den Pansen betreffen. Anhand der Purinderivate (Allantoin und Harnsäure) und der Hippursäure kann man die Fermentation im Pansen bzw. den Pansenstoffwechsel beurteilen und dadurch differenzieren welchen Ursprung eine Krankheit hat.

In der folgenden Arbeit soll eine Beurteilung der Ernährungssituation anhand einer nicht-invasiven Methode erfolgen. Ein solches Vorgehen ermöglicht die Anwendung im Rahmen der Herdendiagnostik. Die Ausscheidungshöhe der Purinderivate und der Hippursäure stehen in engem Zusammenhang mit der Futteraufnahme, Nährstoffzusammensetzung und mikrobiellen Proteinsynthese (VON ENGELHARDT, 2010; KOLB, 1989a; KEHRHAUS et al., 2006).

Aufgrund unterschiedlicher Dauer des Proben transports galt es die Tauglichkeit verschiedener Konservierungsmittel zu überprüfen. Zudem ist aus Gründen der Vereinfachung der Probengewinnung, die Eignung von Spotproben zu überprüfen. Eine Sammlung der gesamten Urinmenge erscheint für die Herdendiagnostik als untauglich. Es ergeben sich folgende zu bearbeitende Fragen:

1. Gibt es Unterschiede in den Gehalten der Inhaltsstoffe zwischen Morgen- und Abendurin?
2. Sind die Messwerte des Labors der LKS mbH plausibel?
3. Welche Konservierungsmittel sind geeignet?

Die Analytik erfolgt ausschließlich an Harnproben. Die Gewinnung von Milchproben wäre

zwar einfacher, v. a. im Milchviehbetrieb. Folgende Gründe sprechen gegen die Verwendung von Milch-Allantoin:

1. Das Allantoin in der Milch repräsentiert nur einen geringen Anteil der gesamten Allantoinausscheidung. Dieser Anteil ist nicht konstant sondern steigt mit steigender Milchleistung (GONDA und LINDBERG, 1997).
2. In der Milchdrüse wird aufgrund fehlender Uricase-Aktivität kein Allantoin gebildet (ROSSKOPF et al., 1991).

2 Stoffwechsel des Wiederkäuers

2.1 Proteinstoffwechsel

2.1.1 Abbau der Futterproteine im Pansen

Im Pansen des Wiederkäuers kommt es zur teilweisen Spaltung des Futterproteins zu Aminosäuren. Diese werden entweder größtenteils zu Ammoniak (NH_3) und Ketosäuren abgebaut oder zur Synthese von mikrobiellem Protein genutzt. Der Anteil des Futterproteins, welcher den Pansen unverändert passiert ist das unabgebaute Durchflussprotein (UDP) (KOLB, 1989a). Der Abbau von Proteinen erfolgt enzymatisch durch Proteasen. Der Hauptanteil dieser Enzyme stammt von Bakterien, aber die Protozoen und Pilze können zur proteolytischen Aktivität beitragen. Der Umfang des mikrobiellen Proteinabbaus ist abhängig von verschiedenen Eigenschaften der Proteine. Hierzu seien genannt:

- die Löslichkeit,
- Sekundär- oder Tertiärstruktur und
- die Struktur der Disulfidbrücken.

Je nach Proteinquelle liegt die Verdaulichkeit des Gesamtproteins im Pansen zwischen 30 und 100 % (VON ENGELHARDT, 2010).

Die durch den enzymatischen Abbau entstandenen Aminosäuren werden entweder unter Bildung von Ammoniak desaminiert oder zum geringeren Anteil direkt für die mikrobielle Proteinsynthese genutzt (siehe Abbildung 1). Durch die Neusynthese von mikrobiellem Protein kann eine Verbesserung der geringen biologischen Wertigkeit von aufgenommenem Futterprotein erfolgen. Dies heißt, dass von den Mikroben essentielle Aminosäuren gebildet werden (KOLB, 1989a).

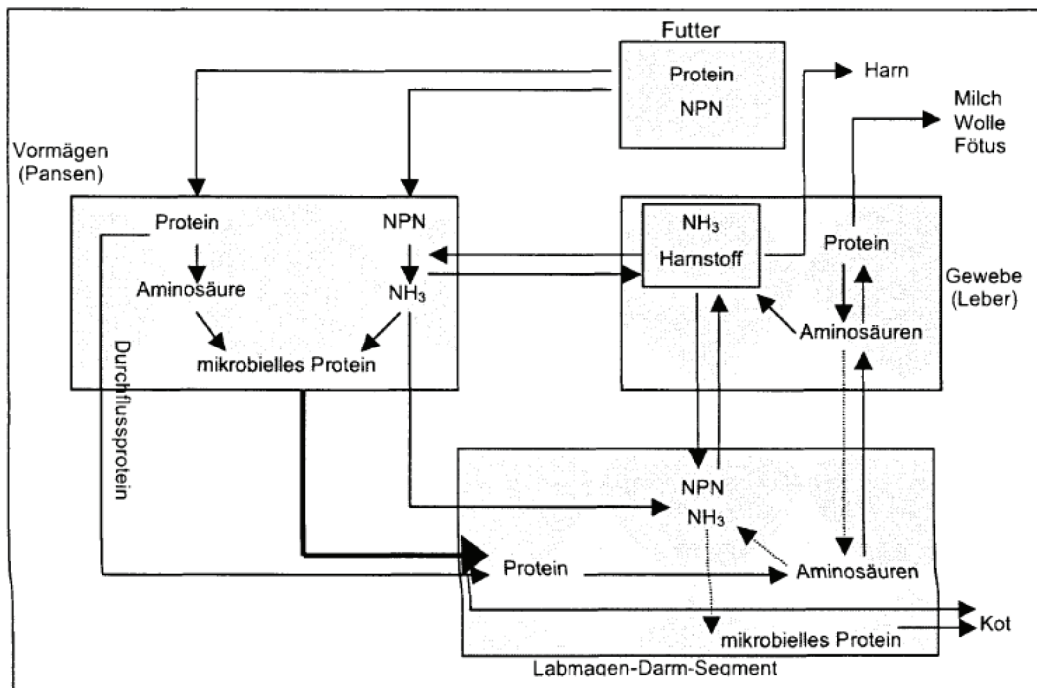


Abbildung 1: Schema des N-Umsatzes im Verdauungstrakt des Wiederkäuers (Jeroch et al., 1999)

Es erfolgt eine kontinuierliche Rezirkulation des Stickstoffs (N) in Form von Harnstoff. Dies ist der ruminohepatische Kreislauf. Ammoniak und Ammonium werden über die Pansenwand resorbiert und über die Pfortader zur Leber transportiert. (VON ENGELHARDT, 2010). Durch Enzyme des Ornithinzyklus erfolgt in der Leber die Harnstoffsynthese. Der entstandene Harnstoff kann 3 Wege nehmen:

- Die Rückdiffusion aus den Kapillaren der Pansenwand, des Labmagens und der Darmwand in den Inhalt des Verdauungskanals.
- Die Rückführung über den Speichel in den Pansen.
- Die Ausscheidung über die Nieren und die Milchdrüse (siehe Abbildung 2).

Es besteht eine direkte Abhängigkeit der Menge des in den Verdauungskanal eintretenden Stickstoffs zur Harnstoffkonzentration im Plasma und der verdauten organischen Masse im Pansen (KOLB, 1989a).

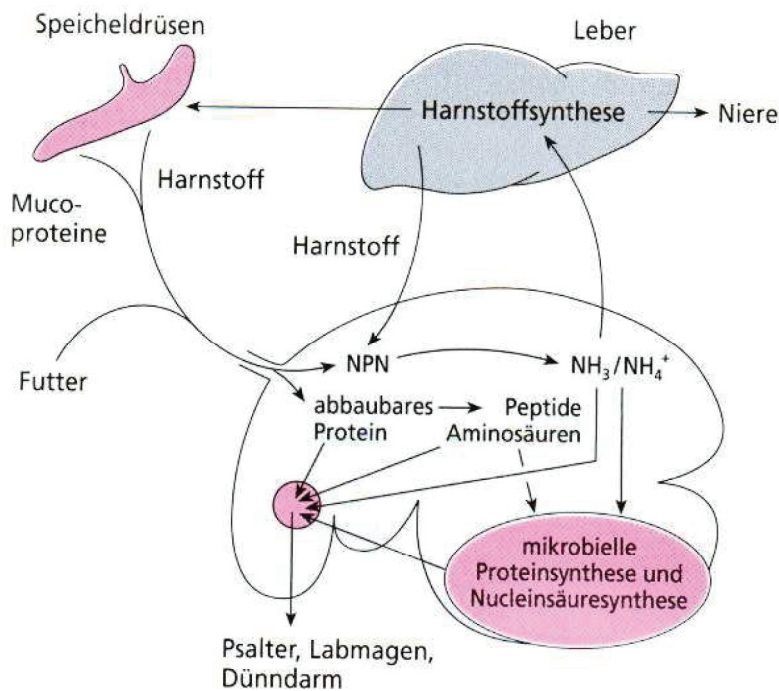


Abbildung 2: Schematische Darstellung des ruminohepatischen Kreislaufs (von Engelhardt, 2010)

Nach verschiedenen Untersuchungen sind 20-80 % der Proteine die am Duodenum ankommen mikrobiellen Ursprungs (KOLB, 1989a). Dies zeigt, dass die mikrobielle Proteinsynthese den Hauptanteil der Proteinversorgung des Wiederkäuers ausmacht.

Der Bedarf an Stickstoff wird beim Wiederkäuer als nutzbares Rohprotein angegeben und sollte zwischen 140 bis 165 g/kg TM liegen (BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT, 2010).

2.1.2 Einfluss der Energie- und N-Versorgung auf die mikrobielle Proteinsynthese

Während der Verdauung kommt es zu einer Vermehrung der Mikroben im Pansen. Zur mikrobiellen Proteinsynthese müssen folgende organische Verbindungen als Energiequelle und Bausteine zur Verfügung stehen:

- Verzweigt-kettige Kohlenstoffverbindungen,
- NH_3 ,
- Aminosäuren,
- Peptide,
- Mengenelemente (v. a. Phosphor und Schwefel),
- Spurenelemente.

Für die Bildung von Mikrobenprotein werden größere Mengen an Adenosintri-phosphat (ATP) benötigt. Dieses kommt vorrangig aus dem anaeroben Abbau der Kohlenhydrate im Pansen.

Im Gegensatz zum intermediären Stoffwechsel beträgt die Ausbeute nur 4 - 5 mol ATP/mol Glucose. Der die mikrobielle Proteinsynthese begrenzende Faktor ist das ATP. (KOLB, 1989a) Zum Vergleich: Beim aeroben Glucoseabbau im Intermediärstoffwechsel entstehen 36-38 mol ATP/mol Glucose (VON ENGELHARDT, 2010).

Der folgende Absatz und die darin genannten Quellen wurden KEHRHAUS et al. (2006) entnommen. Demnach zeigen BACH et al. (2005) in Ihrer Arbeit, dass ein entsprechendes Verhältnis von ruminal verfügbarem Rohprotein (XP) zu ruminal verfügbarer Energie bedeutend ist für die optimale Verwertung von Proteinen und NPN-Verbindungen. Diese Beziehung ist von der Abbaubarkeit des XP und der Kohlenhydrate sowie dem physiologischen Status der Tiere abhängig. Auch hier wird das ATP als begrenzender Faktor für die mikrobielle Proteinsynthese genannt. Dies bedeutet, dass das Ausmaß der Verwertung von Ammoniak für die Aminosäuresynthese und die Polymerisation zu Mikrobenprotein vom Vorhandensein von leichtlöslichen Kohlenhydraten, insbesondere Stärke abhängig ist. Ein Mangel an fermentierbaren Kohlenhydraten führt zur Einschränkung der Vermehrung der Mikroorganismen und damit zur Limitation der mikrobiellen Proteinsynthese. Dies wurde in zahlreichen Arbeiten nachgewiesen z. B. CONRAD und HIBBS, 1968; HOGAN und WESTON, 1970; THOMAS und CLAPPERTON, 1972 (alle zitiert bei KEHRHAUS et al., 2006). Bei ausreichender Energieversorgung, kommt es zur Verringerung der Harnstoffausscheidung über die Nieren (POTTHAST et al., 1977; KENNEDY, 1980; OBARA UND DELLOW, 1993 alle zitiert nach KEHRHAUS et al., 2006). Wenn die XP-Gaben zu hoch sind, benötigt die Leber zur Entgiftung des Ammoniaks für die Synthesefunktion zusätzlich Energie. Die Energieeffizienz für die Produktion von Biomasse in fermentativen Systemen ist abhängig von den Ausgangsprodukten für die Bildung von mikrobiellen, zellulären Verbindungen, der Mikroflora und der Wachstumsrate. Für die Energie, die den Mikroorganismen im Pansen zur Verfügung steht, dient als Maß sehr oft die Aufnahme an verdaulicher organischer Substanz (KEHRHAUS et al., 2006).

LEBZIEN et al. (1983) zitiert nach KEHRHAUS et al. (2006) zeigten auf, dass die Zusammensetzung des Krafftutters auch einen Einfluss auf die mikrobielle Proteinsynthese haben kann. Es kommt eine geringere Menge an Mikrobenprotein am Duodenum an, wenn Gerste oder Weizen als Hauptanteil des Krafftutters durch Mais ausgetauscht wurde. Die Stärke in Gerste und Weizen ist schnell und umfangreich in den Vormägen fermentierbar. Mais hat einen hohen Anteil an beständiger Stärke. Demzufolge steht den Mikroben im Pansen bei Einsatz von Mais weniger Energie zur Verfügung als bei der Verfütterung von Gerste und Weizen. Dies führt zu einer geringeren Synthese von mikrobiellem Protein.

Entscheidend für das Mikrowachstum ist die Energieversorgung der Mikroorganismen, d. h. die im Pansen effektiv abgebaute organische Substanz (SÜDEKUM et al., 2006) und nicht die Aufnahme an verdaulicher organischer Substanz (KEHRHAUS et al., 2006).

Ein Optimum an mikrobiellem Wachstum wird erreicht, wenn das Rohprotein und die Energie möglichst zeitgleich, d. h. „synchron“ bereitgestellt werden (BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT, 2010).

Des Weiteren wird das Mikrobewachstum von folgenden Faktoren beeinflusst (THOMAS und CLAPPERTON, 1972; ROBINSON und SNIFFEN, 1985 beide zitiert bei KEHRHAUS et al., 2006):

- Chemische Zusammensetzung des Futters,
- Physikalische Form des Futters,
- Häufigkeit und Höhe der Futteraufnahme,
- Mikrobielle Population und
- Bedingungen im Pansen.

Wie schon voraus erläutert, wird XP genauer gesagt Stickstoff für die Proteinsynthese benötigt. Neben der Menge ist auch die Form, in welcher der Stickstoff vorliegt für das Wachstum der Mikroben von Bedeutung (DEWHURST et al., 2000; BACH et al., 2005 zitiert bei KEHRHAUS et al., 2006). Die wichtigste N-Quelle für die Mikroben ist das Ammonium. Für ein schnelleres Wachstum und eine höhere Effizienz benötigen die Mikroorganismen geringe Mengen an anderen N-Verbindungen, z. B. Aminosäuren und kurzkettige Peptide (MAENG und BALDWIN, 1976; GRISWOLD et al.; 1996 beide zitiert nach KEHRHAUS et al., 2006). Nach NEGESSE (1998) zitiert nach KEHRHAUS et al. (2006) führt eine verringerte N-Aufnahme zur Reduzierung der N-Nutzbarkeit im Pansen. Das verringerte Stickstoff-Angebot ist nicht ausreichend für die optimale Mikrobenentwicklung. Dies verringert vermutlich den Fermentationsprozess und hat eine Minderung der Verdaulichkeit der organischen Substanz zur Folge. Der Autor schlussfolgert, dass die Energiefreisetzung verlangsamt und die Verfügbarkeit der Energie für die Mikrobensynthese begrenzt wird.

KREUZER und KIRCHGESSNER (1985) zitiert nach KEHRHAUS et al. (2006) beschreiben, dass aus einem Defizit beim Futterprotein eine stark reduzierte Mikrobenaktivität resultiert. Daraus folgt eine geringere Verdaulichkeit der Futterenergie und trotz theoretisch optimaler Energieversorgung führt dies es zu einem Energiedefizit. VOIGT und PIATKOWSKI (1987) zitiert nach KEHRHAUS et al. (2006) zeigten, dass eine negative Korrelation zwischen der Menge an Mikrobenprotein und dem im Pansen abgebauten Futterprotein im Duodenum besteht und eine positive Korrelation zwischen der Aufnahme an fermentierbarer Trockenmasse und dem Proteinabbau im Pansen. Dies stellt einen weiteren Beleg der Abhängigkeit der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese von der synchronen Bereitstellung der energieliefernden Kohlenhydrate und des Rohproteins im Pansen dar (BEEVER, 1993).

Der Wirkungsgrad bzw. die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese kann bei ansteigender Futteraufnahme nach SÜDEKUM et al. (2006) in 3 Abschnitte geteilt werden:

1. Bei sehr niedriger Futteraufnahme verbrauchen die Pansenmikroben die Energie und Nährstoffe nur zur Erhaltung,
2. Wenn das Angebot den Erhaltungsbedarf übersteigt, kommt es zur Nutzung des Überschusses für das Wachstum, was bedeutet, dass eine hohe Wachstumsrate pro zusätzlicher Einheit an Energie und Nährstoffen erreicht wird,
3. Mit einem weiteren Anstieg des Energie- und Nährstoffangebots, kommt es zur sukzessiven Beschränkung anderer Faktoren und damit fällt die marginale Nutzung jeder zusätzlichen Einheit ab.

Dies erschwert die Schätzung der mikrobiellen Proteinsynthese (SÜDEKUM et al., 2006)

2.1.3 Nukleinsäurenabbau

Die Nukleinsäuren bestehen zum Teil aus Purinen und Pyrimidinen. Diese sind für die Neusynthese von Nukleinsäuren von Bedeutung. Ein wesentlicher Teil des Gesamt-N der Pansenmikroorganismen ist der Stickstoff in Purinen und Pyrimidinen. Das Endprodukt des Nukleinsäurenabbaus beim Wiederkäuer ist das Allantoin (KEHRHAUS et al., 2006). Der schematische Abbau der Nukleinsäuren ist in Abbildung 3 zu sehen. Es erfolgt im Pansen vor dem enzymatischen Abbau im Darm eine Spaltung der zellulären Nukleoproteide durch Proteasen in Nukleinsäuren und Protein. Die im Nukleus und den Mitochondrien vorhandenen Desoxyribonukleasen und Ribonukleasen leiten den Abbau der Nukleinsäuren ein. Hierbei entstehen Oligo- und Mononukleotide, welche zu Nukleosiden hydrolysiert werden. Anschließend erfolgt die Spaltung in Purin- und Pyrimidinbasen sowie Zucker durch Nukleosid-Phosphorylasen (oder Nukleosidasen). Die Pyrimidinbasen können vollständig abgebaut werden. Hierbei entsteht β -Alanin und β -Aminoisobuttersäure. Diese wird weiter zu Acetat bzw. zu Propionat abgebaut (BUDDECKE, 1989 zitiert bei KEHRHAUS et al., 2006).

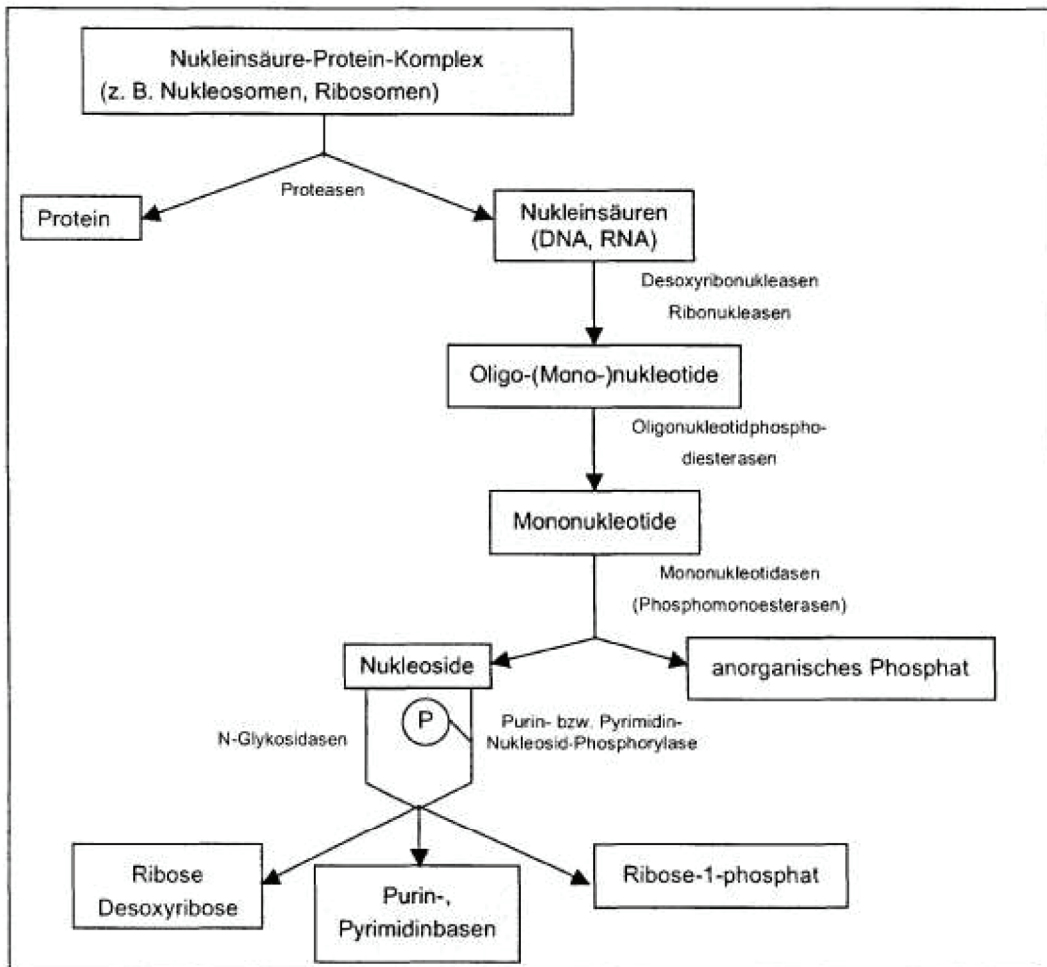


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Nucleinsäureabbaus (nach Buddecke, 1989)

Das Futter für Wiederkäuer hat einen relativ niedrigen Puringehalt. Der größte Teil dieser Purine unterzieht sich einem erheblichen Abbau im Pansen, als Resultat der mikrobiellen Fermentation. Absorbierte Purinnucleotide werden abgebaut und im Urin als Harnsäure und Allantoin ausgeschieden (siehe Abbildung 4). Die Exkretion der Purinderivate (PD) steht in direktem Zusammenhang zur Purinabsorption. Wenn man das Verhältnis von Purin-N zu Gesamt-N in der mikrobiellen Biomasse kennt, lässt sich die Mikroben-N-Absorption anhand der Höhe der Purinabsorption berechnen. Letztere lässt sich anhand der Purinderivate-Ausscheidung schätzen (CHEN und GOMES, 1992).

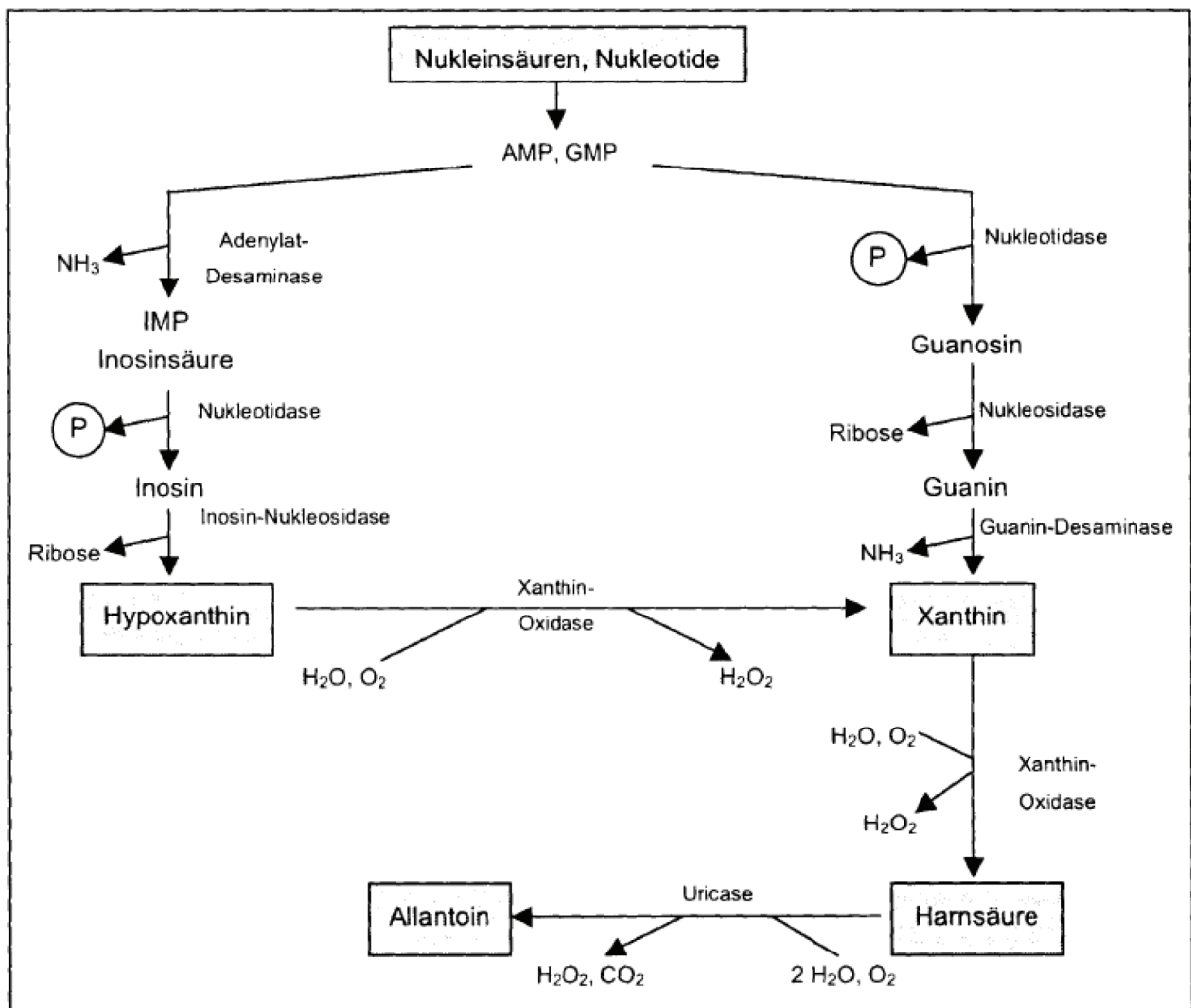


Abbildung 4: Abbau der Purinnukleotide und Bildung der Purinderivate (nach Buddecke, 1989)

Die Nucleinsäuren, welche den Pansen verlassen sind hauptsächlich mikrobiellen Ursprungs und werden einer umfangreichen Verdauung im Dünndarm unterzogen. Im Intestinum erfolgt eine Hydrolyse der Purinnucleotide in Purinnucleoside und freie Basen. Beide Formen werden vom Darm absorbiert. Es gibt nur wenige Studien, in denen eine Messung über die Absorption der Purinnucleoside und freien Basen durch das Darmlumen erfolgte. In der Darmmukosa werden die Nucleoside und freien Basen abgebaut und verwertet. Eine schematische Darstellung dieser Vorgänge ist in Abbildung 5 zu sehen. Dies ist der Punkt in dem Schaf und Rind sich von anderen Arten unterscheiden (siehe Abbildung 6). In der Darmschleimhaut des Rindes gibt es eine hohe Aktivität der Xanthinoxidase. Diese kann praktisch alle absorbierten Purine in Harnsäure spalten. Das Resultat davon ist, dass nur Harnsäure zur Leber gelangt. Somit können die absorbierten Purine nicht vom Tier in die Nucleinsäuren im Gewebe eingebunden werden (CHEN UND GOMES, 1992).

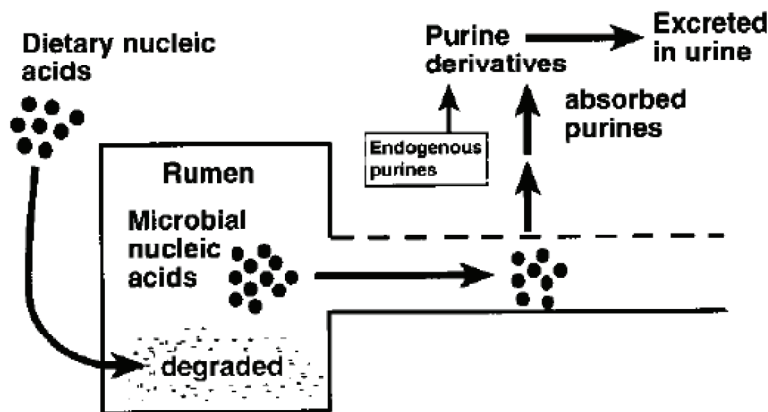


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Abbauweges der Nucleinsäuren aus dem Futter

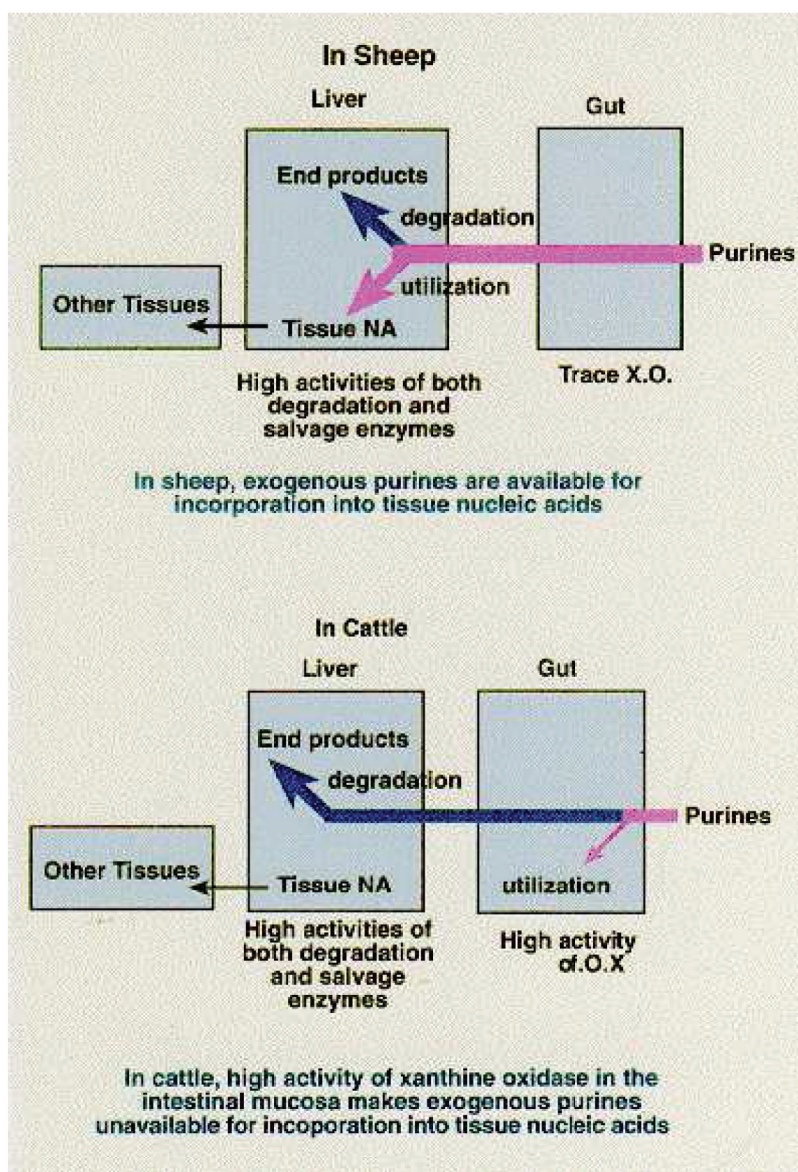


Abbildung 6: Unterschied zwischen Schaf und Rind in der Nutzung der Purinderivate (Chen und Gomes, 1992)

Die PD, die in den Blutkreislauf gelangen, können aus dem Abbau der Nukleinsäuren des Gewebes stammen. Diese Fraktionen sind die „endogenen Purinderivate“. Die Aktivität der Xanthinoxidase ist ebenfalls im Blut sehr hoch. Diese hohe Aktivität führt zur Verlagerung der Purine vom Wiederverwendungsweg („*salvage pathway*“) zum Abbauweg („*degradation pathway*“). Dieser Verlust der Purine muss durch die *nov*-Synthese aus Aminosäuren ersetzt werden. Ein Resultat ist, dass es immer einen endogenen Nettobeitrag an der Gesamtausscheidung im Urin gibt. Die Exkretion im Urin ist der primäre Weg zur Freisetzung der Purin-Endprodukte. Es gibt eine geringe Sekretion und Reabsorption von Allantoin und Harnsäure im Nephron (CHEN UND GOMES, 1992).

2.1.4 Purinausscheidung als Indikator für die Ernährungssituation

GIESECKE et al. (1993) fanden eine enge Beziehung zwischen der Allantoin- und Harnsäurekonzentration des Blutplasmas und der Ausscheidung beider Metaboliten im 24-h-Harn. Des Weiteren wird beschrieben, dass die Exkretion der beiden Purinderivate (PD) durch Entzug des Purinnachschubs aus dem Pansen um 42 % sank. ARUI et al. (1995) untersuchten den Einfluss des Pansenstoffwechsels auf zyklische N-Verbindungen im Blutplasma von Wiederkäuern. Demnach ist Allantoin maßgeblich von der Nukleinsäurenproduktion der mikrobiellen Zellmasse abhängig. Die Ausscheidung im Harn nahm mit steigender Aufnahme von fermentierbarer Energie und damit bedingter höherer Produktion mikrobieller Masse zu.

Dies zeigt, dass die Zusammensetzung der Ration Einfluss auf die Höhe der PD-Ausscheidung hat. GONDA et al. (1996) verfütterten an laktierende Kühe mit Pansenfisteln vier verschiedene Rationen. Hierbei handelte es sich um ein rohfaserreiches Futter mit wenig bzw. viel Fett und um krafftutterreiches Futter mit wenig bzw. viel Fett. Es zeigte sich, dass bei ansteigendem Krafftutteranteil die Konzentration und die Höhe der Gesamtausscheidung des Allantoins im Urin um durchschnittlich 22 % bis 38 % anstieg. Dies gilt für die Spot-Proben sowie für die Gesamt-Urinmenge. Die Autoren schließen daraus, dass bei den Tieren eine größere Menge an Mikrobenprotein am Duodenum angeflutet wurde. Die Höhe der Harnsäure-Ausscheidung betrug durchschnittlich nur 4 % der gesamten PD-Ausscheidung. Diese blieb unbeeinflusst von der Rationszusammensetzung.

VALADARES et al. (1999) stellten eine höhere Allantoinausscheidung bei höheren Krafftutteranteilen in der Ration fest. Zudem war ein Optimum bezüglich der Krafftutterversorgung zu erkennen. Dieses lag bei < 65 % Konzentrat. Dies zeigt, dass ein zu geringer Anteil an Grobfutter bzw. Rohfaser sich nachteilig auf die Pansenflora und damit auf die Verdauung auswirkt (siehe auch Kapitel 2.2.2). Bei MOORBY et al. (2006) war die Allantoinausscheidung bei einem Krafftutteranteil von 65 % am höchsten. Die Autoren fanden eine stark positive, lineare Beziehung zwischen dem mikrobiellem N-Fluss zum Duodenum und der gesamten PD-Ausscheidung. Der mikrobielle Stickstoff wurde geschätzt anhand des Puringehaltes des

duodenalen Verdauungsbreis. Die Ergebnisse von VALADARES et al. (1999) und MOORBY et al. (2006) sind in Tabelle 1 kurz dargestellt. Der Puringehalt ist positiv korreliert mit der Purinderivate-Exkretion via Urin bei Milchkühen (VAGNONI et al., 1997; GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003)

Tabelle 1: Die Höhe der Gesamt-PD-Ausscheidung in Abhängigkeit des Kraftfutteranteils

Quelle KF:GF- Verhältnis	VALADARES et al. (1999)		MOORBY et al. (2006)	
	Allantoin in mmol/d	Harnsäure in mmol/d	Allantoin in mmol/d	Harnsäure in mmol/d
20:80	369,1	35,5	182	14,8
35:65	435,2	43,4	181	17,8
50:50	534,8	52,4	298	35,8
65:35	428,9	42,3	303	39,2

Der Anteil der Harnsäure an der gesamten PD-Exkretion ist nicht konstant. Er schwankt zwischen 12,3 und 42,5 %. Diese Variation deutet daraufhin, dass das Verhältnis von Allantoin zu Harnsäure über die physiologischen Stadien und/oder die Rationszusammensetzung beeinflusst wird. In der frühen Phase der Laktation tendierten die Kühe zu einer höheren Ausscheidung an Harnsäure und weniger Allantoin und in der späteren Laktation passierte das Gegenteil (JOHNSON et al., 1998). Die Autoren führen folgende mögliche Gründe für diesen Verlauf an:

- Unterschiede in der Uricase-Aktivität in der Leber und dem extrahepatischen Gewebe,
- Änderungen in den Konzentrationen der Purine die via Rückgewinnungskreislauf („*salvage cycle*“) in Nukleinsäuren des Gewebes eingebaut werden versus der Konzentrationen die zu Harnsäure und Allantoin abgebaut und ausgeschieden werden,
- aufgrund von Unterschieden im physiologischen Status kommt es zur Änderung der Exkretionsroute von Allantoin und Harnsäure via Urin, Milch, Speichel oder anderer Exkretion,
- Veränderungen in der Höhe und dem Anteil des endogenen Purinverlustes via Urin in Abhängigkeit des physiologischen Status.

JOHNSON et al. (1998) beschreiben, dass aufgrund der minimalen Forschung über die Uricase-Aktivität in der Leber von Wiederkäuern unbekannt ist, ob signifikante Änderungen in Abhängigkeit vom physiologischen Status auftreten. Weiterhin ist unbekannt ob die Änderungen der Aktivität das Verhältnis von Allantoin zu Harnsäure beeinflusst.

GONZALEZ-RONQUILLO et al. (2003) konnten auch Unterschiede in der Ausscheidungshöhe

zwischen der frühen und der späten Laktationsphase nachweisen. Sie stellten eine lineare Beziehung zwischen der täglichen Ausscheidung der Purinderivate und der dem Duodenum zugeführten Purinbasen fest. Die Ergebnisse zeigten, dass die Wiederfindungsrate der duodenalen Purinbasen im Urin während der Laktation nicht konstant ist. Im frühen Abschnitt war die Wiederfindung im Urin signifikant geringer. GONZALEZ-RONQUILLO et al. (2003) führen diesen Unterschied zwischen den Laktationsstadien auf eine niedrigere Effizienz der Absorption und des Metabolismus der Purinbasen zu Beginn der Laktation als Folge einer Übersättigung durch die experimentelle Infusion von RNA zurück. Nach Ergebnissen von SCHARRE UND AMMAN (1980) zitiert nach GONZALEZ-RONQUILLO et al. (2003) ist das Ausmaß des Purintransportes durch die Darmwand begrenzt. Die letztgenannten Autoren stellten einen gleich hohen Fluss an Purinbasen in der frühen und in der späten Laktation fest. Somit kann die Änderung nicht damit erklärt werden. Als Begründung für die Veränderung in der Ausscheidungshöhe gingen die Autoren auf die Ergebnisse von JOHNSON et al. (1998) ein. Sollte das Laktationsstadium die Aktivität der beteiligten Enzyme beeinträchtigen, könnte dies eine Modifikation der Effizienz der Absorption und des Metabolismus oder alternativ die Aufteilung zwischen renalen und nicht-renalen Wegen hervorrufen.

DICKHOEFER UND SUSENBETH (2010) bestätigen vorangegangene Arbeiten. Sie infundierten Glukose und Harnstoff in den Pansen von Färsen und stellten fest, dass die Ausscheidung von Allantoin und Harnsäure anstieg. Sie schlossen aus den Ergebnissen, dass die PD-Exkretion zur sicheren Vorhersage des ruminalen Mikrobenprotein-Angebots genutzt werden kann. In Tabelle 2 ist eine Auswahl an Formeln aus verschiedenen Literaturquellen abgebildet.

Tabelle 2: Auswahl an Formeln zur Beurteilung der Fermentationsleistung im Pansen

Gleichung	Kenngrößen	Quelle
<p>DOMR (kg/d) = Futteraufnahme x TM x org. M x verd. Org. M x 0,65 (DOMR = im Pansen verdauliche organische Substanz)</p> <p>Mikroben N (g/d) = 32g/kg DOMR</p> <p>Pa (mmol/d) = MN (gN/d) / 0,727</p> <p>PDe = 0,85 Pa + 0,385 x W0,75</p> <p>Ae (mmol/d) = PDe x Anteil Allantoin (z. B. 0,85)</p> <p>UAe (mmol/d) = PDe x Anteil Harnsäure (z. B. 0,15)</p> <p>Herausrechnen des Verdünnungsfaktors:</p> <p>Ae (mg/l Urin) = Ae (mg/d) / gesamte Tagesurinmenge</p> <p>UAe (mg/l Urin) = UAe (mg/d) / gesamte Tagesurinmenge</p> <p>X = (Y-0,385 x W0,75) / 0,85</p>	<p>TM = Gehalt an Trockenmasse; org. M = Gehalt an organischer Masse; verd. Org. M = verdauliche org. Masse, DOMR hat 32 g Mikroben N/kg, Pa = äquivalente vom Tier absorbierte Purinmenge, MN = Mikroben N, Pe = ausge-schiedene Purinderivate, W0,75 = metabolische Körpermasse in kg, Ae = Allantoin-Ausscheidung, UAe = Harnsäure-Ausscheidung, Y= aussche-geschiedene PD, X= Absorbierte Purinmenge</p> <p>W0,75 = metabolische Körpermasse in kg</p>	<p>CHEN und GOMES, 1992</p>
<p>Y = 0,85 X + 0,385 W0,75</p> <p>Y = bX + bE</p> <p>Mikroben N (gN7d) = $\frac{X(\text{mmol/d}) \times 70}{0,116 \times 0,83 \times 1000}$</p> <p>PDC index = $\frac{[PD] \times W0,75}{[\text{Kreatinin}]}$</p> <p>PD Ausscheidung (mmol/d) = PDC index x C</p>	<p>Verdaulichkeit der mikrobiellen Purine = 0,83 aus Literatur übernommen, N-Gehalt der Purine = 70mg N/mmol, Verhältnis Purin-N: Total N in den Pansen-mikroben gemessen: 11,6:100;</p> <p>C= Tagesausscheidungs-menge an Kreatinin (mmol/kg W0,75)</p>	<p>CHEN und ØRSKOV, 2003</p>
<p>Mikroben N = 19,9 + 0,689 x Gesamt PD (R = 0,887)</p>	<p>PD = Purinderivate [mmol/d]</p>	<p>MOORBY et al. 2006</p>
<p>Purinabsorption (mmol/d) = $\frac{\text{gesamte PD-Exkretion} - 0,385 * BW^{0,75}}{0,85}$</p> <p>Mikroben N (in g/d) = (Purin-Absorption*70)/(0,134*0,83*1000)</p>	<p>0,85 ist die Effizienz der Purinabsorption; 70 der N-Anteil der Purine (mg N /mmol), 0,134 Verhältnis von Purin-N zum Gesamt-N und 0,83 die Verdaulichkeit von mikrobiellen Stickstoff</p>	<p>VALADA-RES et al. (1999)</p>

2.2 Kohlenhydratstoffwechsel

2.2.1 Abbau der Kohlenhydrate im Pansen

Bereits in den Vormägen wird der größte Teil der Kohlenhydrate aus dem Futter zu flüchtigen Fettsäuren abgebaut. Der Hauptanteil der Abbauprodukte wird auch an dieser Stelle resorbiert.

Die Zellulose und Hemizellulose sind unlösliche Bestandteile der pflanzlichen Zellwand und bilden die mengenmäßig größte Gruppe pflanzlicher Kohlenhydrate. Die Zellulose besteht aus 1,4-β-glykosidisch gebundenen Glukosemolekülen. Cirka 30 dieser Glukosemoleküle sind durch Wasserstoffbrückenverbindungen und Van-der-Waals-Kräfte zu Elementarfibrillen zusammengelagert.

Der Abbau der Zellulose wird in den Vormägen durch zellulolytische Bakterien eingeleitet. Die nachfolgend als Beispiele aufgeführten Mikroorganismen zerlegen die Zellulose und Hemicellulose bis zu Zellulosefragmenten: *Bacterioides succinogenes*, *Ruminococcus Flavefaciens* und *Ruminococcus albus*. Diese Fragmente werden von anderen Keimen z. B. *Selenomonas ruminantium* in flüchtige Fettsäuren und Methan umgewandelt (KOLB, 1989a). Die Abbauschritte sind in Abbildung 7 schematisch dargestellt.

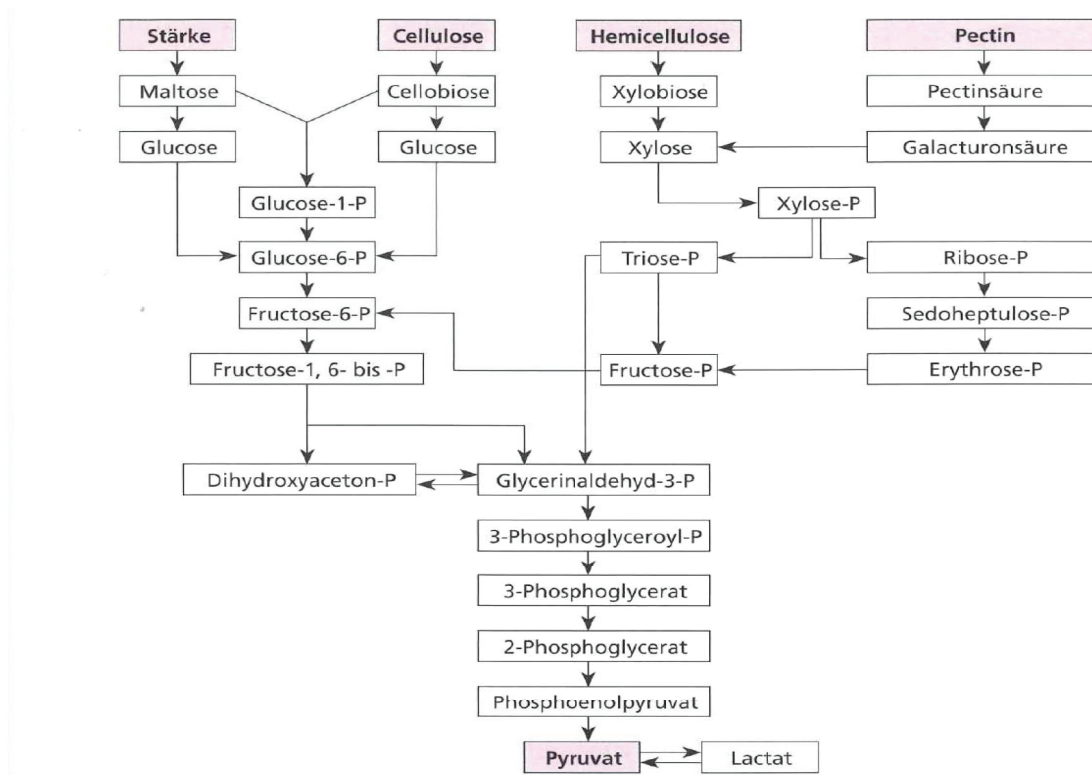


Abbildung 7: Abbau der Kohlenhydrate im Pansen (von Engelhardt, 2010)

Der Abbauumfang der Zellulose ist von folgenden Gehalten der Futtermittel abhängig:

- Inkrustierenden Substanzen,
- Leichtverdaulichen Kohlenhydraten und
- Rohprotein.

Die Zellulose aus jungen Pflanzen hat eine höhere Verdaulichkeit als die aus älteren, stark verholzten Pflanzenteilen mit einem hohen Ligningehalt. Mit fortschreiten der Vegetation nimmt die Verdaulichkeit der Zellulose ab. (KOLB, 1989a) Lignin aus Halmfrüchten ist beim Wiederkäuer bis zu 30 % verdaulich, wohingegen das aus Blattfrüchten nahezu unverdaulich ist (NEHRING und LAUBE, 1955 zitiert bei KOLB, 1989a). Es erfolgt eine Senkung der Verdaulichkeit der Rohfaser bzw. von Grobfutter durch Zugabe von Stärke oder stärkereicher Futtermittel. Dieser Effekt wird als „Depression der Rohfaserverdauung“ bezeichnet. Hierbei ist die Konkurrenz zwischen amylolytischen und zellulolytischen Bakterien um essentielle Nahrungsfaktoren von Bedeutung. Die zellulosespaltenden Bakterien benötigen zur Vermehrung mindestens 5 % Rohproteingehalt im Futter. Eine mäßige Erhöhung des Rohproteingehaltes fördert und eine zu hohe hemmt die Effizienz des Zelluloseabbaus. Durch eine Zulage von Rohprotein kann die durch Stärke verursachte Verdauungsdepression der Rohfaser gemindert werden (KOLB, 1989a).

2.2.2 Bedeutung der Gerüstsubstanzen für die Wiederkäuerernährung

Besonders bei hohen oder steigenden Milchleistungen hat das Tier einen hohen Energiebedarf. Daraus folgt, dass es zum Einsatz energiereicher Grob- und Krafftutter und zur Erhöhung des Krafftutteranteils in der Ration kommt. Grenzen liegen in der Sicherstellung der physikalischen Struktur, um die wiederkäuergerechte Fütterung zu garantieren (SPIEKERS et al., 2009). Die Ration muss aufnehmbar sein. Die Höhe der Aufnahme variiert mit:

- Leistung,
- Körpergröße,
- Körperbau (so genannter Rahmen),
- Lebendmasse,
- Laktationsstadium,
- Futterbeschaffenheit und
- Rasse.

Dem Wiederkäuer muss ein bestimmter Anteil pansenmotorisch wirksamer Rohfaser zugeführt werden. Gemeint sind damit rohfaserhaltige Rationsbestandteile, deren Größe im Zentimeter-Bereich liegen. Wenn eine totale Feinvermahlung solcher Futterbestandteile erfolgt, kommt es zur vollständigen Einstellung der Futteraufnahme. Auf der anderen Seite senken hohe Rohfasergehalte die Verdaulichkeit und die Passagerate. Dies hat zur Folge, dass

auch die Futteraufnahme zurückgeht. Die Passagerate ist ein Maß für die Verweildauer unverdaulicher Futterkomponenten. Eine langsame Passagerate reduziert die nachfolgende Futteraufnahme. Nahrungsbedingte Grenzen für die Futteraufnahme sind außer den oben genannten (JEROCH et al., 1999):

- Faserlänge,
- Faserabbaubarkeit,
- Schnelle Freisetzung flüchtiger Fettsäuren,
- Geschmack und Geruch der Ration.

Maßgebend für die Strukturwirkung einer Ration sind vorrangig die Fress- und Wiederkäuzeit. Denn letztere beeinflusst den Speichelfluss. Über den Speichel erfolgt eine weitgehende Steuerung des pH-Wertes im Vormagensystem. Mit zunehmender Leistungshöhe und damit einhergehender ansteigender Futteraufnahme nimmt die Kauzeit je kg Trockenmasse ab. Es bestehen zudem erhebliche Unterschiede von Tier zu Tier. Für eine wiederkäuergerechte Fütterung müssen folgende Punkte gewährleistet werden:

- Ausreichender Speichelfluss,
- Stabile Säuerungsverhältnisse im Vormagen,
- Ein gleichmäßiger Durchfluss der angedauten Futterbestandteile vom Vormagen zum Labmagen, Dünn- und Dickdarm, sowie eine
- Feste Kotkonsistenz.

Maßgebend zur Erreichung dieser Forderung sind folgende Faktoren:

- Länge und Starrheit der Futterteilchen,
- Das spezifische Gewicht,
- Der Mahlwiderstand,
- Die Art und Abbaugeschwindigkeit der Kohlenhydrate, und
- Kationen-Austauschkapazität.

Beim Abbau von Rohfaser kommt es zur vermehrten Produktion von Essigsäure. Beim Abbau von Stärke und Zucker entstehen vermehrt Propion- und Buttersäure. Das Verhältnis der Essig- zur Propionsäure ist entscheidend für die Verwertung der Futterenergie. Normalerweise liegt es bei Milchkühen bei 3:1. Wenn das Verhältnis enger wird, d. h. es kommt zur Bildung von relativ wenig Essigsäure und relativ mehr Propionsäure, führt diese Verschiebung zur verstärkten Körperfettbildung in Abhängigkeit vom hormonellen Status des Tieres. Gleichzeitig kommt es zum Rückgang der Fettsynthese im Euter, welches eine Senkung des Milchfettgehaltes zur Folge hat. Verschiebt sich das Gär säuremuster in die andere Richtung, ist meist die Energieversorgung unzureichend und es folgt ein Körperfettabbau. (SPIEKERS et al., 2009).

Der Rohfasergehalt der Ration von Milchkühen sollte 18- 22 % in der Trockensubstanz nicht unterschreiten. Zudem von Bedeutung ist der Anteil an strukturwirksamer Rohfaser (XF). Dieser sollte bei $\frac{2}{3}$ liegen (Spann, 1993). Der Einfluss der XF auf die Verdauung ist in Tabelle 3 zu sehen.

Tabelle 3: Einfluss der Rohfaser auf die Verdauung im Pansen (nach Gfrörer zitiert bei Spann, 1993)

Richtwert: Rohfaseranteil 18-22% der T, davon etwa $\frac{2}{3}$ in strukturwirksamer Form	
<p>Zu hoher Rohfasergehalt:</p> <ul style="list-style-type: none"> - niedrige Verdaulichkeit der organischen Substanz, - langsamer Abbau, - lange Verweildauer im Pansen, - gründliches Wiederkauen, - starker Speichelfluss, - relativ hoher pH-Wert im Pansen (über 6), - relativ viel Essigsäure, - relativ wenig Propionsäure, - wenig Buttersäure, - hoher Milchfettgehalt, - wenig Milchmenge, - geringer Milcheiweißgehalt, - verschlechterte Energieversorgung und bakterielle Proteinsynthese. 	<p>Zu niedriger Rohfasergehalt:</p> <ul style="list-style-type: none"> - hohe Verdaulichkeit der organischen Substanz, - rascher Abbau, - kurze Verweildauer im Pansen, - kurzes Wiederkauen - schwacher Speichelfluss, - relativ niedriger pH-Wert im Pansen (5-6), - relativ wenig Essigsäure, - relativ viel Propionsäure, - mehr Butter- und Milchsäure, - niedriger Milchfettgehalt, - hohe Milchmenge, - höherer Milcheiweißgehalt, - bessere Energieversorgung und bakterielle Proteinsynthese.
Im Extrem:	
<ul style="list-style-type: none"> - Fruchtbarkeitsstörungen und - Acetonämie. 	<ul style="list-style-type: none"> - Fruchtbarkeitsstörungen, - Acidose-Acetonämie-Pansenlähmung - Lähmung des Blättermagens, - Abzeßbildung in Pansenschleimhaut und Leber, - Ablösen der Klauensohle und - Futterverweigerung.

Die Futtermittelstruktur der Einzelkomponenten einer Ration bestimmen die Strukturwirksamkeit. Die Futtermittelstruktur ist die Summe von Eigenschaften eines Futtermittels, die durch die physikalische Form und den Gehalt an Strukturstoffen gekennzeichnet wird. Der hauptsächliche Einfluss der Futtermittelstruktur auf gesundheitsrelevante Faktoren liegt beim Wiederkäuer auf der Wiederkauaktivität und Speichelsekretion sowie auf der Pansenmotorik und der Schichtung im Pansen (HOFFMANN, 1983). In Abbildung 8 ist der Einfluss der Futtermittelstruktur und die damit verbundenen gesundheitlichen Aspekte dargestellt.

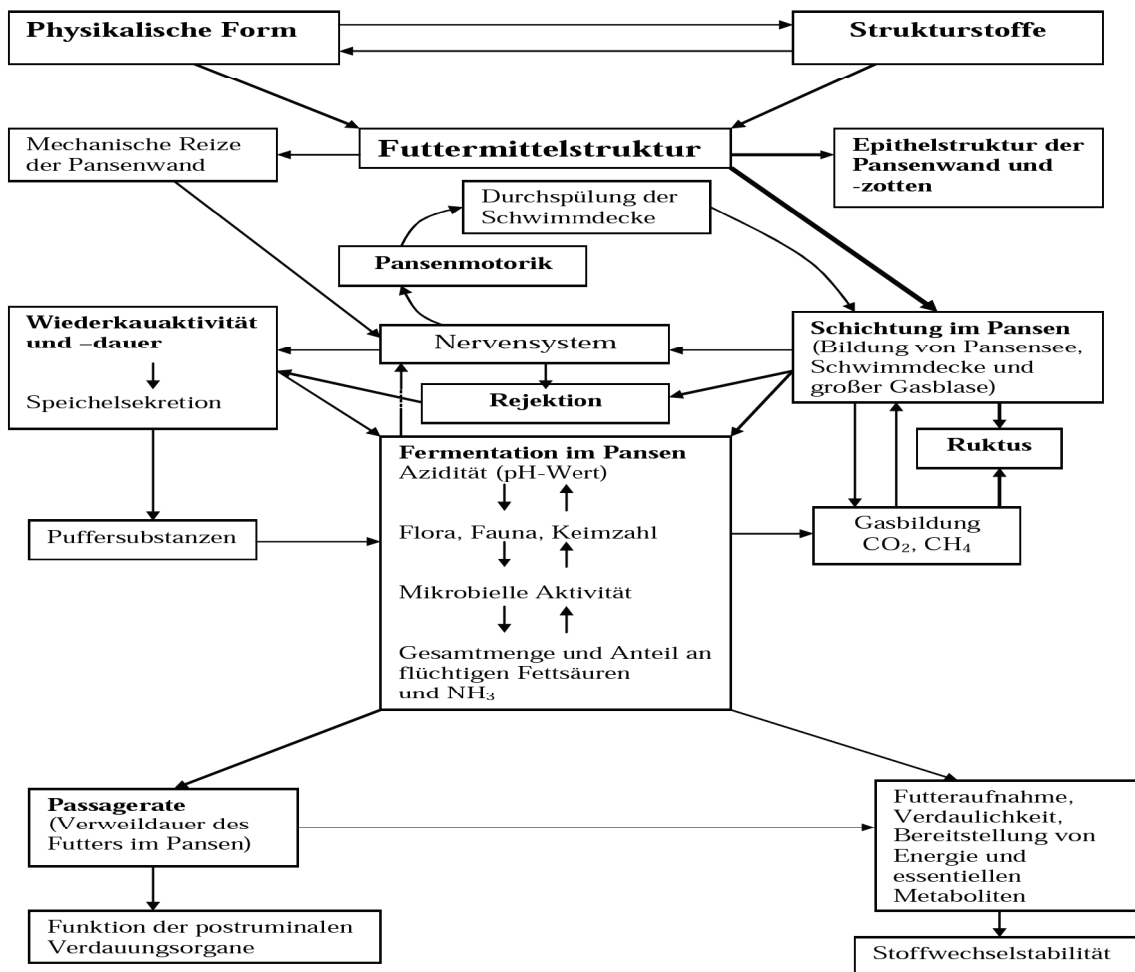


Abbildung 8: Einfluss der Futtermittelstruktur auf gesundheitsrelevante Faktoren bei Wiederkäuern (Ulbrich et al., 2004)

2.2.3 Hippursäure als Indikator für die Verdauung von Gerüstsubstanzen

Nach ARUI et al. (1994) ist die Hippursäurekonzentration im Blut stark vom Pansenstoffwechsel und damit von der Fütterung abhängig. Bei Rindern mit funktionslosen Pansen waren die Plasmagehalte an Hippursäure sehr niedrig. Auch die Konzentrationen im Harn sind sehr stark von der Fütterung abhängig.

Der nachfolgende Abschnitt und die genannten Autoren wurden alle bei KEHRHAUS et al. (2006) entnommen. Nach MARTIN (1969a, 1969b, 1970, 1982a, 1982b) scheiden Wiederkäuer höhere Mengen an aromatischen Kohlenhydraten über den Harn aus als Monogastrier. Dies lässt sich auf die Aufnahme von faserhaltigem Pflanzenmaterial zurückführen (CHEN et al., 1996). Änderungen in der renalen Ausscheidung der Hippursäure spiegeln die Zellwandverdaulichkeit annähernd wider. Diese sind auf Unterschiede in der Versorgung mit abbaubarem Protein zurückzuführen (ARIN et al., 1992). FAHEY und JUNG (1983) nehmen an, dass die Hippursäureausscheidung auf einen partiellen Abbau von Lignin im Pansen hindeutet. Dieser abgebaute Teil kann noch umgesetzt (CHEN et al., 1985; 1986) und als Phenol-

säure absorbiert werden (MARTIN et al., 1969a; 1969b, 1970, 1982a, 1982b). Die biochemischen Grundlagen dieser Vorgänge sind bis heute nicht eindeutig geklärt (KEHRHAUS et al., 2006).

Bei den anfangs erwähnten Metaboliten handelt es sich um Ausscheidungsprodukte der Phenolsäuren, alicyclischen Säuren und aromatischen Aminosäuren aus dem Futter. Diese werden zuerst von den Pansenmikroben verwertet und nach der Absorption im Gewebe umgesetzt (Martin, 1973, 1982a, 1982b, 1982c). Der größte Teil der aromatischen Metaboliten, z. B. Benzoessäure, Phenyllessigsäure, 3-Phenylpropionsäure, Zimtsäure und deren Hydroxide (Martin et al., 1982a) werden mit Glycin oder Glukuronsäure konjugiert und in dieser Form über den Harn ausgeschieden. Bei den einfachen Phenolen (p-Cresol, Catechol und Phenol) erfolgt die Konjugation zu Sulfonsäuren oder Glukuronsäuren, welche ausgeschieden werden (CHEN et al. 1996). Die Sulfonsäure- und Glukuronsäurekonjugate haben keine große Bedeutung bezüglich der renalen N-Ausscheidung und finden in den weiteren Ausführungen keine Beachtung (KEHRHAUS et al., 2006).

Die Benzoessäurederivate und die Ausscheidungsprodukte der Hydroxymethylsäure (p-Cumar-, Kaffee- oder Ferulasäure) und Cyclohexancarbonsäure (China- oder Shikimsäure) (siehe auch Abbildung 7) sind an der Biosynthese von Lignin beteiligt und ubiquitär in Pflanzen vorhanden (Martin, 1982 a, 1982b).

tativ bedeutendste Benzoessäurederivat, welches mit dem Harn ausgeschieden wird. CHEN et al. (1996) untersuchten den Urin von Wiederkäuern, welche Heu, Stroh oder Gras als Futter bekamen. Die dominierenden Metaboliten waren v. a. die Hippursäure (20-30 mmol/L) und das Glycinkonjugat der Phenyllessigsäure (1-2 mmol/L). Die Hippursäure ist ein wichtiger Energie- und Stickstoffträger im Harn von Tieren die Raufutter erhalten. Durch die Ausscheidung dieser Säure im Harn kommt es zu Energie-, Stickstoff- (PAGELLA et al., 1997) und beträchtlichen Glycinverlusten (BAXTER et al., 1966 zitiert nach KEHRHAUS et al., 2006). Die Hippursäure gewann als möglicher biologischer Marker zur Einschätzung der Versorgung mit Zellwandbestandteilen von Interesse und wurde in verschiedene Untersuchungen mit einbezogen (MARTIN et al., 1983; CHEN et al., 1996; PAGELLA et al., 1997).

PAGELLA et al. (1997) beschreiben, dass durch die mikrobielle Fermentation von zellulosehaltigen Futtermitteln 3-Phenylpropionsäure und Cyclohexancarbonsäure gebildet werden. Dies ist zudem bei KOLB (1989a) und VON ENGELHARDT (2010) aufgeführt. Es kommt zur Absorption der voran genannten Abbauprodukte der Zellulose und Metabolisation zur Benzoessäure. Diese wird mit Glycin konjugiert und als Hippursäure im Harn ausgeschieden. PAGELLA et al. (1997) infundierten in ihrer Untersuchung Hammeln 3-Phenylpropionsäure und Cyclohexancarbonsäure und fanden eine positive Korrelation zur Gesamtbenzoessäure (Benzoessäure und Hippursäure als Benzoessäureäquivalent, wobei 85 % Hippursäure). Die Wiederfindung der 3-Phenylpropionsäure und Cyclohexancarbonsäure betrug 78 %. Es wurden alternative Stoffwechselwege als Ursache der unvollständigen Wiederfindung diskutiert. Dies zeigt, dass die Absorption der im Pansen gebildeten 3-Phenylpropionsäure und Cyclohexancarbonsäure anhand der Ausscheidung von Benzoessäure und Hippursäure im Harn möglich ist. Wenn die Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der renalen Ausscheidung von Benzoessäure und der Absorption bekannt ist, kann die Benzoessäureausscheidung als Maß für die Aufnahme an verdaulichen Gerüstsubstanzen herangezogen werden. Des Weiteren kann die Gesamtbenzoessäure als Indikator für das Ausmaß des Abbaus von bestimmten faserhaltigen Futtern, die unterschiedlichen Behandlungen unterzogen wurden, dienen (PAGELLA et al., 1997).

PAGELLA et al. (1997) konnten jedoch keine Glukuronsäurekonjugate der Benzoessäure im Harn bestimmen. Die Autoren führen dies auf die sauren Bedingungen zurück, die zur Konservierung des Harns notwendig waren. Diese könnten möglicherweise die Hydrolyse zu freier Benzoessäure bewirkt haben. Es scheint eine Abhängigkeit zwischen der Aufnahme der freien Säure und den Verhältnissen von Glycin- und Glukuronidkonjugaten, welche mit dem Harn ausgeschieden werden, zu bestehen (HUTT und CALDWELL, 1990 zitiert bei PAGELLA et al. 1997). MARTIN (1966) beobachtete, dass der Anteil von Benzoylglukuronid an der Gesamtausscheidung mit dem Harn höher war, wenn die Dosis an Benzoessäure erhöht wurde. Das System für die Glycinkonjugation scheint eine hohe Affinität aber geringe Kapazität zu

haben, wohingegen das System der Glukuronsäurekonjugation eines mit niedriger Affinität, aber hoher Kapazität ist (HUTT und CALDWELL, 1990 zitiert bei PAGELLA et al. 1997).

2.3 Kreatinin als interner Marker

Die Ausgangssubstanz des Kreatinins ist das Kreatin. Das Zwischenprodukt dieser beiden Stoffe ist das Kreatinphosphat, welches in der Muskulatur vor einer Muskelaktivität vorliegt. Es fungiert als Energiespeicher, der jederzeit schnell in Anspruch genommen werden kann um ATP zu regenerieren. Im arbeitenden Muskel entsteht aus Kreatinphosphat und ADP unter dem Einfluss des Enzyms Kreatinkinase ATP und Kreatin. Im in Ruhe befindlichen Muskel läuft die umgekehrte Reaktion ab. Im Organismus entsteht durch nicht-enzymatische Umwandlung aus Kreatinphosphat Kreatinin. Letzteres wird über die Niere eliminiert. (RÖMPP, 1995 zitiert bei KEHRHAUS et al., 2006) Die Menge der Kreatininausscheidung ist proportional zur Muskelmasse und unabhängig von der Fütterung (FOLIN 1905a, 1905b zitiert bei KEHRHAUS et al. 2006)

LINDBERG (1985) zitiert bei KEHRHAUS et al. (2006) empfahl die Nutzung von Kreatinin als internen Marker für die quantitative Schätzung der Ausscheidung an Stickstoff u. a. in Form von Purinderivaten im Harn zu verwenden.

Die Ausscheidung des Kreatinins ist relativ konstant und kann zur Vorhersage der Muskelmasse genutzt werden. Bullen scheideten mehr Kreatinin aus als Milchkühe. Dies könnte einen höheren Anteil an Muskelmasse bei den Bullen widerspiegeln (ØRSKOV und MACLEOD, 1982). Das Verhältnis von Purinderivaten zu Kreatinin ist stark korreliert mit der täglichen PD-Exkretion. Die Autoren schlagen die Nutzung der Kreatinin-Exkretion als mögliche Alternative der Gesamt-PD-Exkretion zur Bestimmung des mikrobiellen Proteinangebots vor. (CHEN et al., 1995)

Die Ergebnisse der Untersuchung von CHIZZOTTI et al. (2008) deuteten darauf hin, dass die Exkretionshöhe bei laktierenden Kühen gleich bleibend war. Analog, zu diesen Resultaten fanden SUSMEL et al (1995) zitiert bei CHIZZOTTI et al. (2008) keine Unterschiede über die verschiedenen Laktationstadien. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen ist die Arbeit von VALADARES et al. (1999). Die Autoren analysierten Spot-Urinproben (12 h Intervall) und sammelten die gesamte Harnmenge. Sie berichteten, dass im Intervall von 5:00 bis 17:00 Uhr die Kreatinin-Exkretion geringer war. Dies kann durch mögliche Urinverluste verursacht sein, weil bei den Tieren während des morgendlichen Melkens die Katheder für 1 h geklemmt wurden.

Das Kreatinin hat unter den analysierten Parametern eine Sonderstellung. Es soll in der Herdendiagnostik zur Schätzung der gesamten Urinmenge herangezogen werden. Dies kann nur erfolgen, wenn die Kreatininausscheidung unabhängig von Tageszeit und Fütterung ist.

Es wurden folgende Formeln zur Berechnung der Gesamtausscheidung der analysierten Pa-

parameter anhand des Kreatinins gefunden. CHIZZOTTI et al. (2008) beziehen das Kreatinin auf das Körpergewicht/metabolische Körpermasse $0,212 \text{ mmol/kg BW}$ oder $1,06 \text{ mmol/kg BW}^{0,75}$.

Die vorgenannten Autoren hatten als Versuchstiere u. a. vier laktierende Holsteinkühe.

VALADARES et al. (1999) berichtete eine höhere Kreatininausscheidung von $0,256 \text{ mmol/kg BW pro d}$ bei laktierenden Holsteinkühen (Milchleitung: 40 kg/d). Diesen Autoren standen 24 Holsteinkühe, davon acht mit Pansenfistel zur Verfügung. VALADARES et al. (1999) ermittelten folgende Formel zur Bestimmung der Tagesurinmenge:

$\text{Urin/d} = \text{BW} \times 29 \div \text{Kreatinin-Konzentration (mg/l)}$.

3 Material und Methoden

3.1 Tier- und Probenmaterial

3.1.1 Versuchsaufbau der Gewinnung der Harnproben

In dieser Untersuchung handelt es sich ausschließlich um Spot-Proben. Da in einem Landwirtschaftsbetrieb auch keine Sammlung der Gesamturinmenge vorgenommen werden kann, ist dies auch für diese Arbeit nicht sinnvoll. Die Urinproben stammen aus einem schwedischen Projekt, unter Beteiligung der SLU Skara. Dieses hatte die Bestimmung der Auswirkungen von Silage-Zusätzen auf die Proteinqualität des Futters und die Milchleistung zum Ziel. Hierzu wurde Silage des dritten Schnittes an Hochleistende Milchkühe der Rasse Holstein verfüttert. Die Rationen unterscheiden sich daher nur in den Additiven der Silagen. Ration 1 ist die unbehandelte Kontrolle, Ration 2 wurde mit homofermentativen Milchsäurebakterien und Ration 3 mit Salzen (Hexamin, Natriumnitrit, Natriumbenzoat und Natriumpropionat) versetzt. Die Probennahme für Ration 1 erfolgte am 10.02.2011. Die Harnproben der Ration 2 wurden am 03.03.2011 gesammelt und die der Ration 3 am 24.03.2011. In das Labor der LKS GmbH in Lichtenwalde kamen sie am 11.04.2011 tief gefroren an.

Die Proben wurden am Tag der Probenahme mit Schwefelsäure (H_2SO_4) (0,036 mol/l) versetzt (z. B. für 40 ml Urin benötigt man 160 ml H_2SO_4). Anschließend, erfolgte eine Lagerung bei -21°C .

Es lagen zum Zeitpunkt der Auswertung der Urinproben keine Daten zur Milchleistung bzw. Futterzusammensetzung bezüglich der Inhaltsstoffe vor. Deshalb wird in der folgenden Arbeit nicht weiter darauf eingegangen.

3.1.2 Versuchsaufbau bei der Prüfung der Lagerstabilität

Es erfolgte ein Vergleich der Analysenwerte in Abhängigkeit von der Konservierung und der Dauer des Probentransportes. Als Standard wird in der Forschung Schwefelsäure zur Harnkonservierung eingesetzt. Im Milchlabor des LKV kommt im Rahmen der Milchleistungsprüfung Bronopol-Kathon-Lösung zum Einsatz. Für die Lagerung der Schwefelsäure gelten auch bei kleinen Mengen besondere Auflagen. Dies ist bei Bronopol-Kathon-Lösung nicht der Fall. Es galt zu überprüfen, ob dieses eine ebenso lange Haltbarkeit des Urins erreicht wie Schwefelsäure.

Die Probennahme für den Konservierungsmittelvergleich erfolgte in einem Mitgliedsbetrieb des LKV Sachsen e. V. Hierzu wurden am Tag der Probennahme die Urinproben wie nachfolgend beschrieben mit zwei verschiedenen Konservierungsmitteln versetzt. Für 50 ml Urin benötigt man 0,2 ml Bronopol-Kathon-Lösung bzw. 200 ml H_2SO_4 (0,036 mol/l). Um den Be-

darf an Schwefelsäure so gering wie möglich zu halten, wurden 40 ml H₂SO₄ für die Konservierung von 10 ml Harn mit verwendet. Die Messung des Allantoin, der Harnsäure und der Hippursäure erfolgte am Tag 1 (Tag der Probenahme), Tag 3 und Tag 5 nach der Probenahme. Die konservierten Proben wurden bei Zimmertemperatur (20 bis 22 °C) gelagert. Die Vorgehensweise wurde aus der Untersuchung von WESTPHAL et al. (2007) entnommen.

3.2 Labormethoden

Die Bestimmung des Allantoin und der Hippursäure erfolgte mittels einer Hausmethode. Die instrumentelle Anordnung und die verwendeten Chemikalien sind nachfolgend aufgelistet. Der Gesamt-Stickstoff und der Harnstoff wurden nach den Vorschriften des Methodenbuchs III des VDLUFA bestimmt. Die Harnsäure und das Kreatinin wurden mittels Enzymtest determiniert.

3.2.1 Chemikalien und Reagenzien

Die in Tabelle 4 aufgelisteten Chemikalien und Reagenzien wurden zur Probenvorbereitung und Derivatisierung für die gaschromatographische Bestimmung von Allantoin und Hippursäure, sowie der enzymatischen Bestimmung von Harnsäure verwendet.

Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Chemikalien und Reagenzien

Stoff	Hersteller
Allantoin	Appli Chem
Essigsäure anhydrid	Merck
Ethyl-Acetat	J. T. Baker
Fluitest [®] UA	Analyticon [®] Biotechnologies AG
Harnsäure	Appli Chem
Hippursäure	Sigma Aldrich
Natriumhydroxid (0,1mol/l)	Chem solute
Schwefelsäure (0,1mol/l)	Kraft

3.2.2 Instrumentelle Anordnung

Die Messtechnik besteht aus einem Gaschromatograph (GC) Varian CP-3800 und einem Massenspektrometer (MS). Letzteres ist ebenfalls ein Produkt der Firma Varian und hat die Typenbezeichnung: Varian Saturn GC/MS/MS. Das Injektionsvolumen betrug 1 µl und die Injektion erfolgt splittlos. Als Trägergas wurde Helium verwendet. Das Ofenprogramm startete bei 80 °C. Diese Temperatur wurde für eine Minute (min) gehalten und mit 30 °C/min auf 300 °C hoch geheizt.

Der Gaschromatograph ist mit folgenden Bauteilen ausgestattet:

- Säule: ROTI® CAP-5 MS Ultra (Länge: 30 m; Innendurchmesser: 0,25 mm, Filmdicke: 0,2 µm),
- Injektor Insert: Split Frit (Länge: 54 mm; Außendurchmesser: 5 mm; Innendurchmesser: 3,4 mm),
- Autosampler: Combi PAL von CTC Analytics.

Das Massenspektrometer hatte folgende Bestandteile:

- 3-Dimensionale Quadrupole Ionenfalle,
- sekundärer Ionenvervielfacher.

Um die Derivatisierung zu beschleunigen wurden die Proben für 2 Stunden bei 60 °C in einen Inkubator gestellt. Es ist auch möglich die Proben bei Raumtemperatur zu inkubieren. Dies nimmt aber viel mehr Zeit in Anspruch.

3.2.3 Weitere Geräte und Hilfsmittel

Die nachfolgend genannten Geräte wurden zusätzlich für den Versuchsaufbau benötigt:

- Bechergläser,
- ChemElut Kartusche,
- Feinwaage
- Maßkolben,
- Küvetten,
- Pasteurpipetten,
- Pipettenspitzen,
- Spektrometer,
- Transferpipetten,
- Ultraschallbad,
- Zentrifugenröhrchen.

3.2.4 Herstellung der Stammlösungen

Zur Herstellung der Stammlösungen wurden Allantoin und Hippursäure auf einer Feinwaage in jeweils einem 50 ml Maßkolben ein gewogen. Bei dem Kolben mit dem Allantoin füllt man Natriumhydroxid (NaOH) (0,1 mol/l) ein, bis es vollständig in Lösung geht. Den Rest mit Aqua dest. bis zum Eichstrich einfüllen. Die Hippursäure löst sich relativ schlecht, deshalb ist bis ca. zur Hälfte mit 0,1 mol/l NaOH einzugießen und für 15 min bei ca. 30-35 °C in ein Ultraschallbad zu stellen. Anschließend mit Aqua dest. bis zum Eichstrich auffüllen.

3.2.5 Herstellung der Standards

Bei den einzelnen Standardlösungen 1 bis 4, welche zur Kalibrierung des GC/MS benötigt wurden setzten sich wie in Tabelle 5 aufgeführt zusammen. Es handelt sich um Verdünnungen aus Standard 5. Diese Variante wurde gewählt, weil sie genauere Ergebnisse erzielte, als die Extraktion jedes einzelnen Standards.

Tabelle 5: Zusammensetzung der einzelnen Standards

Einzelstandard	STD 1 ⁽¹⁾			STD 2 ⁽¹⁾			STD 3 ⁽¹⁾			STD 4 ⁽¹⁾			STD 5
	STD 5	Ethyl-Acetat	c Vial [g/l]	STD 5	Ethyl-Acetat	c Vial [g/l]	STD 5	Ethyl-Acetat	c Vial [g/l]	STD 5	Ethyl-Acetat	c Vial [g/l]	
	V [ml]	V [ml]	c Vial [g/l]	V [ml]	V [ml]	c Vial [g/l]	V [ml]	V [ml]	c Vial [g/l]	V [ml]	V [ml]	c Vial [g/l]	
Allantoin	1	4	9,6	1	3	12	2	2	24	2	1	32	48 ⁽²⁾
Hippursäure			9,6			12			24			32	48 ⁽²⁾

⁽¹⁾ Verdünnungen aus STD 5

⁽²⁾ aus Urstandard jeweils 7,5 ml entnommen und mit Aqua dest. auf 25ml Kolben aufgefüllt, und Verdünnung nach dem Schema für Standards (Kapitel 3.2.7) durchgeführt

3.2.6 Extraktion der Stoffe

Es fand die Flüssigextraktion wässriger Proben in der Kartusche Anwendung. Das Prinzip ist folgendes: Die wässrige Probe wird in die Kartusche und damit auf die Diatomeenerde gegeben. Hierzu ist kein Vakuum oder Druck notwendig. Die Probe sickert einfach unter Schwerkraft ein. Das trockene Sorbens saugt es komplett auf und bildet eine wässrige Schicht. Um die vollständige Aufnahme zu gewährleisten, muss man 5-15 min warten. Am Fuß der Kartusche sollte möglichst nur eine schmale „Sicherheitszone“ unbeladen bleiben, um sicher zu stellen, dass die Probe vollständig aufgenommen wird. Es darf aber nicht zu viel trocken bleiben. Nach der Zugabe des organischen Lösungsmittels erfolgt der Übergang der Analyten aus der wässrigen Schicht in die organische Phase (siehe Abbildung 10) (VARIAN DEUTSCHLAND GMBH, BEYER, 2009). Als Eluationsmittel wurde Ethyl-Acetat verwendet, weil dies nach mehreren Versuchen mit anderen nicht wassermischbaren Lösungsmitteln die besten Ergebnisse erzielte.

Es ist eine Probenvorbehandlung notwendig, in Form einer pH-Wert Einstellung. Hierzu wurden die Proben ein zweites Mal mit Schwefelsäure (0,1 mol/l) versetzt (siehe Kapitel 3.2.7). Der pH-Wert spielt bei der Flüssigextraktion eine wichtige Rolle, weil der Analyt ungeladen vorliegen muss und dabei am unpolarsten ist (VARIAN DEUTSCHLAND GMBH, BEYER, 2009).

Um den Verbrauch an Lösungsmittel und die Umweltbelastung gering zu halten, wurde die 10 ml Kartusche ausgewählt. Der Versuchsaufbau zur Probenextraktion mit einer Kartusche ist in Abbildung 11 zu sehen.

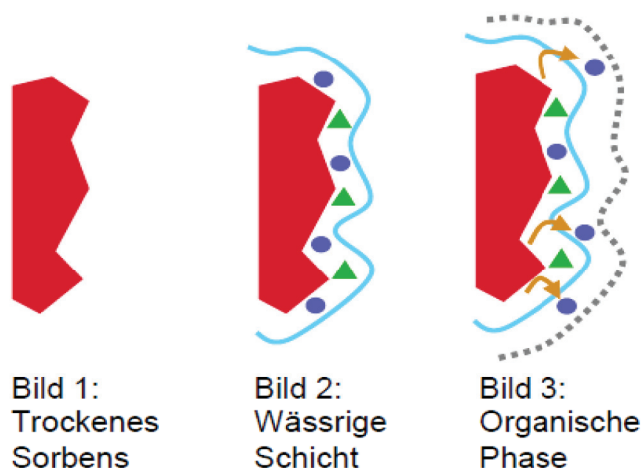


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips (Beyer, 2009)



Abbildung 11: Extraktion der Probe mittels Kartusche

3.2.7 Berechnung der Konzentration

Die Verdünnung des Harns erfolgte nach unten abgebildetem Schema:

3 ml Urin + 12 ml H_2SO_4 (0,036 mol/l)



5 ml der vorherigen Verdünnung + 5 ml Aqua dest. + 5 ml H_2SO_4 (0,1 mol/l)



10 ml der vorherigen Verdünnung in 25 ml Ethyl - Acetat
(Wird wieder auf 25 ml mit Ethyl - Acetat aufgefüllt)



500 μl Eluat + 750 μl Essigsäure anhydrid

Dies ergibt einen Verdünnungsfaktor von 93,75. Der Harn kam schon mit der ersten oben aufgeführten Verdünnung im Labor an, da dies zur Konservierung nötig ist.

Die Verdünnung der Standards wurde nach folgendem Schema durchgeführt:

3 ml Standard + 12 ml H₂SO₄ (0,1 mol/l)



10 ml der vorherigen Verdünnung in 25 ml Ethyl - Acetat
(Wird wieder auf 25 ml mit Ethyl - Acetat aufgefüllt)



500 µl Eluat + 750 µl Essigsäure anhydrid

Der hier resultierende Verdünnungsfaktor ist 31,25.

Es empfiehlt sich die zweite Verdünnung mit Schwefelsäure (0,1 mol/l) erst kurz vor der Probenvorbereitung durchzuführen, da es sonst zum Ausfällen der Inhaltsstoffe kommt. Dies hat zur Folge, dass die Genauigkeit der Messung stark negativ beeinträchtigt wird.

3.2.8 Vorbereitung der Proben des Konservierungsmittelvergleichs

Der pH-Wert soll zur Probenextraktion unter 3 liegen. Um dies zu gewährleisten, wurde im Voraus durch eine pH-Messung die dazu nötige Menge an Schwefelsäure (0,1 mol/l) ermittelt. Durch die Konservierung des Urins mit Schwefelsäure kam es zu einer stärkeren pH Absenkung als bei Bronopol. Deshalb wurden unterschiedliche Mengen an Schwefelsäure zur pH-Wert-Einstellung verwendet. Das Verdünnungsschema ist in Tabelle 6 zu sehen.

Tabelle 6: Übersicht der Verdünnungsschemas des Konservierungsmittelvergleichs

unkonserviert	Bronopol-Kathon-Lösung	Schwefelsäure (0,036 mol/l)
<p>5 ml Urin + 10 ml H₂SO₄ (0,1 mol/l)</p> <p>10 ml der vorherigen Verdünnung in 25 ml Ethyl - Acetat (Wird wieder auf 25 ml mit Ethyl - Acetat aufgefüllt)</p> <p>0,1 ml Eluat + 1,9 ml Ethyl-Acetat</p> <p>500 µl der vorherigen Verdünnung + 750 µl Essigsäure anhydrid</p> <p>Verdünnungsfaktor: 375</p>	<p>0,2 ml Bronopol-Kathon-Lösung + 50 ml Urin</p> <p>5 ml Urin + 10 ml H₂SO₄ (0,1 mol/l)</p> <p>10 ml der vorherigen Verdünnung in 25 ml Ethyl - Acetat (Wird wieder auf 25 ml mit Ethyl - Acetat aufgefüllt)</p> <p>0,1 ml Eluat + 1,9 ml Ethyl-Acetat</p> <p>500 µl der vorherigen Verdünnung + 750 µl Essigsäure anhydrid</p> <p>Verdünnungsfaktor: 375</p>	<p>10 ml Urin + 40 ml H₂SO₄ (0,036 mol/l)</p> <p>5 ml Urin + 5 ml H₂SO₄ (0,1 mol/l)</p> <p>10 ml der vorherigen Verdünnung in 25 ml Ethyl - Acetat (Wird wieder auf 25 ml mit Ethyl - Acetat aufgefüllt)</p> <p>0,2 ml Eluat + 0,8 ml Ethyl-Acetat</p> <p>500 µl der vorherigen Verdünnung + 750 µl Essigsäure anhydrid</p> <p>Verdünnungsfaktor: 312,5</p>

3.3 Mathematisch statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte mit Statgraphics® Plus. Es wurden die einfaktorielle Varianzanalyse, ein Multipler Probenvergleich und der Multiple Test durchgeführt. Zur Bestimmung der Korrelation wurde der Maßkorrelationskoeffizient errechnet (mittels Statgraphics® Plus).

4 Ergebnisse

4.1 Konzentrationen der untersuchten Parameter im Harn

Die Übersicht über alle Einzelwerte in mmol/l ist im Anhang in Tabelle 21 zu sehen. Die Mittelwerte der Ergebnisse (g N/l) sind in Tabelle 7 dargestellt. Für den Stickstoff (N) ergibt sich ein Mittel von 6,70 g/l, bei einem Schwankungsbereich von 2,71 bis 11,66 g/l. Die Werte des Harnstoff-N haben eine Streubreite von 1,61 bis 7,65 g/l, bei einem Mittel von 4,52 g/l. Der Allantoin-N hat eine mittlere Höhe von 0,84 g/l, bei einer Spannweite von 0,20 bis 2,41 g/l. Es ergab sich für den Harnsäure-N ein Mittelwert von 0,08 g/l, bei einer Streuung von 0,02 bis 0,20 g/l. Für den Hippursäure-N wurde ein Mittel von 0,21 g/l berechnet. Die Werte schwanken im Bereich von 0,04 bis 1,35 g/l. Der Kreatinin-N hat einen Durchschnitt von 0,15 g/l, bei einer Spannweite von 0,02 bis 0,77 g/l.

Die Übersicht über die Stoffmengenkonzentrationen der analysierten Inhaltsstoffe sind in Tabelle 8 zu sehen. Für den Harnstoff ergab sich eine Stoffmengenkonzentration in Höhe von 161,33 mmol/l. Die Werte streuen im Bereich von 57,28 bis 273,06 mmol/l. Der Allantoingehalt schwankt von 3,54 bis 42,69 mmol/l, um ein Mittel von 14,98 mmol/l. Es ergab sich ein mittlerer Harnsäuregehalt von 1,37 mmol/l, bei einer Spannweite von 0,36 bis 3,51 mmol/l. Die Schwankungsbreite der Hippursäure umfasst die Werte von 2,73 bis 96,16 mmol/l, bei einem Mittel von 15,25 mmol/l. Für das Kreatinin ergab sich ein Mittel von 3,49 mmol/l, bei einer Streuung von 0,09 bis 18,39 mmol/l.

Die Anteile der Inhaltsstoffe am Gesamt-N sind in Tabelle 9 aufgelistet. Der Harnstoff bildet den größten Teil mit 67,50 % bei einer Streuung von 49,91 bis 87,08 %. Den nächst kleineren Anteil hat das Allantoin mit einem Mittel von 12,83 %, bei einer Schwankungsbreite von 3,74 bis 37,88 %. Die Harnsäure hat einen Anteil in Höhe von 1,19 %, bei einer Streuung von 0,36 bis 3,38 %. Es ergab sich bei der Hippursäure eine Spannweite von 0,55 bis 19,05 %, bei einem Mittel von 3,21 %. Der durchschnittliche Anteil des Kreatinins beträgt 2,17 %, bei einem Schwankungsbereich von 0,08 bis 12,95 %. Es ergibt sich im Mittel eine Summe für alle Anteile von 86,89 %, bei einer Streubreite von 65,83 bis 105,68 %.

Tabelle 7: Konzentrationen der untersuchten Inhaltsstoffe

	N ges [g/l]	Harnstoff-N [g/l]	Allantoin-N [g/l]	Harnsäure-N [g/l]	Hippursäure-N [g/l]	Kreatinin-N [g/l]
Eigene Ergebnisse (n=250)	6,70	4,52	0,84	0,08	0,21	0,15
Standardabweichung (SD)	(2,71 - 11,66)	(1,61 - 7,65)	(0,20 - 2,41)	(0,02 - 0,20)	(0,04 - 1,35)	(0,02 - 0,77)
	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19

Tabelle 8: Stoffmengenkonzentrationen der untersuchten Parameter

	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Hippursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
Eigene Ergebnisse (n=250)	161,33	14,98	1,37	15,25	3,49
SD	(57,28 - 273,06)	(3,54 - 42,69)	(0,36 - 3,51)	(2,73 - 96,16)	(0,09 - 18,39)
	42,55	6,76	0,56	10,35	1,80

Tabelle 9: Anteile der Inhaltsstoffe am Gesamt-Stickstoff

	Harnstoff-N [%]	Allantoin-N [%]	Harnsäure-N [%]	Hippursäure-N [%]	Kreatinin-N [%]	Summe-N [%]
Eigene Ergebnisse (n=250)	67,50	12,83	1,19	3,21	2,17	86,89
SD	(49,91 - 87,08)	(3,74 - 37,88)	(0,36 - 3,38)	(0,55 - 19,05)	(0,08 - 12,95)	(65,83 - 105,68)
	7,26	5,45	0,50	2,02	0,97	8,20

4.2 Einfluss der Tageszeit auf die Gehalte der Inhaltsstoffe

Die gesamten Einzelergebnisse wurden nach Morgen- (Early) und Abendproben (Late) aufgeteilt, unabhängig von der Fütterungsgruppe. In Tabelle 10 sind die Mittelwerte, Minimums- und Maximumswerte zu sehen.

Tabelle 10: Vergleich der Ergebnisse der Morgen- und Abendproben

	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hippursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
Early (Morgens) (n = 126)	15,91 (4,81 - 37,82)	1,27 (0,36 - 3,15)	17,18 (5,34 - 40,73)	15,54 (2,73 - 50,17)	4,15 (0,62 - 18,39)
SD	6,71	0,52	6,88	10,25	2,06
Late (Abends) (n = 124)	14,03 (3,54 - 42,69)	1,47 (0,36 - 3,51)	15,50 (4,14 - 44,00)	14,94 (4,13 - 96,16)	2,83 (0,09 - 6,98)
SD	6,71	0,59	6,87	10,48	1,17

Die Werte für das Allantoin sind in Abbildung 12 grafisch aufbereitet. Der morgendliche Mittelwert beträgt 15,91 mmol/l und der abendliche 14,03 mmol/l. Der Allantoingehalt schwankt im Morgenurin von 4,81 bis 37,82 mmol/l und der des Abendurins von 3,54 bis 42,69 mmol. Der Unterschied zwischen den Mittelwerten von Morgen und Abend hat eine Höhe von 1,88 mmol/l. Im Multiplen Test wurde ein statisch signifikanter Unterschied von Morgen- und Abendurin in Bezug auf den Allantoingehalt festgestellt, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

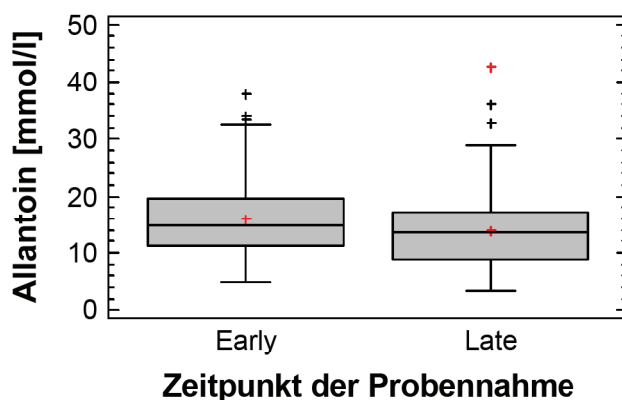


Abbildung 12: Box-Whisker-Plot für Allantoin aufgeteilt in Morgen- und Abendproben

In Abbildung 13 sind die Ergebnisse für Harnsäure grafisch dargestellt. Im Morgenurin war eine mittlere Harnsäurekonzentration von 1,27 mmol/l und im Abendurin von 1,47 mmol/l. Die Werte schwanken morgens von 0,36 bis 3,15 mmol/l und abends von 0,36 bis 3,51 mmol/l. Die Differenz der beiden Mittelwerte beträgt 0,20 mol/l. Es wurde ein statistisch signifikanter Unterschied für die Morgen- und Abendproben in Bezug auf den Gehalt an Harnsäure ermittelt, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

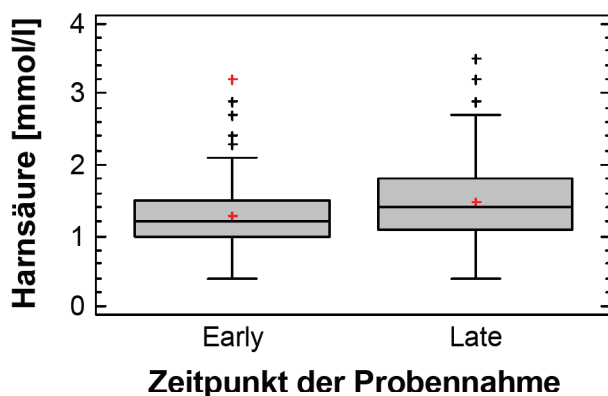


Abbildung 13: Box-Whisker-Plot für Harnsäure aufgeteilt in Morgen- und Abendproben

Die Verteilung der Werte für die Summe der Purinderivate (siehe Abbildung 14) unterscheidet sich von den Werten für Allantoin (siehe Abbildung 12) und Harnsäure (siehe Abbildung 13). Für die Summe der Purinderivate ergab sich für morgens im Mittel ein Wert von 17,18 mmol/l und abends von 15,50 mmol/l. Der Schwankungsbereich umfasst für Early die Werte von 5,34 bis 40,73 mmol/l und für Late von 4,14 bis 44,00 mmol/l. Es besteht eine Mittelwert-Differenz von 1,68 mmol/l. In der statistischen Auswertung konnte kein statistisch signifikanter Unterschied für die gesamten Purinderivate ermittelt werden (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

Der Morgenurin hatte im Mittel einen Hippursäuregehalt von 15,54 mmol/l. Die Konzentration hatte ein Ausmaß von 2,73 bis 50,17 mmol/l. Im Abendurin war der mittlere Gehalt 14,94 mmol/l, bei einem Schwankungsbereich von 4,13 bis 96,16 mmol/l. Der Mittelwert für die Hippursäure hat eine Differenz von 0,60 mmol/l. Die grafische Darstellung ist in Abbildung 15 zu sehen. Für die Unterscheidung zwischen Early und Late ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied für die Hippursäure bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

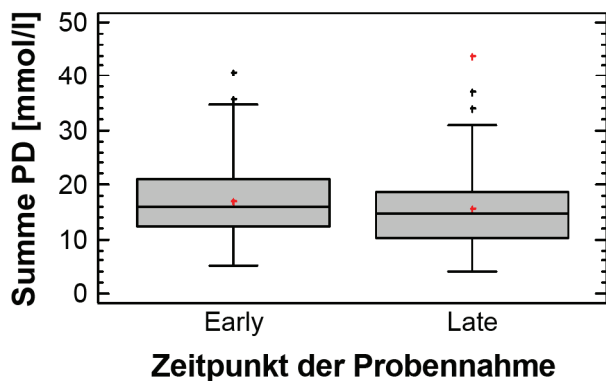


Abbildung 14: Box-Whisker-Plot für die PD aufgeteilt in Morgen- und Abendproben

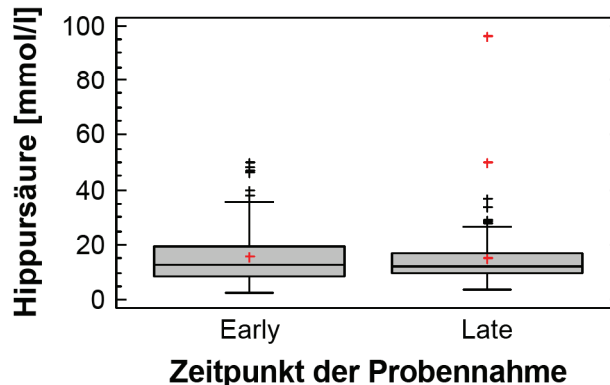


Abbildung 15: Box-Whisker-Plot für Hippursäure aufgeteilt in Morgen- und Abendproben

Die Kreatiningehalte in den Morgen- und Abendproben sind in Abbildung 16 zu sehen. Für die Early-Proben ergab sich ein Durchschnitt von 4,15 mmol/l, bei einer Streuung von 0,62 bis 18,39 mmol/l. Bei den Late-Proben schwanken die Werte in einen Bereich von 0,09 bis 6,98 mmol/l, um ein Mittel von 2,83 mmol/l. Die Mittelwertdifferenz beträgt 1,32 mmol/l. Es besteht ein statistisch signifikanter Unterschied bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

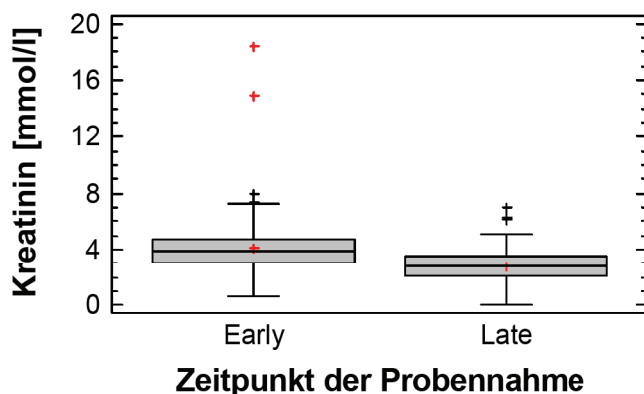


Abbildung 16: Box-Whisker-Plot für Kreatinin aufgeteilt in Morgen- und Abendproben

4.3 Einfluss der Ration auf die Gehalte der Inhaltsstoffe

Die Rationen unterscheidet nur die Silage. Ration 1 beinhaltet die Kontroll-Silage ohne Zusätze, Ration 2 verfügt über eine Silage mit homofermentativen Bakterien und der Silage von Ration 3 wurden Salze (Hexamin, Natriumnitrit, Natriumbenzoat und Natriumpropionat) zur Konservierung zugesetzt. Die Mittelwerte sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Vergleich der Ergebnisse in Bezug auf die Fütterung

	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hippursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
Ration 1^A (n = 84) SD	13,20 (3,54 - 34,09) 5,88	1,28 (0,36 - 2,91) 0,49	14,48 (4,14 - 35,58) 6,01	15,75 (2,96 - 96,16) 13,03	3,53 (1,59 - 18,39) 1,89
Ration 2^B (n = 83) SD	14,31 (4,68 - 32,38) 5,16	1,31 (0,48 - 3,51) 0,59	15,62 (5,33 - 34,17) 5,34	14,61 (2,73 - 50,17) 10,00	3,61 (0,09 - 14,94) 2,22
Ration 3^C (n = 83) SD	17,44 (4,81 - 42,69) 8,21	1,53 (0,54 - 3,15) 0,58	18,96 (5,96 - 44,00) 8,30	15,37 (4,19 - 35,55) 7,26	3,33 (0,62 - 6,28) 1,14

Die Mittelwerte für das Allantoin betragen für Ration 1^A 13,20 mmol/l, im Bereich von 3,54 bis 34,09 mmol/l, Ration 2^B 14,31 mmol/l, bei einer Schwankung von 4,68 bis 32,38 mmol/l und Ration 3^C 17,44 mmol/l, die von 4,81 bis 42,69 mmol/l streute. Der Mittelwert des Allantoin von Ration 1 und 2 unterscheiden sich um 1,11 mmol/l. Der Multiple Test ergab, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen Ration 1 und 2 in Bezug auf das Allantoin bestehen, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Bei Ration 1 und 3 hat der Allantoingehalt eine Differenz von 4,32 mmol/l. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Allantoingehalten dieser beiden Rationen (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Der Unterschied zwischen Ration 2 und 3 beträgt 3,13 mmol/l. Ration 2 und 3 sind statistisch signifikant unterschiedlich bezüglich des Allantoin (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die grafische Darstellung der Ergebnisse ist in Abbildung 17 zu sehen.

Der Mittelwert des Harnsäuregehaltes der Ration 1^A beträgt 1,28 mmol/l und der Ration 2^B 1,31 mmol/l. Die Werte für Ration 1 streuen von 0,36 bis 2,91 mmol/l und die für Ration 2 von 0,48 bis 3,51 mmol/l. Ration 3^C hat einen Mittelwert von 1,53 mmol/l, bei einem Schwankungsbereich von 0,54 bis 3,15 mmol/l. Zwischen Ration 1 und 2 gibt es eine Differenz beim Mittelwert in Höhe von 0,03 mmol/l. Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied in Bezug auf die Menge an Harnsäure für Ration 1 und 2, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Der Unterschied der Mittelwerte zwischen Ration 1 und 3 für die Harnsäure beträgt 0,25 mmol/l und Ration 2 und 3 0,22 mmol/l. Es bestehen statistisch signifikante Unterschiede zwischen Ration 1 und 3, sowie Ration 2 und 3 bezüglich der Harnsäure (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die Verteilung der Werte ist in Abbildung 18 dargestellt.

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

^B Ration 2 enthält Silage, welche homofermentativen Bakterien versetzt wurde

^C Ration 3 enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

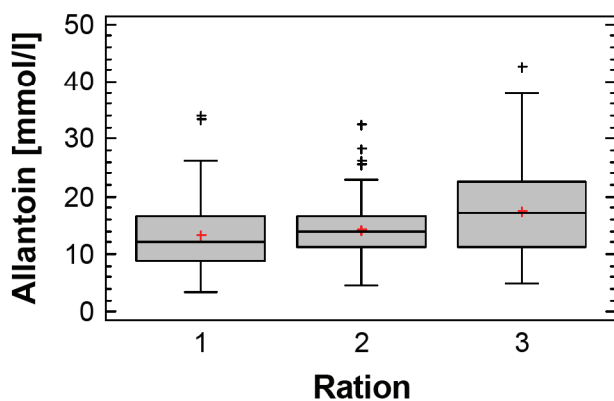


Abbildung 17: Box-Whisker-Plot für Allantoin in Abhängigkeit zur Ration

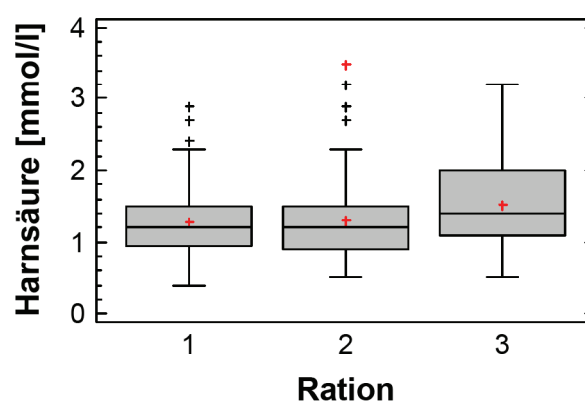


Abbildung 18: Box-Whisker-Plot für Harnsäure in Abhängigkeit zur Ration

Für die Werte der gesamten Purinderivate stellt sich die Verteilung (siehe Abbildung 19) ähnlich dar, wie die für Allantoin (siehe Abbildung 17) und Harnsäure (siehe Abbildung 18). Bei Ration 1^A schwanken die Werte im Bereich von 4,14 bis 35,58 mmol/l um den Mittelwert in Höhe von 14,48 mmol/l. Bei Ration 2^B beträgt der mittlere Gehalt an Purinderivaten 15,62 mmol/l, bei einem Schwankungsbereich von 5,33 bis 34,17 mmol/l. Der Mittelwert der Purinderivate der Ration 3^C umfasst 18,96 mmol/l, bei einem Streuungsumfang von 5,96 bis 44,00 mmol/l. Zwischen Ration 1 und 2 besteht eine Differenz in Höhe von 1,14 mmol/l. Der Unterschied ist nicht statistisch signifikant für die Purinderivate der Ration 1 und 2 (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die Mittelwertdifferenz von Ration 1 und 3 beträgt 4,48 mmol/l. Für die Werte der Summe der Purinderivate von Ration 1 und 2 bestehen statistisch signifikante Unterschiede (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Ration 2 und 3 unterscheiden sich im Mittelwert um 3,34 mmol/l. Die statistische Auswertung ergab, dass die Werte für die gesamten Purinderivate der Ration 2 und 3 statistisch signifikant unterschiedlich sind (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

In Abbildung 20 sind die Werte der Hippursäure grafisch aufbereitet. Die Werte der Ration 1^A für die Hippursäure streuen von 2,96 bis 96,16 mmol/l, bei einem Mittel von 15,75 mmol/l. Der mittlere Gehalt an Hippursäure beträgt für Ration 2^B 14,61 mmol/l, bei einem Schwankungsbereich von 2,73 bis 50,17 mmol/l. Ration 3^C hat im Mittel einen Hippursäuregehalt von 15,37 mmol/l, im Bereich von 4,19 bis 35,55 mmol/l. Die Mittelwertdifferenz zwischen Ration 1 und 2 für Hippursäure beträgt 1,14 mmol/l. Bei Ration 1 und 3 besteht eine Differenz in Höhe von 0,38 mmol/l und zwischen Ration 2 und 3 sind es 0,76 mmol/l. Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied für die Werte der Hippursäure aller vorgenannten Kombinationen der Rationen (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

^B Ration 2 enthält Silage, welche homofermentativen Bakterien versetzt wurde

^C Ration 3 enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

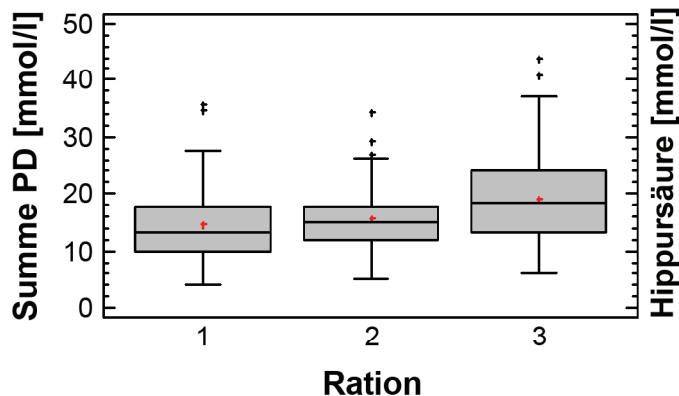


Abbildung 19: Box-Whisker-Plot für die Purinderivate in Abhängigkeit zur Ration

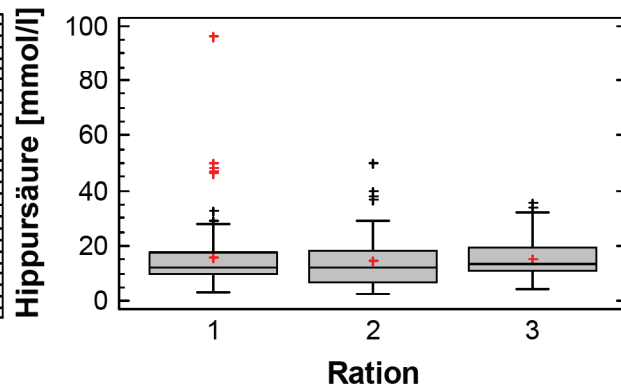


Abbildung 20: Box-Whisker-Plot für Hippursäure in Abhängigkeit zur Ration

Für den Kreatiningehalt der Ration 1^A wurde ein Mittel von 3,53 mmol/l festgestellt, bei Ration 2^B in Höhe von 3,61 mmol/l und bei Ration 3^C beträgt der Durchschnitt 3,33 mmol/l. Die Ergebnisse von Ration 1 streuen von 1,59 bis 18,39 mmol/l. Bei Ration 2 ergibt sich eine Schwankung von 0,09 bis 14,94 mmol/l und für Ration 3 erstrecken sich die Werte von 0,62 bis 6,28 mmol/l. Die Mittelwertdifferenz zwischen Ration 1 und 2 beträgt 0,08 mmol/l. Für Ration 1 und 3 ist der Unterschied 0,20 mmol/l und die Mittel von Ration 2 und 3 differieren um 0,28 mmol/l. Es konnte für alle vorgenannten Kombinationen der Rationen für Kreatinin kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die grafische Darstellung der Werte ist in zu Abbildung 21 sehen.

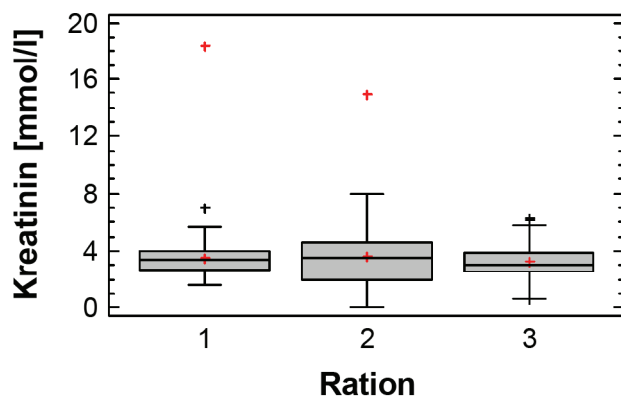


Abbildung 21: Box-Whisker-Plot für Kreatinin in Abhängigkeit zur Ration

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

^B Ration 2 enthält Silage, welche homofermentativen Bakterien versetzt wurde

^C Ration 3 enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

4.4 Einfluss der Tageszeit innerhalb der Rationen auf die Gehalte der Inhaltsstoffe

Um den Einfluss der Fütterung auf die Ausscheidungshöhe der Purinderivate und der Hippursäure zu verdeutlichen wurden die Inhaltsstoffe nach Ration und Early bzw. Late aufgeschlüsselt. Zudem sichert oder widerlegt dies die Ergebnisse des Vergleichs von Morgen- und Abendurin. Denn nur wenn keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen morgendlicher und abendlicher Ausscheidungshöhe vorhanden sind, ist die Nutzung von Spotproben möglich. Eine Übersicht der errechneten Mittelwerte und dem zugehörigen Streubereich aus den Einzelergebnissen ist in Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Inhaltsstoffe aufgeteilt in Morgen- und Abendurin innerhalb der Fütterungsgruppen

	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hippursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
Ration 1^A	15,40	1,26	16,65	16,93	3,87
Early (n = 42)	(4,81 - 34,09)	(0,36 - 2,91)	(5,34 - 35,58)	(2,96 - 50,01)	(1,59 - 18,39)
SD	6,47	0,47	6,64	12,07	2,45
Ration 1^A	11,01	1,31	12,31	14,57	3,18
Late (n = 42)	(3,54 - 20,62)	(0,36 - 2,74)	(4,14 - 22,52)	(4,13 - 96,16)	(1,59 - 6,98)
SD	4,27	0,52	4,41	13,97	0,98
Ration 2^B	15,02	1,07	16,09	14,82	5,19
Early (n = 42)	(8,22 - 32,38)	(0,54 - 2,02)	(9,65 - 34,17)	(2,73 - 50,17)	(2,92 - 14,94)
SD	5,66	0,33	5,75	11,07	1,93
Ration 2^B	13,59	1,55	15,14	14,39	2,00
Late (n = 41)	(4,68 - 22,89)	(0,48 - 3,51)	(5,33 - 26,11)	(5,02 - 49,84)	(0,09 - 4,33)
SD	4,55	0,69	4,92	8,90	1,01
Ration 3^C	17,31	1,50	18,81	14,89	3,37
Early (n = 42)	(5,00 - 37,82)	(0,65 - 3,15)	(5,96 - 40,73)	(4,19 - 35,55)	(0,62 - 5,83)
SD	7,76	0,63	7,94	7,01	1,19
Ration 3^C	17,57	1,56	19,13	15,88	3,28
Late (n = 41)	(4,81 - 42,69)	(0,54 - 2,91)	(6,24 - 44,00)	(5,69 - 33,93)	(0,71 - 6,28)
SD	8,74	0,53	8,76	7,56	1,09

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

^B Ration 2 enthält Silage, welche mit homofermentativen Bakterien versetzt wurde

^C Ration 3 enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

Die Ergebnisse für das Allantoin der Ration 1^A aufgeteilt in Morgen- und Abendproben ist in Abbildung 22 zu sehen. Der morgendliche Mittelwert für die Ration 1 beträgt 15,40 mmol/l, die Werte streuen von 4,81 bis 34,09 mmol/l. Die Abendproben haben ein Mittel von 11,01 mmol/l, bei einem Schwankungsbereich von 3,54 bis 20,62 mmol/l. Die Differenz der beiden Mittelwerte beträgt 4,39 mmol/l. Die statistische Auswertung ergab einen statistisch signifikanten Unterschied für die Allantoingehalte des Morgen- und des Abendurins der Ration 1, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

Für Allantoin der Ration 2^B des Morgenurins ergab sich ein Mittelwert in Höhe von 15,02 mmol/l. Die Morgenwerte streuten von 8,22 bis 32,38 mmol/l. Der Abendurin hat einen Schwankungsbereich von 4,68 bis 22,89 mmol/l, bei einem Mittel von 13,59 mmol/l. Es besteht eine Mittelwertdifferenz von 1,43 mmol/l. Im Multiplen Test ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede für die Morgen- und Abendproben des Allantoins der Ration 2^B, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Die Verteilung der Ergebnisse ist in Abbildung 23 grafisch dargestellt.

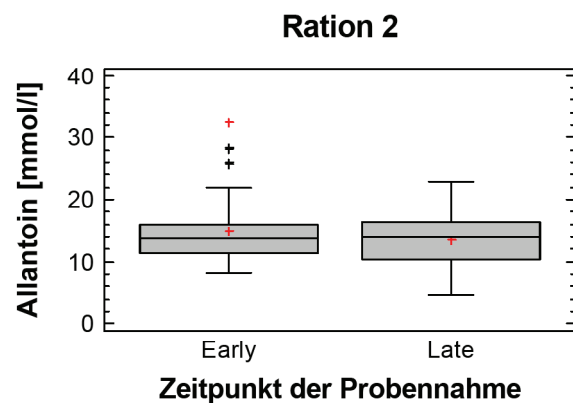
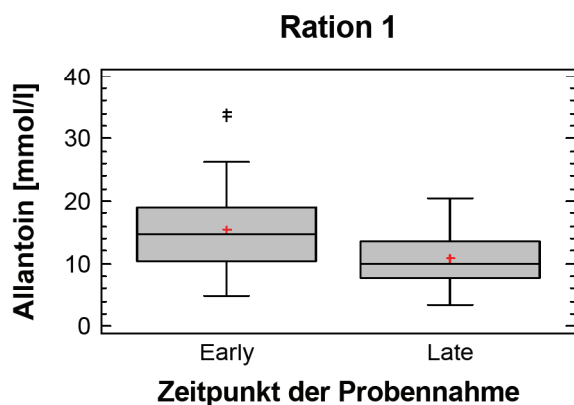


Abbildung 22: Box-Whisker-Plot für Allantoin der Ration 1 aufgeteilt in Early und Late

Abbildung 23: Box-Whisker-Plot für Allantoin der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late

Eine homogene Verteilung der Werte des Allantoins in Bezug auf den Zeitpunkt der Probenahme der Ration 3^C ist in Abbildung 24 zu sehen. Der morgendliche Mittelwert des Allantoins beträgt 17,31 mmol/l und der abendliche 17,57 mmol/l. Die Werte umfassen für den Morgenurin der Ration 3 einen Bereich von 5,00 bis 37,82 mmol/l und für den Abendurin erstrecken sich die Werte von 4,81 bis 42,69 mmol/l. Es besteht eine Differenz zwischen den beiden Mittelwerten von 0,26 mmol/l. Die Proben von morgens und abends der Ration 3^C sind für den Allantoingehalt statistisch nicht signifikant unterschiedlich, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

^B Ration 2 enthält Silage, welche mit homofermentativen Bakterien versetzt wurde

^C Ration 3 enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

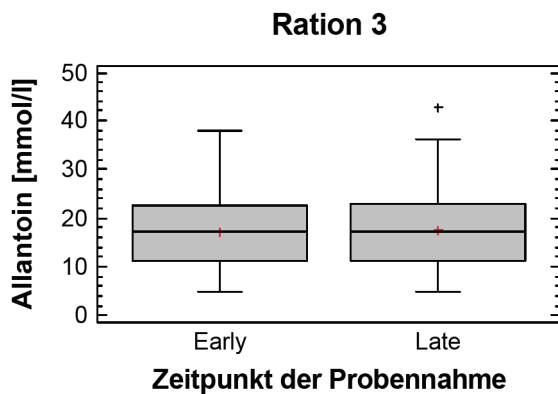


Abbildung 24: Box-Whisker-Plot für Allantoin der Ration 3 aufgeteilt in Early und Late

Die Aufteilung der Harnsäurewerte bei Verfütterung der Ration 1^A, aufgeteilt in Early und Late ist in Abbildung 25 dargestellt. Es wurde ein Mittelwert von 1,26 mmol/l für den Gehalt der Harnsäure im Morgenurin und 1,31 mmol/l im Abendurin festgestellt. Die Schwankungsbereiche betragen, für Early 0,36 bis 2,91 mmol/l und für Late 0,36 bis 2,74 mmol/l. Die Mittelwertdifferenz ist mit 0,05 mmol/l gering. Die statistische Auswertung ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

Die Ergebnisse der Harnsäure der Ration 2^B in Bezug auf Early und Late sind in Abbildung 26 zu sehen. Für die Morgenproben ergab sich ein Mittelwert von 1,07 mmol/l, bei einem Streuungsbereich von 0,54 bis 2,02 mmol/l. Die Abendproben haben ein Mittel in Höhe von 1,55 mmol/l, die Werte erstreckten sich von 0,48 bis 3,51 mmol/l. Zwischen den Mittelwerten besteht eine Differenz von 0,48 mmol/l. Es besteht ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Harnsäuregehalten des Morgen- und Abendurins der Ration 2B (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

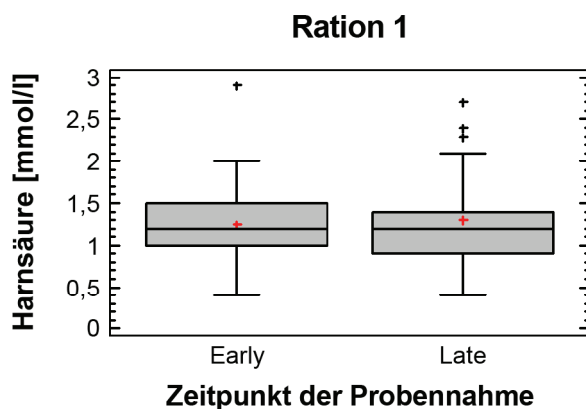


Abbildung 25: Box-Whisker-Plot für Harnsäure der Ration 1 aufgeteilt in Early und Late

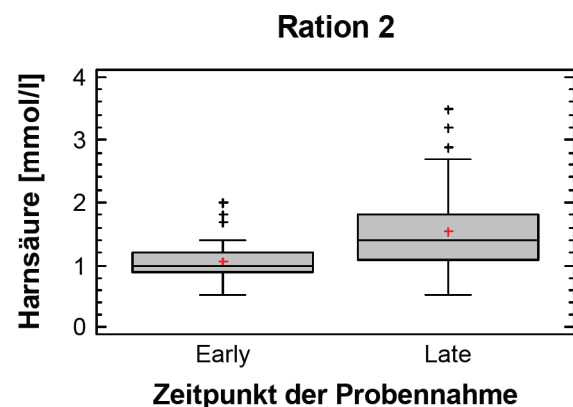


Abbildung 26: Box-Whisker-Plot für Harnsäure der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

^B Ration 2 enthält Silage, welche mit homofermentativen Bakterien versetzt wurde

In Abbildung 27 ist die Verteilung der Harnsäuregehalte der Ration 3^C bezüglich des Zeitpunkts der Probennahme grafisch dargestellt. Es ergab sich für Early ein Mittelwert von 1,50 mmol/l und für Late von 1,56 mmol/l. Die Werte schwanken bei den Morgenproben im Bereich von 0,65 bis 3,15 mmol/l und für die Abendproben in einem Umfang von 0,54 bis 2,91 mmol/l. Es besteht eine Mittelwertdifferenz in Höhe von 0,06 mmol/l. Die statistische Auswertung konnte keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Harnsäuregehalten des Morgen- und Abendurins der Ration 3^C feststellen, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

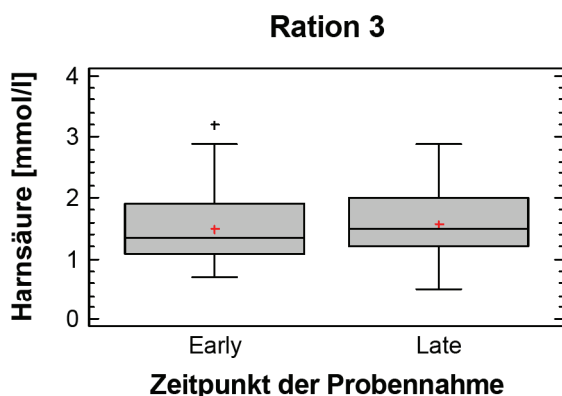


Abbildung 27: Box-Whisker-Plot für Harnsäure der Ration 3 aufgeteilt in Early und Late

Die Verteilung der Werte der Summe der Purinderivate für Ration 1^A (siehe Abbildung 28) verhält sich ähnlich der Werte-Verteilung des Allantoins für Ration 1^A (siehe Abbildung 22). Für die Gehalte an Harnsäure (siehe Abbildung 25) der Ration 1 trifft dies nicht zu. Der Mittelwert für Early ist 16,65 mmol/l und streut im Bereich von 5,34 bis 35,58 mmol/l. Das Mittel der Late-Proben beträgt 12,31 mmol/l und schwankt von 4,14 bis 22,52 mmol/l. Es besteht eine Differenz zwischen beiden Mittelwerten in Höhe von 4,34 mmol/l. Die Gehalte der Purinderivate der Morgen- und Abendproben für Ration 1^A sind statistisch signifikant unterschiedlich (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

Die Abbildung 29 zeigt die Streuung der Ergebnisse der Purinderivate der Ration 2^B. Diese stellt sich anders dar, als die des Allantoins (siehe Abbildung 23) und der Harnsäure (siehe Abbildung 26) der Ration 2^B. Es ergaben sich für den Morgenurin ein Mittelwert von 16,09 mmol/l und für den Abendurin von 15,14 mmol/l. Die Purinderivate der Morgenproben streuen von 9,65 bis 34,17 mmol/l und für die Abendproben von 5,33 bis 26,11 mmol/l. Die Differenz der Mittelwerte beträgt 0,95 mmol/l. Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied ermittelt werden (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

^C enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

^B Ration 2 enthält Silage, welche mit homofermentativen Bakterien versetzt wurde

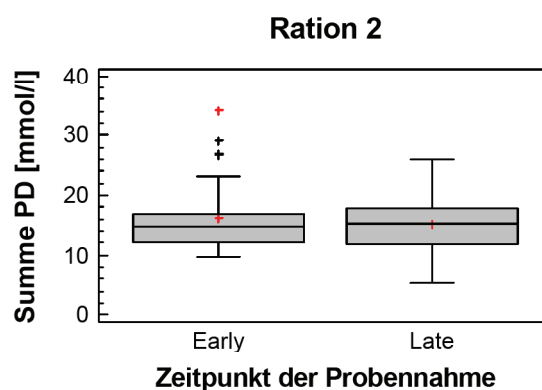
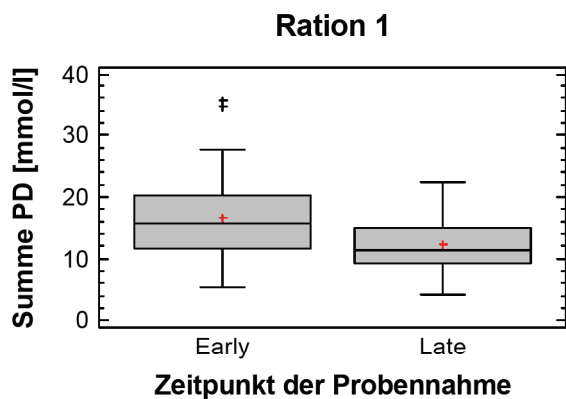


Abbildung 28: Box-Whisker-Plot für die PD der Ration 1 aufgeteilt in Early und Late **Abbildung 29: Box-Whisker-Plot für die PD der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late**

Die Ergebnisse der Summe der Purinderivate der Ration 3^C in Bezug auf die Morgen- und Abendproben sind in Abbildung 30 zu sehen. Es schwanken die Early-Werte von 5,96 bis 40,73 mmol/l um ein Mittel von 18,81 mmol/l. Für die Late-Ergebnisse stellt sich dies ähnlich dar. Hier umfasst der Streubereich die Werte von 6,24 bis 44,00 mmol/l, bei einem Durchschnitt von 19,13 mmol/l. Die Mittelwerte unterscheiden sich um 0,32 mmol/l. Mittels Multiplem Test konnte kein statistisch signifikanter Unterschied gefunden werden für den Gehalt an Purinderivaten der Ration 3^C zwischen den Morgen- und Abendproben (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

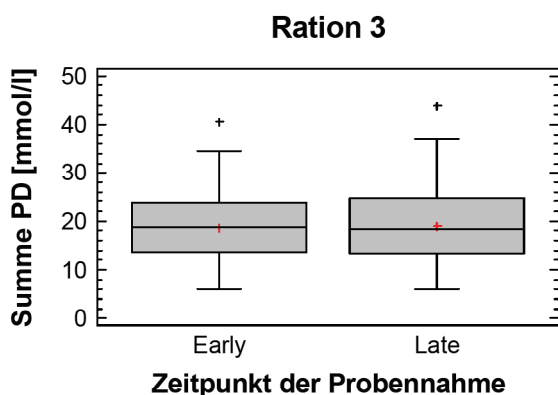


Abbildung 30: Box-Whisker-Plot für die PD der Ration 3 aufgeteilt in Early und Late

Die Hippursäuregehalte der Early- und Late-Proben der Ration 1^A sind in Abbildung 31 grafisch dargestellt. Es ergab sich für den Morgenurin ein Mittelwert von 16,93 mmol/l, bei einer Streuung von 2,96 bis 50,01 mmol/l. Der Abendurin kam auf ein Mittel von 14,57 mmol/l. Die Werte streuten von 4,13 bis 96,16 mmol/l. Die Mittelwertdifferenz beträgt 2,36 mmol/l. Die Ergebnisse der Hippursäure sind für Early und Late der Ration 1^A nicht statistisch signifikant unterschiedlich, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

^C Ration 3 enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

Die grafische Aufbereitung der Ergebnisse der Hippursäuregehalte der Morgen- und Abendproben der Ration 2^B ist in Abbildung 32 dargestellt. Es ergaben sich für Early ein Mittel in Höhe von 14,82 mmol/l und für Late von 14,39 mmol/l. Die Gehalte des Morgenurins schwanken von 2,73 bis 50,17 mmol/l und die des Abendurins von 5,02 bis 49,84 mmol/l. Es ergibt sich daraus eine Differenz im Mittel von 0,43 mmol/l. Dieser Unterschied für die Hippursäuregehalte der Morgen- und Abendproben von Ration 2 ist nicht statistisch signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

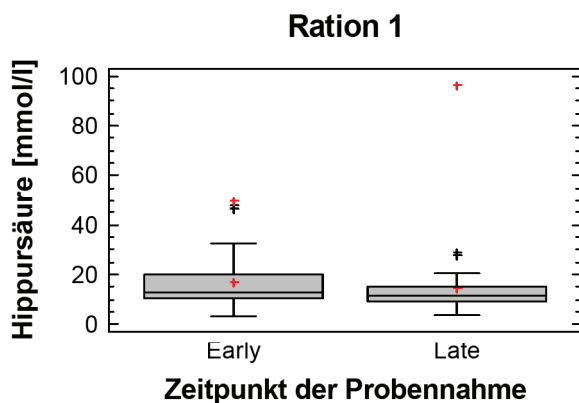


Abbildung 31: Box-Whisker-Plot für Hippursäure der Ration 1 aufgeteilt in Early und Late

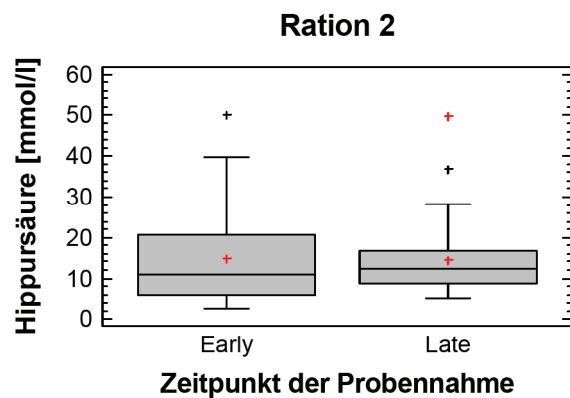


Abbildung 32: Box-Whisker-Plot für Hippursäure der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late

Die Gehalte der Hippursäure aufgeteilt in Early und Late für Ration 3^C ist in Abbildung 33 dargestellt. Im Morgenurin wurde ein Mittel in Höhe von 14,89 mmol/l ermittelt, bei einem Schwankungsbereich von 4,19 bis 35,55 mmol/l. Der Abendurin hat einen durchschnittlichen Hippursäuregehalt von 15,88 mmol/l, bei einer Streuung von 5,69 bis 33,93 mmol/l. Es besteht eine Differenz der Mittelwerte von 0,99 mmol/l. Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gehalten an Hippursäure des Morgen- und Abendurins der Ration 3^C festgestellt werden (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

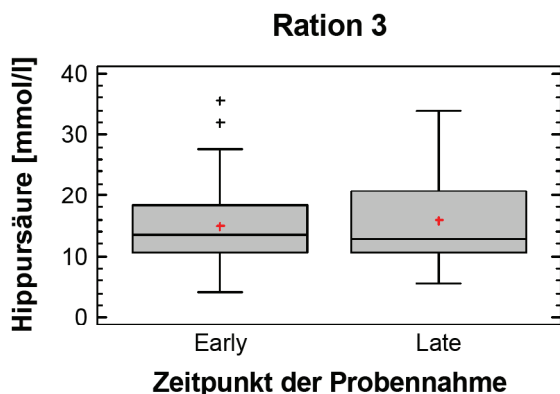


Abbildung 33: Box-Whisker-Plot für Hippursäure der Ration 3 aufgeteilt in Early und Late

^B Ration 2 enthält Silage, welche mit homofermentativen Bakterien versetzt wurde

^C Ration 3 enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

In den Morgenproben der Ration 1^A ergab sich für den Kreatiningehalt ein Mittelwert von 3,87 mmol/l. Die Werte umfassen einen Bereich von 1,59 bis 18,39 mmol/l. Für Ration 1^A hatten die Abendproben einen durchschnittlichen Kreatiningehalt von 3,18 mmol/l. Es ergibt sich ein Schwankungsbereich von 1,59 bis 6,98 mmol/l. Die Mittelwertdifferenz beträgt 0,69 mmol/l. Die statistische Auswertung ergab, dass zwischen den Morgen- und Abendproben für die Gehalte des Kreatinins der Ration 1^A kein statistisch signifikanter Unterschied besteht (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die grafische Darstellung der Werteverteilung ist in Abbildung 34 zu sehen.

Der Morgenurin der Ration 2^B hat einen durchschnittlichen Kreatiningehalt von 5,19 mmol/l, bei einer Streuung der Werte von 2,92 bis 14,94 mmol/l. Im Abendurin wurde im Mittel ein Gehalt von 2,00 mmol/l Kreatinin ermittelt, bei einem Schwankungsbereich von 0,09 bis 4,33 mmol/l. Daraus ergibt sich ein Unterschied bei den Mittelwerten von 0,69 mmol/l. Die Gehalte an Kreatinin der Morgen- und Abendproben sind statistisch signifikant unterschiedlich. Die grafische Darstellung der Werte ist in Abbildung 35 gezeigt.

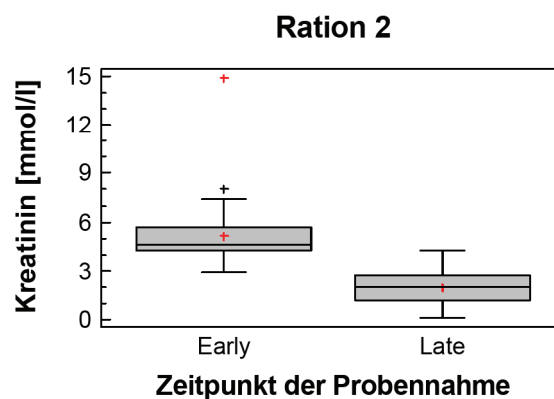
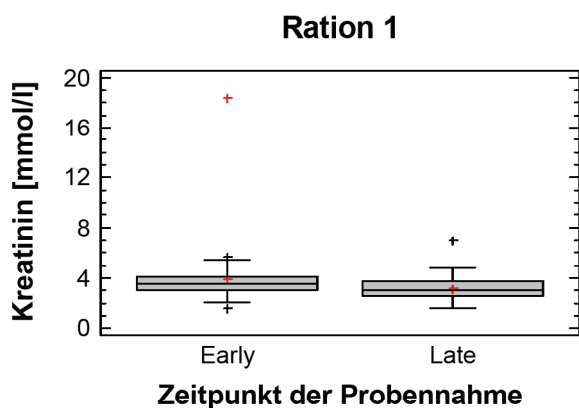


Abbildung 34: Box-Whisker-Plot für Kreatinin der Ration 1 aufgeteilt in Early- und Late

Abbildung 35: Box-Whisker-Plot für Kreatinin der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late

Die grafische Aufbereitung des Kreatiningehaltes aufgeteilt in Morgen- und Abendproben der Ration 3^C ist in Abbildung 36 dargestellt. Für den Morgenurin ergab sich ein Mittel von 3,37 mmol/l und für den Abendurin von 3,28 mmol/l. Der Kreatiningehalt schwankt morgens von 0,62 bis 5,83 mmol/l und abends von 0,71 bis 6,28 mmol/l. Es ergibt sich eine Differenz des Mittelwertes in Höhe von 0,09 mmol/l. Es besteht zwischen den Gehalten an Kreatinin der Morgen- und Abendproben der Ration 3^C kein statistisch signifikanter Unterschied, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

^A Ration 1 enthält die unbehandelte Kontrollsilage

^B Ration 2 enthält Silage, welche mit homofermentativen Bakterien versetzt wurde

^C Ration 3 enthält Silage, welche mit Salzen versetzt wurde

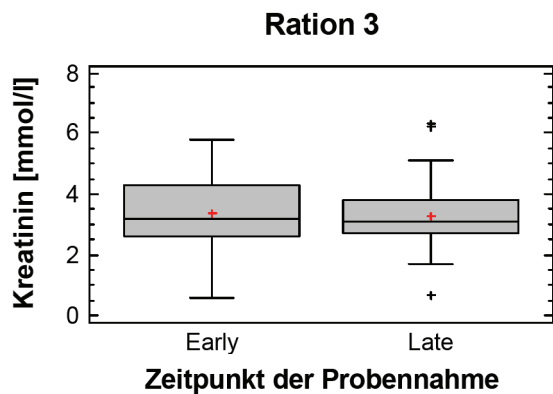


Abbildung 36: Box-Whisker-Plot für Kreatinin der Ration 3 aufgeteilt in Morgen- und Abendproben

4.5 Einfluss des Konservierungsmittels auf die Gehalte der Inhaltsstoffe

Bei den mit Bronopol-Kathon-Lösung konservierten Proben zeigten aufgrund der blauen Farbe des Konservierungsmittels eine Grün-Färbung (siehe Abbildung 37). Es kam am Tag 2 zu makroskopischen Beeinträchtigungen in Form von Flockenbildung in 5 von 10 Proben. Die Flockenbildung änderte sich bis einschließlich Tag 5 nicht. Es waren am 5. Tag eine leichte Beeinträchtigung der Farbe und leichte Geruchsveränderungen feststellbar. Zur Vereinfachung wird in nachfolgenden Text nur noch von Bronopol gesprochen, gemeint ist die Bronopol-Kathon-Lösung.

Die Proben, welche mit Schwefelssäure versetzt wurden, hatten eine natürliche, leichte Gelb-Färbung (siehe Abbildung 38). Hier waren bei 4 von 10 Proben Flockenbildung zu beobachten. Es traten am Tag 5 erste Geruchsveränderungen auf.



Abbildung 37: Färbung der mit Bronopol-Kathon-Lösung konservierten Proben



Abbildung 38: Färbung der mit Schwefelssäure konservierten Proben

Die Harnsäuremessung wird bei 546 nm durchgeführt. Das grüne Farbspektrum umfasst den Bereich von 490 nm bis 570 nm (ERBRECHT et al., 1999). Um auszuschließen, dass die Färbung die Harnsäuremessung am Spektrometer beeinflusst, musste eine Harnsäurestammlösung hergestellt werden. Dies erfolgte wie in Kapitel 3.2.4 für Allantoin beschrieben.

Aus dieser Stammlösung wurden 2 Standards mit unterschiedlicher Konzentration hergestellt. Es erfolgten zwei Messungen der Standards und 2 Messungen zweier bekannter Urinproben, welche mit Harnsäurestandard versetzt waren. Die Messungen ergaben, dass der Farbstoff die Bestimmung der Harnsäure am Spektrometer nicht negativ beeinflusst.

In den Proben für den Vergleich der Eignung der Konservierungsmittel wurden nur die Gehalte an Allantoin, Harn- und Hippursäure ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 13 dargestellt. Am Probennahmetag (Tag 1) erfolgte die erste und einzige Messung der unkonservierten Proben. Alle Einzelwerte des Konservierungsmittelvergleichs sind im Anhang in Tabelle 18 bis Tabelle 20 zu sehen.

Tabelle 13: Inhaltsstoffe in Abhängigkeit zum Konservierungsmittel und Probentransport

	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Hippursäure [mmol/l]
Unkonserviert (Tag 1) SD	30,69 (17,79 - 60,08) 13,15	0,60 (17,79 - 60,08) 0,34	26,95 (13,97 - 57,89) 12,62
Bronopol (Tag 1) SD	20,72 (10,66 - 50,42) 12,88	1,40 (0,71 - 2,21) 0,44	21,28 (11,14 - 47,07) 10,53
Schwefelsäure (Tag 1) SD	15,07 (1,29 - 41,68) 13,33	0,99 (0,04 - 2,75) 0,77	25,18 (11,12 - 52,58) 12,48
Bronopol (Tag 3) SD	13,70 (5,98 - 28,17) 6,15	1,51 (0,70 - 2,24) 0,44	16,76 (11,17 - 26,73) 4,95
Schwefelsäure (Tag 3) SD	17,91 (12,49 - 28,63) 5,67	1,35 (0,75 - 2,32) 0,49	20,35 (12,94 - 32,53) 7,03
Bronopol (Tag 5) SD	9,76 (4,81 - 17,48) 4,59	1,48 (0,67 - 2,35) 0,45	11,89 (4,40 - 32,74) 8,49
Schwefelsäure (Tag 5) SD	5,15 (4,00 - 7,10) 1,08	1,55 (0,75 - 2,52) 0,52	12,47 (5,62 - 25,99) 6,53

In den unkonservierten Proben wurde im Mittel ein Allantoingehalt in Höhe von 30,69 mmol/l, bei einer Streuung von 17,79 bis 60,08 mmol/l. Für Bronopol ergab sich ein Durchschnitt von

20,72 mmol/l. Die dazugehörigen Allantoinwerte streuen im Bereich von 10,66 bis 50,42 mmol/l. Der mittlere Allantoingehalt für die Schwefelsäure (H_2SO_4) hat eine Höhe von 15,07 mmol/l, bei einer Schwankung von 1,29 bis 41,68 mmol/l. Es ergeben sich folgende Mittelwertdifferenzen zwischen Pur-Bronopol von 9,97 mmol/l, Pur- H_2SO_4 von 15,62 mmol/l und Bronopol- H_2SO_4 von 5,65 mmol/l. Die Differenzen zwischen Pur-Bronopol und Bronopol-Schwefelsäure sind nicht statistisch signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Für Pur-Schwefelsäure besteht ein statistisch signifikanter Unterschied, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Die Verteilung der Werte ist in Abbildung 39 zu sehen.

Am 3. Tag nach der Probennahme wurde für die Bronopolproben eine Schwankung von 5,98 bis 28,17 mmol/l festgestellt, bei einem Mittel von 13,70 mmol/l. In den mit H_2SO_4 konservierten Proben ergab sich ein mittlerer Allantoingehalt von 17,91 mmol/l, bei einer Streuung der Werte von 12,49 bis 28,63 mmol/l. Daraus ergeben sich folgende Mittelwertdifferenzen für Pur-Bronopol von 16,99 mmol/l, Pur-Schwefelsäure 12,78 mmol/l und Bronopol- H_2SO_4 von 4,21 mmol/l. Die Unterschiede von Pur-Bronopol und Pur- H_2SO_4 sind statistisch signifikant, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Für Bronopol-Schwefelsäure besteht kein statistisch signifikanter Unterschied (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die grafische Darstellung der Ergebnisse ist in Abbildung 40 gezeigt.

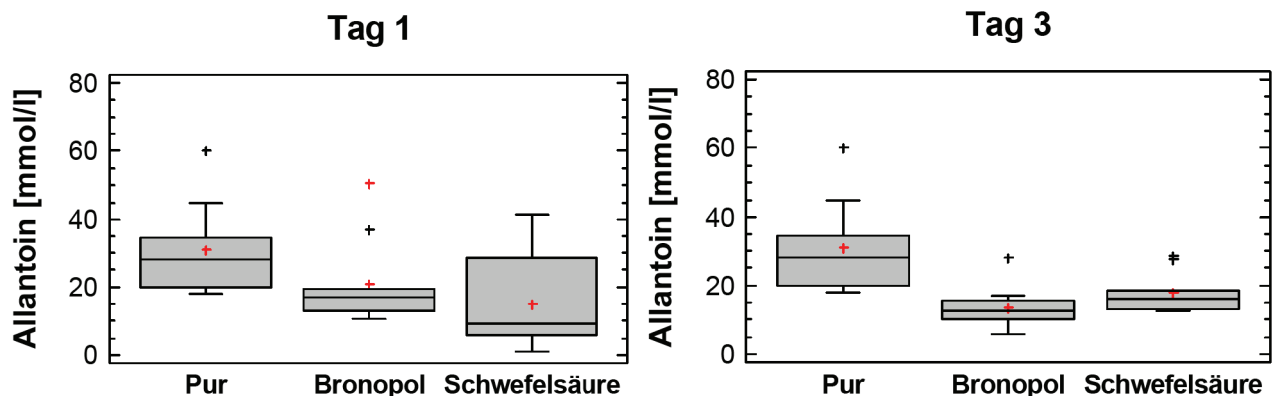


Abbildung 39: Box-Whisker-Plot der Allantoinmessung am Tag der Probennahme

Abbildung 40: Box-Whisker-Plot der Allantoinmessung 3 Tage nach Probennahme

Die Messung des Allantoingehaltes ergab am Tag 5 für Bronopol ein Mittel von 9,76 mmol/l und für Schwefelsäure von 5,15 mmol/l. Für die Bronopolproben schwanken die Werte von 4,81 bis 17,48 mmol/l und für die mit Schwefel konservierten Proben streuen die Ergebnisse von 4,00 bis 7,10 mmol/l. Es ergibt sich für Pur-Bronopol eine Mittelwertdifferenz von 20,93 mmol/l und zwischen Pur- H_2SO_4 von 25,54 mmol/l und innerhalb Bronopol- H_2SO_4 in Höhe von 4,61 mmol/l. Wie am Tag 3 sind die Differenzen zwischen Pur-Bronopol und Pur- H_2SO_4 statistisch signifikant unterschiedlich, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Der Unterschied von Bronopol und H_2SO_4 ist nicht statistisch signifikant, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Abbildung 41 zeigt die Verteilung der Werte für Allantoin am Tag 5.

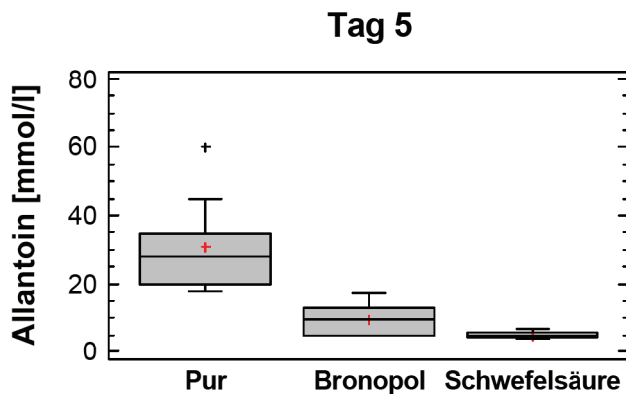


Abbildung 41: Box-Whisker-Plot der Allantoinmessung 5 Tage nach Probennahme

Die Ergebnisse der Harnsäuremessung des Tag 1 ist in Abbildung 42 dargestellt. Für die reinen Urinproben ergab sich für die Harnsäure ein Mittelwert von 0,60 mmol/l, bei einer Schwankung von 17,79 bis 60,08 mmol/l. Die mit Bronopol versetzten Proben hatten am Probennahmetag (Tag 1) ein Mittel von 1,40 mmol/l, bei einer Streuung von 0,71 bis 2,21 mmol/l. Bei den mit Schwefelsäure konserviertem Urin schwankten die Werte von 0,04 bis 2,75 mmol/l, um ein Mittel in Höhe von 0,99 mmol/l. Zwischen den reinen Proben und den Bronopolproben besteht eine Mittelwertdifferenz von 0,81 mmol/l. Vergleicht man die reinen mit den schwefelhaltigen Proben kommt man auf einen Unterschied in Höhe von 0,39 mmol/l und zwischen beiden mit Konservierungsmittel versetzten Urinproben besteht eine Differenz von 0,41 mmol/l. In der statistischen Auswertung konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den unkonservierten und den mit Bronopol versetzten Proben festgestellt werden (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Der Vergleich von Pur und H₂SO₄ sowie von Bronopol und H₂SO₄ zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

Die Messung der Harnsäure 3 Tage nach der Probennahme ergab für Bronopol ein Mittel von 1,51 mmol/l, bei einer Schwankung von 0,70 bis 2,24 mmol/l. Am Tag 3 umfassten die Ergebnisse der Schwefelsäure-Proben einen Bereich von 0,75 bis 2,32 mmol/l, bei einem Mittelwert von 1,35 mmol/l. Es ergeben sich folgende mittlere Differenzen: bei Pur und Bronopol von 0,91 mmol/l, zwischen Pur und H₂SO₄ von 0,75 mmol/l und beim Vergleich von Bronopol und H₂SO₄ von 0,16 mmol/l. Es bestehen innerhalb der zwei erstgenannten Kombinationen statistisch signifikante Unterschiede (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die mit Bronopol und Schwefelsäure konservierten Proben sind nicht statistisch signifikant unterschiedlich, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. In Abbildung 43 ist die Verteilung der Harnsäurewerte des 3. Tages dargestellt.

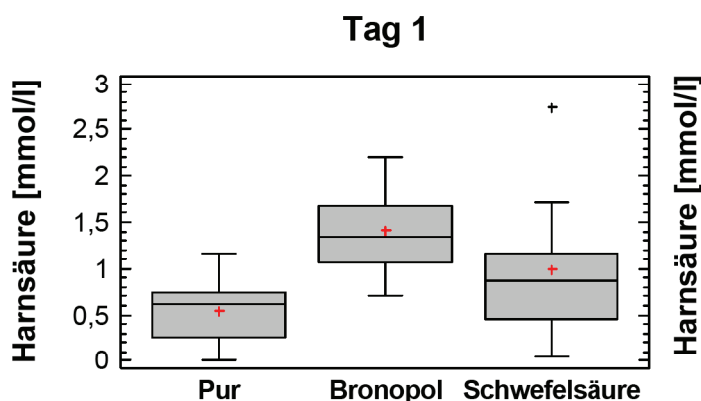


Abbildung 42: Box-Whisker-Plot der Harnsäuremessung am Tag der Probennahme

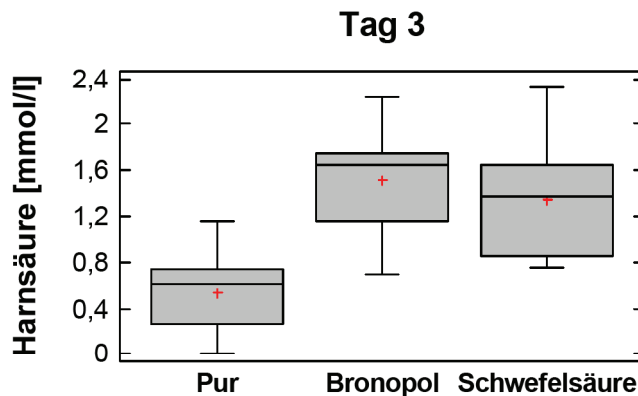


Abbildung 43: Box-Whisker-Plot der Harnsäuremessung 3 Tage nach Probennahme

Am 5. Tag nach der Probennahme erfolgte die letzte Messung. Hierbei ergab sich für die Bronopol-Proben ein Mittelwert von 1,48 mmol/l, bei einem Schwankungsbereich von 0,67 bis 2,35 mmol/l. Die mit Schwefelsäure konservierten Proben schwanken von 0,75 bis 2,52 mmol/l, um ein Mittel von 1,55 mmol/l. Zwischen Pur und Bronopol besteht eine Differenz in Höhe von 0,88 mmol/l. Die Puren und die H_2SO_4 unterscheiden sich um 0,95 mmol/l im Mittel. Für die Proben die mit Konservierungsmittel versetzt wurden, beträgt die Mittelwertdifferenz 0,07 mmol/l. Die Unterschiede zwischen Pur - Bronopol und Pur - H_2SO_4 sind statistisch signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Der Vergleich von Bronopol und Schwefelsäure liefert keine statistisch signifikanten Unterschiede, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Abbildung 44 zeigt die Harnsäuregehalte des Tags 5.

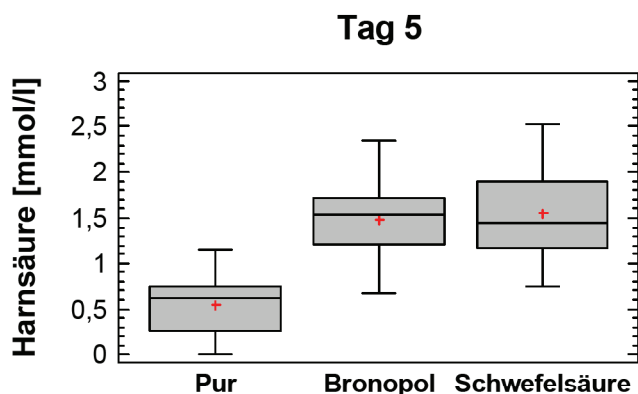


Abbildung 44: Box-Whisker-Plot der Harnsäuremessung 5 Tage nach Probennahme

In den unkonservierten Proben wurde am Probennahmetag ein mittlerer Hippursäuregehalt in Höhe von 26,95 mmol/l, bei einem Schwankungsbereich von 13,97 bis 57,89 mmol/l festgestellt. Die Bronopol-Proben hatten im Mittel einen Hippursäuregehalt an 21,28 mmol/l, bei einer Spannweite von 11,14 bis 47,07 mmol/l. In den mit Schwefelsäure konservierten Urin ergab sich im Mittel ein Gehalt an Hippursäure von 25,18 mmol/l, bei einer Streuung von 11,12 bis 52,58 mmol/l. Es bestehen folgende Mittelwertdifferenzen zwischen Pur-Bronopol

von 5,67 mmol/l, Pur-H₂SO₄ von 1,77 mmol/l und Bronopol-H₂SO₄ von 3,90 mmol/l. Es bestehen für die vor genannten Kombinationen keine statistisch signifikanten Unterschiede, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

Die Hippursäuremessung am Tag 3 ergab für die Bronopol-Proben ein Mittel von 16,76 mmol/l, bei einer Streuung von 11,17 bis 26,73 mmol/l. In den H₂SO₄ wurde ein Mittel von 20,35 mmol/l. Die Gehalte an Hippursäure der mit Schwefelsäure konservierten Proben streuen von 12,94 bis 32,53 mmol/l. Es bestehen Mittelwertdifferenzen in folgenden Höhen Pur-Bronopol von 10,19 mmol/l, Pur-H₂SO₄ von 6,60 mmol/l und Bronopol-H₂SO₄ von 3,59 mmol/l. Der Unterschied zwischen Pur und Bronopol-Proben bezüglich des Gehaltes an Hippursäure ist statistisch signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die Differenzen zwischen Pur-H₂SO₄ und Bronopol-H₂SO₄ sind nicht statistisch signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

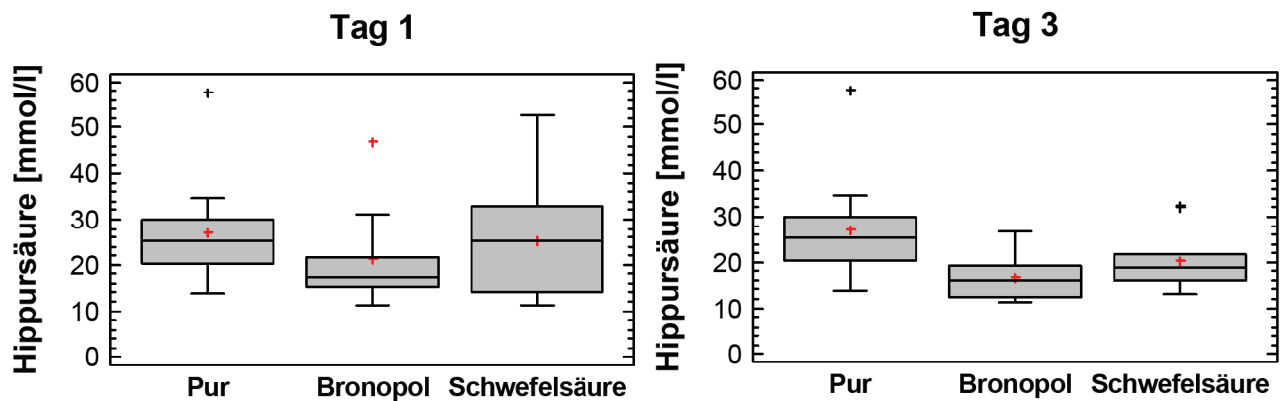


Abbildung 45: Box-Whisker-Plot der Hippursäuremessung am Tag der Probennahme

Abbildung 46: Box-Whisker-Plot der Hippursäuremessung 3 Tage nach Probennahme

Die Messung der Hippursäuregehalte am Tag 5 (4 Tage nach Probennahme) hatte in den mit Bronopol konservierten Proben ein Mittel von 11,89 mmol/l, bei einer Streuung der Werte von 4,40 bis 32,74 mmol/l. Für die Schwefelsäureproben ergab sich ein Mittel von 12,47 mmol/l, bei einer Spannweite von 5,62 bis 25,99 mmol/l. Die Unterschiede der Mittelwerte sind wie folgt hoch: Pur-Bronopol von 15,06 mmol/l, Pur-H₂SO₄ von 14,48 mmol/l und Bronopol-H₂SO₄ von 0,58 mmol/l. Es bestehen zwischen den Puren und den Bronopolproben und zwischen Pur und H₂SO₄ statistisch signifikante Unterschiede (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %). Die Differenz von Bronopol und Schwefelsäure ist nicht statistisch signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit: 5 %).

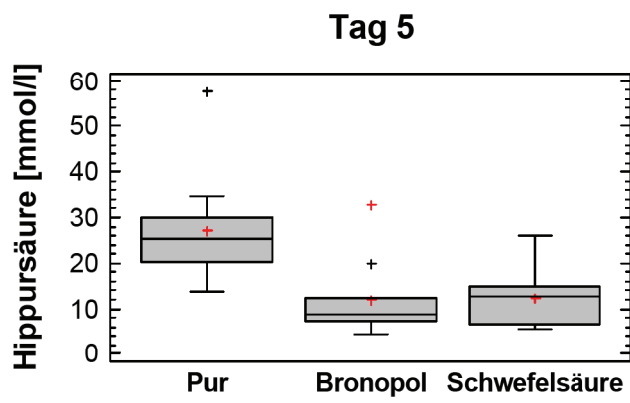


Abbildung 47: Box-Whisker-Plot der Hippursäuremessung 5 Tage nach Probennahme

5 Diskussion

5.1 Konzentrationen der untersuchten Parameter im Harn

Es stand nur eine Quelle (BRISTOW et al., 1992) zur Verfügung, welche eine genauso ausführliche Auflistung der Harninhaltsstoffe hatte. Daher wird zuerst auf die Durchschnittswerte von BRISTOW et al. (1992) eingegangen und im weiteren Vergleiche mit einzelnen Ergebnissen anderer Autoren durchgeführt. Hierbei ist zu beachten, dass in dieser Arbeit mit den Daten von 43 Tieren gearbeitet wurde und BRISTOW et al. (1992) Daten von 10 Tieren zur Verfügung standen. Die Versuchstiere bei BRISTOW et al., (1992) erhielten eine relativ extensive Fütterung (ein Teil davon hatte Weidegang ohne zusätzliche Kraffuttergabe). Die Tiere deren Harn in dieser Arbeit untersucht wurde, haben ein Leistungsniveau von 40 kg/d. Deshalb ist anzunehmen, dass die Tiere höhere Kraffuttermengen bekamen. Die eigenen Ergebnisse sind in Tabelle 14 denen von BRISTOW et al. (1992) gegenübergestellt.

Die Werte für den Gesamt-N schwanken von 2,71 bis 11,66 g/l, bei einem Mittelwert von 6,70 g/l. BRISTOW et al. (1992) stellten einen Schwankungsbereich von 8,60 bis 41,10 g/l, bei einem Mittelwert von 10,51 g/l fest. Der Gehalt des Harnstoff-N weist einen Mittelwert in Höhe von 4,52 g/l auf. Das Minimum beträgt 1,61 g/l und das Maximum 7,65 g/l. Die Ergebnisse von BRISTOW et al. (1992) beim Harnstoff-N sind im Vergleich zu den in dieser Arbeit gemessenen höher. Oben genannte Autoren errechneten einen Mittelwert von 7,57 g/l aus, das Minimum beträgt 4,03 g/l und das Maximum 19,20 g/l. Wie schon in Kapitel 2.1.1 erklärt, ist die Ausscheidung des Harnstoffs vom N-Bedarf der Pansenbakterien abhängig. BRISTOW et al. (1992) errechnen höhere Mengen an Harnstoff im Urin als in dieser Arbeit. Daraus lässt sich auf ein geringeres Mikrobewachstum im Pansen schließen. Durch den ruminohepatischen Kreislauf gelangt ein Teil des Harnstoffs zurück in den Pansen, wo er den Mikroorganismen zum Aufbau von Mikrobenprotein zur Verfügung steht. Der ungenutzte Harnstoff wird ausgeschieden (KOLB, 1989a).

Für den Allantoin-N sind die gemessenen Ergebnisse höher als die von BRISTOW et al. (1992). Es ergab sich ein Schwankungsbereich von 0,20 bis 2,41 g/l und ein Mittel von 0,84 g/l. Dagegen maßen BRISTOW et al. (1992) Werte im Bereich von 0,27 bis 1,21 g/l um einen Mittelwert von 0,73 g/l. Der in dieser Arbeit höhere Gehalt an Allantoin-N ist im Vergleich zu den bei BRISTOW et al. (1992) ermittelten Werten auf ein höheres Mikrobewachstum zurückzuführen. Das Allantoin entsteht durch die Verdauung von DNA und RNA (BUDD-ECKE, 1989; CHEN und GOMES, 1992). Da in der Fütterung von Wiederkäuern keine Futtermittel tierischen Ursprungs (außer Milch bei Kälbern) verabreicht werden dürfen, ist die Haupt-Quelle an Nukleinsäuren, DNA und RNA das Mikrobenprotein. Die Ergebnisse deuten auf eine höhere mikrobielle Proteinsynthese der Versuchstiere dieser Untersuchung.

Der Harnsäure-N-Gehalt hat einen Mittelwert von 0,08 g/l, dieser ist im Vergleich zu BRISTOW et al. (1992) ermittelten Harnsäure-N-Gehalt um 0,04 g/l geringer. Die Werte der Autoren erstrecken sich über einen Bereich von 0,02 bis 0,20 g/l und die dieser Untersuchung von 0,05 bis 0,18 g/l. Die ähnlich hohen Gehalte an Harnsäure, wie bei BRISTOW et al. (1992) sind auf unterschiedliche Anteile der Purinderivate (PD) zueinander zurückzuführen.

Der Hippursäure-N hat einen Mittelwert von 0,21 g/l und bei BRISTOW et al. (1992) ergab sich ein Mittel von 0,56 g/l. Die dazugehörigen Werte umfassen einen Schwankungsbereich von 0,04 bis 1,35 g/l und in der Arbeit der vorgenannten Autoren von 0,47 bis 0,70 g/l. Es besteht ein großer Unterschied zwischen den Mengen an Hippursäure-N. Da die Tiere im Essay von BRISTOW et al. (1992) sehr hohe Anteile an Silage oder nur Grünfutter erhielten lässt sich dies leicht erklären. Es liegen momentan für die Versuchstiere leider keine genauen Angaben zur Fütterung vor. Bei einer Tagesleistung von 40 kg Milch wird es ein geringerer Anteil an Rohfaser in der Ration sein, als in den Rationen der Versuchstiere bei BRISTOW et al., (1992). In der Fütterung von Hochleistungstieren ist es schwierig die physikalische Struktur zu garantieren (SPIEKERS et al., 2009) (siehe auch Kapitel 2.2.2). Wie in der Publikation von PAGELLA et al. (1997) ermittelt wurde, ist die Ausscheidungshöhe der Hippursäure auf die Zufuhr von Rohfaser zurückzuführen (siehe auch Kapitel 2.2.3).

Der Kreatiningehalt beträgt im Mittel 0,15 g/l. Die Werte des Kreatinins umfassen einen Bereich von 0,02 bis 0,77 g/l. Im Vergleich stellten BRISTOW et al. (1992) einen Mittelwert in Höhe von 0,36 g/l fest. Die Werte schwanken im Bereich von 0,20 bis 0,65 g/l, dies ist auf die unterschiedliche Körpermasse und den damit verbundenen unterschiedlichen Anteil an Muskelmasse zurückzuführen, da das Kreatinin ein Abbauprodukt des Kreatin ist, welches im arbeitenden Muskel vorkommt (RÖMPP, 1995 zitiert bei KEHRHAUS et al., 2006).

In Tabelle 15 sind die Ergebnisse als Stoffmengenkonzentration dargestellt. Hier werden die Unterschiede zwischen den eigenen Ergebnissen und denen von Bristow et al. (1992) sehr deutlich. Die Werte von BRISTOW et al. (1992) sind nur in g/l angegeben und wurden in mmol/l umgerechnet. Der Harnstoff schwankt zwischen 57,28 und 273,06 mmol/l, bei einem Mittelwert von 161,33 mmol/l. Bei BRISTOW et al. (1992) beträgt der Mittelwert 269,90 mmol/l, bei einem Minimum von 143,86 mmol/l und einem Maximum von 684,82 mmol/l.

Die Werte des Allantoins lagen im Mittel bei 14,98 mmol/l (eigene Untersuchung) und 12,90 mmol/l (BRISTOW et al., 1992). Die Werte schwanken im Bereich von 3,54 mmol bis 42,69 mmol/l und 4,87 mmol/l bis 21,50 mmol/l (BRISTOW et al, 1992).

Die Untersuchung ergab für die Harnsäure einen Mittelwert von 1,37 mmol/l und umfasste den Bereich von 0,36 bis 3,51 mmol/l. Bei BRISTOW et al. (1992) schwanken die Werte von 0,89 bis 3,15 mmol/l um ein Mittel von 2,14 mmol/l.

Die Ergebnisse der Hippursäure unterscheiden sich stark von denen der oben genannten Autoren. Es ergab sich ein Mittelwert in der Höhe von 15,25 mmol/l bei einem Schwankungsbereich von 2,73 bis 96,16 mmol/l. Der Mittelwert bei BRISTOW et al. (1992) betrug 40,07 mmol/l bei einer Spannweite der Werte von 33,26 bis 49,84 mmol/l. Die Werte für das Kreatinin stellen sich wie folgt dar. Der ermittelte Durchschnitt beträgt 3,49 mmol/l und die vorgenannten Autoren errechneten ein Mittel von 8,66 mmol/l. Die Werte hatten einen Schwankungsbereich von 0,09 bis 18,39 mmol/l und bei BRISTOW et al. (1992) von 4,77 bis 15,47 mmol/l.

Die Anteile der analysierten Parameter am gesamten Stickstoff sind in Tabelle 16 dargestellt. Den größten Anteil am Gesamt-N nimmt der Harnstoff mit durchschnittlich 67,50 % und 69,63 % (BRISTOW et al, 1992) ein. Der Harnstoff-Anteil erstreckt sich über einen Bereich von 49,91 bis 87,08 % und bei den vorgenannten Autoren von 59,30 bis 93,50 %. Das Allantoin umfasst den zweitgrößten Anteil, bei einem Mittel von 12,83 % und 7,52 % (BRISTOW et al, 1992). Der Schwankungsbereich der eigenen Messergebnisse hat eine Spannweite von 3,74 bis 37,88 % und bei den vorgenannten Autoren von 2,24 bis 11,80 %.

Die Harnsäure hat einen geringeren Prozentanteil von 0,36 bis 3,38 %, bei einem Mittel von 1,19%. Bei BRISTOW et al. (1992) schwanken die Werte von 0,62 bis 1,88 %, um einen Mittelwert von 1,20 %. Die Hippursäure hat einen großen Schwankungsbereich von 0,55 bis 19,05 % und bei BRISTOW et al. (1992) von 3,40 bis 8,00 %. Der Mittelwert betrug 3,21 % und bei den genannten Autoren 5,78 %.

Die Einzelergebnisse des Kreatinins ergaben einen Mittelwert von 2,17 %, bei einem Ausmaß der Werte von 0,08 bis 12,95 %. BRISTOW et al. (1992) errechneten ein Mittel von 4,00 %, im Bereich von 1,75 bis 5,48 %.

Eine aus den Einzelwerten gebildete Summe der Inhaltsstoffe schwankt von 65,83 bis 105,68 %, bei einem Mittel von 86,89 %. Die vorgenannten Autoren kamen auf einen Mittelwert von 88,13 %, bei einem Schwankungsbereich von 86,00 bis 108,30 %

Tabelle 14: Konzentrationen der untersuchten Inhaltsstoffe im Vergleich zu denen von BRISTOW et al. (1992)

	N ges [g/l]	Harnstoff-N [g/l]	Allantoin-N [g/l]	Harnsäure-N [g/l]	Hippursäure-N [g/l]	Kreatinin-N [g/l]
Eigene Ergebnisse (n=250)	6,70 (2,71 - 11,66)	4,52 (1,61 - 7,65)	0,84 (0,20 - 2,41)	0,08 (0,02 - 0,20)	0,21 (0,04 - 1,35)	0,15 (0,02 - 0,77)
SD	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19
BRISTOW et al. (1992) (Werte errechnet)	10,51 (8,60 - 41,10)	7,57 (4,03 - 19,20)	0,73 (0,27 - 1,21)	0,12 (0,05 - 0,18)	0,56 (0,47 - 0,70)	0,36 (0,20 - 0,65)

Tabelle 15: Stoffmengenkonzentrationen der untersuchten Parameter im Vergleich zu denen von BRISTOW et al. (1992)

	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Hippursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
Eigene Ergebnisse n=250)	161,33 (57,28 - 273,06)	14,98 (3,54 - 42,69)	1,37 (0,36 - 3,51)	15,25 (2,73 - 96,16)	3,49 (0,09 - 18,39)
SD	42,55	6,76	0,56	10,35	1,80
BRISTOW et al. (1992) (Werte errechnet)	269,90 (143,86 - 684,82)	12,90 (4,87 - 21,50)	2,14 (0,89 - 3,15)	40,07 (33,26 - 49,84)	8,66 (4,77 - 15,47)

Tabelle 16: Anteile der Inhaltsstoffe am Gesamt-Stickstoff im Vergleich zu denen von BRISTOW et al. (1992)

	Harnstoff-N [%]	Allantoin-N [%]	Harnsäure-N [%]	Hippursäure-N [%]	Kreatinin-N [%]	Summe-N [%]
Eigene Ergebnisse (n=250)	67,50 (49,91 - 87,08)	12,83 (3,74 - 37,88)	1,19 (0,36 - 3,38)	3,21 (0,55 - 19,05)	2,17 (0,08 - 12,95)	86,89 (65,83 - 105,68)
SD	7,26	5,45	0,50	2,02	0,97	8,20
BRISTOW et al. (1992)	69,63 (59,30 - 93,50)	7,52 (2,24 - 11,80)	1,20 (0,62 - 1,88)	5,78 (3,40 - 8,00)	4,00 (1,75 - 5,48)	88,13 (86,00 - 108,30)

In Tabelle 17 sind die eigenen Ergebnisse mit einzelnen Resultaten anderer Autoren dargestellt. Es ist zu sehen, dass die Ergebnisse dieser Arbeit neben denen von BRISTOW et al. (1992) die höchsten sind. Dies könnte auf die unterschiedlichen Methoden der Analyse zurückzuführen sein, denn die Messungen mittels Massenspektrometrie sind genauer, bzw. es lassen sich geringere Mengen feststellen. Die Analyse mittels HPLC hat eine höher liegende untere Nachweisgrenze. Des Weiteren könnten die Unterschiede in der Ausscheidungshöhe auf die unterschiedliche Rationszusammensetzung zurückzuführen sein, denn diese ist ausschlaggebend für die Ausscheidung an Purinderivaten und der Hippursäure. Es bestehen, wie in Kapitel 2.1.4 und 2.2.3 beschrieben, Unterschiede im Stoffwechsel zwischen Rind und Schaf, welches die Differenzen in den Ausscheidungshöhen erklärt.

Tabelle 17: Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren

Quelle	Tierart	Allantoin [mmol/d]	Harnsäure (mmol/d)	Hippursäure (mmol/d)	Kreatinin (mmol/d)
Eigene Ergebnisse ⁽¹⁾	Rind	714,9	65,4	727,7	166,6
BRISTOW et al. (1992) ⁽¹⁾	Rind	615,87	102,22	1912,85	413,55
GIESECKE et al. (1994)	Rind	294,4	35,2	-	-
GONDA und LINDBERG (1996)	Rind	74,7 - 224,7	-	-	-
GONZALES-RONQUILLO et al. (2004)	Rind	224,8 - 256,0	18,5 – 34,7	-	-
JOHNSON et al. (1998)	Rind	142 - 217	40 - 79	-	-
MOORBY et al. (2004)	Rind	181 - 303	14,8 – 39,2	-	96 - 137
PAGELLA et al. (1997)	Schaf	-	-	0,22 – 20,66	-
SÜDEKUM et al. (2006)	Rind	90 - 160	-	-	-
VAGNON et al. (1997)	Rind	93,5	-	-	118,0
VALADARES et al. (1999)	Rind	369,1 - 549,2	24,6 – 52,4	-	166,4

⁽¹⁾Tagesurinmenge errechnet anhand der Formel von VALADARES et al. (1999)

$$\text{Urin}[l/d] = \text{BW} \times 29 \div \text{Kreatinin-Konzentration}[mg/l]$$
; Körpergewicht von 650 kg angenommen

Um die Eignung der PD zur Beurteilung der Fermentationsleistung der Pansenmikroben zu überprüfen soll im folgenden die in Kapitel 2.1.4 genannten Formeln angewendet werden. Für die Verwendung der Formeln von CHEN und GOMES, 1992 und CHEN und ØRSKOV, 2003 liegen keine ausreichenden Daten über die Rationszusammensetzung vor.

Als erstes finden die bei VALADARES et al. (1999) genannten Formeln Anwendung: Die tägliche Urinmenge wurde anhand folgender Formel errechnet: $\text{Urin[l/d]} = \text{BW} \times 29 \div \text{Kreatinin-Konzentration [mg/l]}$. Es ergibt sich im Mittel eine tägliche Urinmenge von 47,74 l. Die Absorption der mikrobiellen Purine wird wie folgt berechnet:

$$\text{Purinabsorption [mmol/d]} = \frac{\text{gesamte PDExkretion } 0,385 \times \text{BW}^{0,75}}{0,85}$$

Hierbei ist die gesamte PD-Exkretion [mmol/l] die Summe der Allantoin- und Harnsäuremenge, welche im Urin ausgeschieden wurden. Die Effizienz der Purinabsorption beträgt 85 %. In Abhängigkeit vom Körpergewicht wird die endogene PD-Exkretion [mmol/d] wie folgt ermittelt $0,385 \text{ mmol} \times \text{BW}^{0,75}$. Es ergibt sich bei 650 kg Lebendmasse (LM) eine endogene PD-Exkretion von 49,56 mmol/d.

Unter Zuhilfenahme der Purinabsorption lässt sich die mikrobielle N-Synthese berechnen:

$$\text{Mikroben N [g/d]} = \frac{\text{Purinabsorption} * 70}{0,134 * 0,83 * 1000}$$

Dabei ist 70 der N-Anteil der Purine [mg N/mmol], 0,134 Verhältnis von Purin-N zum Gesamt-N und 0,83 die Verdaulichkeit von mikrobiellen Stickstoff. Im Mittel wurden 16,35 mmol/l ausgeschieden.

$$\text{Purinabsorption [mmol/d]} = \frac{16,35 * 0,385 \times \text{BW}^{0,75}}{0,85}$$

$$\text{Purinabsorption} = 953,33 \text{ mmol/d}$$

$$\text{Mikroben N [g/d]} = \frac{953,33 * 70}{0,134 * 0,83 * 1000}$$

$$\text{Mikroben N} = 600 \text{ g/d}$$

Wendet man die bei MOORBY et al. (2006) genannte Formel an. Sie lautet wie folgt: $\text{Mikroben N [g/d]} = 19,9 + 0,689 \times \text{Gesamt PD [mmol/d]}$. Durch die oben genannte Formel von VALADARES et al. (1999) ergibt sich eine Tagesurinmenge von 47,74 l. Multipliziert man den mittleren Gehalt an PD von 16,35 erhält man eine Tagesausscheidung in Höhe von 780,40 mmol/d.

$$\text{Mikroben N [g/d]} = 19,9 + 0,689 \times 780,4$$

$$\text{Mikroben N} = 557,6 \text{ g/d}$$

Da man bei beiden Berechnungen bei beiden Formeln ein ähnliches Ergebnis erhält, ist es

möglich anhand der PD-Ausscheidung die Fermentation im Pansen einzuschätzen. Für die Anwendung in der Herdendiagnostik sollten aber noch genauere Vergleiche mit den hier nicht angewendeten Formeln aus Kapitel 2.1.4 durchgeführt werden.

5.2 Einfluss der Tageszeit auf die Gehalte der Inhaltsstoffe

Zwischen den Ergebnissen für die Gehalte an Allantoin in den Early- und Late-Proben, besteht ein statistisch signifikanter Unterschied. Dies ist auf den starken Einfluss der einzelnen Rationen zurückzuführen. Die Höhe der Allantoinausscheidung wird durch die Versorgung mit Energie und Rohprotein beeinflusst. Wie in Kapitel 2.1.2 beschrieben wird das Mikrobewachstum durch die Zufuhr und dem Verhältnis von Energie und Nährstoffen (v. a. Rohprotein) beeinflusst. Infolge der Verdauung von Mikroben entsteht als Endabbauprodukt das Allantoin (BUDDECKE, 1989; CHEN und GOMES, 1992). Da in diesem Abschnitt keine Differenzierung der Proben innerhalb der Fütterungsgruppen erfolgte, kann damit noch keine Aussage über die Tauglichkeit der Spotproben getroffen werden.

Für die Aufteilung der Harnsäureergebnisse in Morgen und Abend ergibt sich ein statistisch signifikanter Unterschied. Da auch die Harnsäure ein Abbauprodukt des Katabolismus von DNA und RNA ist, gilt auch hier, dass die Fütterung einen starken Einfluss auf die Ausscheidungsmenge hat. Für die Bildung von Mikrobenprotein werden große Mengen an ATP benötigt. Dieses stammt vor allem aus dem anaeroben Abbau von Kohlehydraten im Pansen. (KOLB, 1989a). Zudem ist das Verhältnis von ruminal verfügbarem Rohprotein zu ruminal verfügbarer Energie beutend für die optimale Verwertung von Proteinen und NPN-Verbindungen (BACH et al., 2005 zitiert bei KEHRHAUS et al., 2006) (siehe auch Kapitel 2.1.2). Für die Summe der Purinderivate (PD) ergibt sich eine etwas andere Verteilung. Hier besteht zwischen Morgen- und Abendurin bezüglich des Gehaltes an Purinderivaten kein statistisch signifikanter Unterschied. Dieser Umstand könnte in der Kumulierung der Einzelergebnisse für Allantoin und Harnsäure begründet sein. Durch die Addition der Werte kommt eine andere Verteilung der Werte zustande, was wiederum die signifikanten Unterschiede aufhebt.

Die Gehalte an Hippursäure sind zwischen den Morgen- und Abendproben jeglicher Kombination nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Es ist anzunehmen, dass innerhalb der Rationen die Rohfasergehalte gleich hoch sind. Es erklärt sich daraus das keine statistisch signifikanten Unterschiede vorhanden sind. Dies zeigt zudem die Unabhängigkeit der Ausscheidungshöhe an Hippursäure von der Tageszeit.

Die Aufteilung der Kreatiningehalte der Proben in Early und Late ergab einen statistisch signifikanten Unterschied. Dieser könnte mit der langen Lagerungsdauer erklärt werden und dem damit verbunden ausfällen des Kreatinins.

5.3 Einfluss der Ration auf die Gehalte der Inhaltsstoffe

Es liegen keine Daten über die Rationszusammensetzung vor. Ungeachtet dessen lassen sich Rückschlüsse aus den Ergebnissen ziehen. Die Unterschiede zwischen Ration 1 und 3 und Ration 2 und 3 sind für den Gehalt an Allantoin, Harnsäure und die Summe der PD statistisch signifikant. Für Ration 1 und 2 sind in Bezug auf den Allantoin-, Harnsäuregehalt und der Summe der PD statistisch signifikant unterschiedlich. Dies ist auf die Konservierungsmittel zurückzuführen. Ration 3 wurden zur Verbesserung der Futterqualität (vorwiegend des Proteingehaltes) ein Siliermittel mit Salzen zugesetzt. Die Salze bzw. deren Abbauprodukte können Auswirkungen auf die Pansenflora und damit auf die Ausscheidungshöhe der PD haben. In diesem Fall sind bei Ration 3 die Mengen an Allantoin, Harnsäure und Purinderivaten signifikant höher im Vergleich zu Ration 1 und 2. Die Ergebnisse dieser Arbeit stimmen mit denen von GONDA et al. (1996) und VALADARES et al. (1999) überein. Die Auswertung der Daten zeigt, dass die Ration einen Einfluss auf die Ausscheidungshöhe der Purinderivate hat.

Die Hippursäurewerte unterscheiden sich in keinem Fall statistisch signifikant. Es kann nur angenommen werden, dass die Rohfasergehalte aller Rationen annähernd gleich hoch waren. Da es sich um dieselbe Silage nur mit unterschiedlichen Zusätzen handelt, bestätigt dies, indirekt einen Einfluss der Fütterung auf die Hippursäureausscheidung. Die Untersuchungen von ARUI et al. (1994), MARTIN, (1982a), CHEN et al. (1996) und PAGELLA et al., (1997) konnten einen Effekt der Aufnahme von Rohfaser auf die Ausscheidungshöhe der Hippursäure belegen.

Nach FOLIN (1905a, 1905b) zitiert bei KEHRHAUS et al. (2006) ist die Kreatininausscheidung unabhängig von der Fütterung (siehe auch Kapitel 2.3). Dies wird durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigt. Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Rationen in jeglicher Kombination.

5.4 Einfluss der Tageszeit innerhalb der Rationen auf die Gehalte der Inhaltsstoffe

Innerhalb der Fütterungsgruppen war einzig für den Allantoingehalt der Morgen- und Abendproben von Ration 1 ein statistisch signifikanter Unterschied festzustellen. Die Differenzen in den Allantoinmengen des Morgen- und Abendurins der Rationen 2 und 3 sind nicht statistisch signifikant unterschiedlich. Die Abweichung in diesem Punkt könnte durch die lange Lagerungsdauer der Urinproben von 1 ½ bis 2 Monaten erklärt werden. Es erfolgte zwar sofort bei Sammlung des Urins eine Konservierung mit Schwefelsäure (0,036 mol/l) und anschließendes Einfrieren der Proben bei -21 C. Ungeachtet dessen kann es zum Ausfällen eines Teils der Inhaltsstoffe kommen, was diesen Unterschied zwischen den Proben erklären

könnte. Der Urin von Ration 1 wurde am frühesten gesammelt. Der signifikante Unterschied zwischen Early und Late der Ration 1 könnte auch durch eine Zeitverzögerung bei der Probensammlung erklärt werden. Es ist möglich, dass Unterschiede bei den Tagen der Probenahme bestehen, denn aufgrund der Tierzahl könnte es zu zeitlichen Verzögerungen gekommen sein. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass der Tageszeiteinfluss vernachlässigbar ist.

Nach der Aufteilung der Ergebnisse innerhalb der Rationen in Morgen- und Abendproben ist nur noch für die Harnsäuregehalte der Ration 2 ein statistisch signifikanter Unterschied vorhanden (siehe auch Kapitel 4.2). Diese Ungleichheit könnte, wie beim Allantoin auf die Lagerungsdauer oder Differenzen bei der Probennahme zurückzuführen sein. Da außer bei Ration 2 keine statistisch signifikanten Unterschiede bestehen, ist es für die Harnsäure unerheblich ob die Probennahme morgens oder abends erfolgt.

In den Gehalten des Morgen- und Abendurins der Summe der PD besteht für Ration 1 und 3 kein statistisch signifikanter Unterschied. Dies gilt nicht für Ration 2, bei dieser ist die Höhe der Summe der PD zwischen Morgen- und Abendproben signifikant verschieden. Für die den PD zugehörigen Allantoingehalte besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Early- und Late-Proben. Die Harnsäureergebnisse der Ration 2 sind nicht signifikant unterschiedlich. Eine Begründung dafür könnte sein, dass das Allantoin aufgrund des höheren Anteils eine stärkere Wirkung auf die Verteilung hat, was auch für die Summe der PD einen statistisch signifikanten Unterschied hervorruft. Der Einfluss der Tageszeit auf den Gehalt an Purinderivaten ist zu gering, so dass er vernachlässigt werden kann.

Wenn der Einfluss der Tageszeit so bedeutend wäre, müsste sich nicht nur für Allantoin, Harnsäure oder die Purinderivate ein signifikanter Unterschied ergeben, sondern es müsste für z. B. Ration 1 für den Gehalt an Allantoin, Harnsäure und die Summe der PD auch ein statistisch signifikanter Unterschied existieren.

Die Unterschiede in den Gehalten der Hippursäure sind zwischen den Morgen- und Abendproben für keine Ration statistisch signifikant. Dies ist wie schon in Kapitel 5.3 auf den gleich hohen Gehalt an Rohfaser in den Rationen zurückzuführen.

Die Aufteilung der Kreatiningehalte innerhalb der Fütterungsgruppen für morgens und abends ergab nur einen statistisch signifikanten Unterschied für die Werte der Ration 2. Diese signifikanten Differenzen könnten mit der langen Lagerungsdauer oder durch eine Zeitverzögerung in der Probennahme erklärt werden. Als Folge der Lagerung fällt ein Teil des Kreatinins aus und verfälscht die Verteilung der Menge des Kreatinins.

5.5 Einfluss des Konservierungsmittels auf die Gehalte der Inhaltsstoffe

Die Gehalte an Allantoin sind am Probennahmetag nicht signifikant unterschiedlich für Pur-Bronpol, Pur-H₂SO₄ und Bronopol-H₂SO₄. Dies ändert sich schon am Tag 3. Es lassen sich für Pur-Bronpol, Pur-H₂SO₄ statistisch signifikante Unterschiede feststellen. Dies trifft nicht für Bronopol-Schwefelsäure zu. Am Tag 5 bestehen die gleichen statistisch signifikanten Unterschiede. Die Mittelwertdifferenzen im Vergleich von unkonservierter Variante und den beiden konservierten nehmen zu (siehe Kapitel 4.5). Dies lässt auf eine geringe Lagerstabilität des Allantoins schließen. Es war auch während der Untersuchungen der schwedischen Harnproben zu beobachten, dass die Stammlösung für das Allantoin trotz Kühlung öfter neu hergestellt werden musste als die mit Hippursäure. Es ist davon auszugehen, dass bereits 2 Tage nach Probennahme das Allantoin, wenn es bei Zimmertemperatur gelagert wird ausfällt.

Schon am Probennahmetag sind die Gehalte der Harnsäure in den puren und den Bronopolproben statistisch signifikant unterschiedlich. Zwischen den Harnsäuregehalten der Messung am Tag 3 ergeben sich für Pur-Bronpol und Pur-H₂SO₄ statistisch signifikanten Unterschiede. Weiterhin ist die Differenz zwischen Bronopol-H₂SO₄ nicht statistisch signifikant.

Am Tag 5 ist für Pur-Bronpol und Pur-H₂SO₄ der Unterschied statistisch signifikant. Für Bronopol-H₂SO₄ besteht auch hier kein statistisch signifikanter Unterschied. Es lässt darauf schließen, dass zwar die Färbung der Bronopol-Kathon-Lösung die Harnsäuremessung am Spektrometer nicht negativ beeinflusst. Es kommt ungeachtet dessen zu einer Veränderung im Harnsäuregehalt. Denn die Werte der Bronopol-Proben sind bei allen Messung statistisch signifikant unterschiedlich.

Die Hippursäuregehalte zeigen für den Probennahmetag keine statistisch signifikanten Unterschiede. Am Tag 3 wurde zwischen den unkonservierten und den Bronopolproben ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt. Dies gilt nicht für die Unterschiede von Pur-Schwefelsäure und Bronopol-H₂SO₄. Die Ergebnisse von Tag 5 zeigen für Pur-Bronpol und Pur-H₂SO₄ statistisch signifikante Unterschiede. Es lässt sich daraus auf eine bessere Lagerstabilität bei den mit Schwefelsäure konservierten Proben bezüglich der Hippursäure schließen.

Es ist bei allen Proben am Tag 5 von einem Verderb auszugehen. Da schon bei der ersten Messung zwischen den Pur und Bronopol ein statistisch signifikante Differenz festzustellen war, ist zu empfehlen weiterhin Schwefelsäure als Konservierungsmittel zu verwenden. Zudem sollte eine sofortige Kühlung der Proben erfolgen, bzw. bei längerer Lagerung die Proben tief gefroren werden.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden Harnproben auf den Gehalt an stickstoffhaltigen Verbindungen untersucht. Die Bedeutung lag hierbei auf den Stoffwechselfparametern Allantoin, Harnsäure und Hippursäure. Diese Arbeit stellt eine große Übersicht über die Gehalte an Purinderivaten und Hippursäure im Harn dar. Die Untersuchung erfolgte mittels Spektrometer, Gaschromatograph und Massenspektrometer. Die Proben der Harnuntersuchung stammen aus einem schwedischen Fütterungsversuch, indem zwei verschiedene Siliermittel verglichen wurden. Die Ergebnisse waren ähnlich derer anderer Autoren. Es ergab sich, dass die Fütterung einen großen Einfluss auf die Ausscheidung der Purinderivate Allantoin und Harnsäure hat. Zusätzlich trifft dies auf die Elimination von Hippursäure zu. Zudem konnte die Plausibilität der Ergebnisse im Vergleich mit anderen Autoren belegt werden. Es wurde überprüft ob signifikante Unterschiede in der Höhe der Inhaltsstoffe zwischen Morgen- und Abendurin bestehen. Dies war nicht feststellbar, was die Tauglichkeit von Spotproben belegt.

Die Anwendung der Stoffwechselfparameter in der Herdendiagnostik erscheint als sinnvoll. Bei Störungen im Stoffwechsel von Rindern, ist es oft schwierig die Ursachen zu finden. Die in dieser Arbeit analysierten Parameter können Hinweise geben, auf nicht ausreichende Versorgung der Pansenmikroben mit Energie, Rohprotein und/oder Rohfaser.

Durch die Verwendung des Kreatinins als internem Biomarker zur Schätzung der gesamten Urinmenge, lässt sich die mikrobielle N-Synthese im Pansen quantitativ schätzen. Da es sich beim Allantoin um das Endabbauprodukt der Nukleinsäuren handelt, kann auf diesem Wege auch eine Einschätzung des Pansenstoffwechsels vorgenommen werden. Zwar lässt sich z. B. durch die NSBA feststellen ob eine Azidose besteht, aber nicht ob es eine metabolische oder eine Pansenacidose ist. Dies lässt durch eine Analyse der Purinderivate im Harn abklären.

Es erfolgte neben den Harnuntersuchungen ein Vergleich zweier Konservierungsmittel, bezüglich der Lagerstabilität der mit den Stoffen versetzten Harnproben. Die dazu benötigten Proben wurden in einem Mitgliedsbetrieb des LKV Sachsen e. V. gesammelt. Es ergab sich, dass die verwendete Bronopol-Kathon-Lösung die Messungen beeinträchtigte. Es ist die Verwendung von Schwefelsäure (0,036mol/l) zu empfehlen. Zudem sollten die Proben so schnell wie möglich gekühlt und zügig untersucht werden.

7 Summary

The major work of this thesis is the urine analysis of nitrogenous compounds. The important metabolic parameters are allantoin, uric acid and hippuric acid. In this thesis there is a large amount of results about the content of the purine derivatives and the hippuric acid. The analysis would be performed by the spectrometer, mass spectrometer and gas chromatograph. The samples, which were examined in this work, were sent from the Swedish University SLU Skara in frozen condition to the LKS mbH Lichtenwalde laboratory.

The results of this work were similar in comparison to other authors. This increases the plausibility of the examined results. As a consequence of the results it is approved, that the excretion of purine derivatives and the hippuric acid are dependent on the feeding of the ruminants.

Significant differences between early and late samples were examined, in view of concentrations of ingredients. There were no statistical significances, so the spot samples can be used in the diagnostics of ruminants.

It meaningful appears to apply the metabolic parameters allantoin, uric acid and hippuric acid to determine fermentation in the rumen. If there is a health problem it is very difficult to find the reason. Now, it is clear, that with the purine derivatives and the hippuric acid some reasons can be determined. These parameters are indicators of the amount of energy, crude protein or roughage.

Creatinine could be used as internal marker, to estimate the total urine volume of a day. Due to this, it is possible to estimate the quantity of the microbial nitrogen synthesis in the rumen. Allantoin is the end product of the degradation of nucleic acids, thereby the rumen metabolism could be examined. For example, an acidosis could be caused by metabolic or rumen dysfunction. The reason of the dysfunction could be determined by analyzing the allantoin concentration and uric acid concentration in the urine.

Furthermore two preservative agents were compared. These samples were collected in a farm, which is a member of the LKV Sachsen e. V. The Bronopol-Kathon-solution affected the results negatively. It is suggested to take sulfuric acid as preservative agent. The samples should be as fast as possible analyzed.

8 Literaturverzeichnis

ARIN, M. J. und DIEZ, M. T. und RESINES, J. A. (1992): Rapid and simple method for the determination of urinary benzoic and phenylacetic acids and their glycine conjugates in ruminants by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 582: S. 13-18

ARUI, S.; STANGASSINGER, M. und GIESECKE, D. (1994): Der Einfluß des Pansenstoffwechsels auf zyklische N-Verbindungen im Blutplasma von Wiederkäuern. *Journal of Veterinary Medicine A* 41: S. 298-306

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S. und STERN M. D. (2005): Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science* 88: E. Supplements S. E9-E21

BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT (2010): Gruber Tabelle zur Fütterung der Milchkühe, Zuchtrinder, Schafe, Ziegen. 32. Aufl.

BRISTOW, A. W.; WHITEHEAD, D. C. und COCKBURNS, J. E. (1992): Nitrogenous Constituents in the Urine of Cattle, Sheep and Goats. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 59: S. 387-394

BUDDECKE, E. (1989): *Grundriss der Biochemie*. 8. Aufl., Berlin und New York: Walter de Gruyter-Verlag

CHEN, X. B. und GOMES, M. J. (1992): Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-An overview of the technical details. Aberdeen: International Feed Resources Unit.

CHEN, X. B.; MEJIA, A. T.; KYLE, D. J. und ØRSKOV E. R. (1995): Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. *Journal of Agricultural Science* 125: S. 137 -143.

CHEN, X.B.; PAGELLA, J.H.; BAKKER, und M.L.; PARRA, O. (1996): Determination of aromatic metabolites in ruminant urine by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*. 682: S. 201-208

CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; CHIZZOTTI, F. H. M. und TEDESCHI, L. O. (2008): Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Livestock Science* 113: S. 218-225

DICKHOEFER, U. und SUSENBETH, A. (2011): Urinary excretion of purine derivatives in cattle in response to an increase in energy and nitrogen intake. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology* 20: S. 25

ERBRECHT, R.; KÖNIG, H.; MARTIN, K.; PFEIL, W. und WÖRSTENFELD, W. (1999): *Das große Tafelwerk*. 1.Aufl. Berlin: Volk und Wissen Verlag

FAHEY JR., G. C. und JUNG, H. G. (1983): Lignin as a Marker in Digestion Studies: a Review. *Journal of Animal Science* 57: S. 220-225.

HOFFMANN, M. (1983): *Tierfütterung*. Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag

- GIESECKE, D.; BALS LIEMKE, J.; SÜDEKUM, K- H. und STANGASSINGER, M. (1993): Plasmaspiegel, Clearance sowie renale Ausscheidung von endogenen und ruminalen Purinen beim Rind. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 70: S. 180-189
- GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. und AHRENS, F. (1994): Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 77: S. 2376-2381
- GONDA, H. L.; EMANUELSON, M. und MURPHY, M. (1996): The effect of roughage to concentrate ratio in the diet on nitrogen and purine metabolism in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 64: S. 27-42.
- GONDA H. L. und LINDBERG, J. E. (1997): Effect of diet on milk allantoin and its relationship with urinary allantoin in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80: S. 364-373
- GONZALEZ-ROQUILLO, M.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A.; CASTRILLO C und MOTA, M. (2004): A comparison of purine derivatives excretion with conventional methods as indices of microbial yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87: S. 2211-2221.
- GONZALEZ-ROQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. und VINCENTE F. (2003): Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. *Journal of Dairy Science* 86: S. 1282-1291.
- JEROCH, H.; DROCHNER, W. und SIMON, O. (1999): Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer
- JOHNSON, L. M.; HARRISON, J. H. und RILEY, R. E. (1998): Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. *Journal of Dairy Science* 81: S. 2408-2420.
- KEHRAUS, S.; SÜDEKUM, K. H. und PFEFFER, E. (2006): Einflussfaktoren auf die Ausscheidung N-haltiger Verbindungen im Harn von Wiederkäuern. *Übersichten Tierernährung* 34: S. 125-164
- KOLB, E. (Hrsg.) (1989a): Lehrbuch der Physiologie der Haustiere Teil I. 5. Aufl., Stuttgart und New York: Gustav Fischer Verlag
- KOLB, E. (Hrsg.) (1989b): Lehrbuch der Physiologie der Haustiere Teil II. 5. Aufl., Stuttgart und New York: Gustav Fischer Verlag
- MARTIN; A .K. (1966): Metabolism of benzoic acid by sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.17: S. 496-500
- MARTIN, A. K. (1969a): Urinary excretion of aromatic acids by sheep given diets containing different amounts of protein and roughage. *British Journal of Nutrition* 23: S. 389-399
- MARTIN, A. K. (1969b): The urinary excretion of aromatic acids by starved sheep. *British Journal of Nutrition* 23: S. 715-725
- MARTIN, A. K. (1970): The urinary aromatic acids excreted by sheep given S24 perennial ryegrass cut at six stages of maturity. *British Journal of Nutrition* 24: S. 943-959

- MARTIN, A. K. (1982a): The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants 1. The metabolism of quinic, cyclohexanecarboxylic and non-phenolic aromatic acids to benzoic acid. *British Journal of Nutrition* 47: S. 139-154
- MARTIN, A. K. (1982b): The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants 2. The metabolism of pterrolic cinnamic acids to benzoic acid. *British Journal of Nutrition* 47: S. 155-164
- MARTIN, A. K. (1982c): The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants 3. The metabolism of phenolic compounds to simple phenols. *British Journal of Nutrition* 48: S. 497-507
- MARTIN, A. K.; MILNE, J. A. und MOBERLY, P. (1983): The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. *British Journal of Nutrition* 49: S. 87-99
- MCALLAN, A. B. (1980): The degradation of nucleic acid in, and the removal of breakdown products from the small intestine of steers. *British Journal of Nutrition*. 44: S. 99-112.
- MOORBY, J. M.; DEWHURST, R. J.; EVANS, R. T.; und DANALON, J. L. (2006): Effects of dairy cow diet forage proportion on duodenal nutrient supply and urinary purine derivative excretion. *Journal of Dairy Science* 89: S. 3552-3562
- ØRSKOV, E. R. und MACLEOD, N. A. (1982): The determination of the minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and its physiological and practical implications. *British Journal of Nutrition* 41, 625-636
- PAGELLA, J. H.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A.; ØRSKOV, E. R. und DEWEY, P. J. S. (1997): Excretion of benzoic acid derivatives in urine of sheep given intraruminal infusions of 3-phenylpropionic and cyclohexanecarboxylic acids. *British Journal of Nutrition* 77: S. 577-592
- ROSSKOPF, R. und GIESECKE, D. (1992): Untersuchungen an Kühen über den Einfluß der Energieaufnahme auf den Pansenstoffwechsel mittels der Allantoinausscheidung in der Milch. *Journal of Veterinary Medicine A* 39: S. 515-524
- ROSSKOPF, R.; RAINER, H. und GIESECKE, D. (1991): Purin- und Pyrimidinmetaboliten zur Beurteilung des Pansenstoffwechsels: HPLC-Analysen in Milch und Blutplasma. *Archives of Animal Nutrition* 41/4: S. 411-426
- SPANN, B.; MOOSMEYER, M. et al. (1993): *Fütterungsberater Rind - Kälber, Milchvieh, Mastrinder*. München, Wien, Zürich, BLV Verlagsgesellschaft mbH
- SPIEKERS, H.; NUSSBAUM, H. UND POTTHAST, V. (2009): *Erfolgreiche Milchviehfütterung*. 5. Aufl., Frankfurt am Main: DLG Verlag
- SÜDEKUM, K.-H.; BRÜSEMEISTER, F.; SCHRÖDER, A. und STANGASSINGER, M. (2005): Effects of amount of intake and stage of forage maturity on urinary allantoin excretion and estimated microbial crude protein synthesis in the rumen of steers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90: S. 36-41
- ULBRICH, M.; HOFFMANN, M. und DROCHNER, W. (2004): *Fütterung und Tiergesundheit*. Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. und HATFIELD; R. D. (1997): Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. *Journal of Dairy Science* 80: S. 1695-1702

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C. und CLAYTON, M. K. (1999): Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of Dairy Science* 82: S. 2686-2696

VARIAN DEUTSCHLAND GMBH, BEYER, U. (2009): ABC der Probenvorbereitung (8) - Flüssigextraktion in der Kartusche (SLE): Wässrige Proben. Veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 05.Mai.2009; eingesehen am 15. Februar. 2010

VON ENGELHARDT, W. (Hrsg.) (2010): *Physiologie der Haustiere*. 3. Aufl., Stuttgart: Enke Verlag

WESTPHAL, A.; ZARRATH, M. und STAUFENBIEL, R. (2007): Hinweise zur Behandlung von Probenmaterial zur Einsendung in Fremdlabore unter besonderer Berücksichtigung von Harnproben. 31. Fortbildungsveranstaltung: Labordiagnostik in der Bestandsbetreuung Medizinischen Tierklinik Leipzig

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schema des N-Umsatzes im Verdauungstrakt des Wiederkäuers (Jeroch et al., 1999)	4
Abbildung 2: Schematische Darstellung des ruminohepatischen Kreislaufs (von Engelhardt, 2010)	5
Abbildung 3: Schematische Darstellung des Nukleinsäurenabbaus (nach Buddecke, 1989)..	9
Abbildung 4: Abbau der Purinnukleotide und Bildung der Purinderivate (nach Buddecke, 1989)	10
Abbildung 5: Schematische Darstellung des Abbauweges der Nukleinsäuren aus dem Futter	11
Abbildung 6: Unterschied zwischen Schaf und Rind in der Nutzung der Purinderivate (Chen und Gomes, 1992)	11
Abbildung 7: Abbau der Kohlenhydrate im Pansen (von Engelhardt, 2010)	16
Abbildung 8: Einfluss der Futtermittelstruktur auf gesundheitsrelevante Faktoren bei Wiederkäuern (Ulbrich et al., 2004).....	20
Abbildung 9: Entstehung der Benzoesäure aus mikrobieller Fermentation von zellulosehaltigem Futter (nach Pagella et al., 1997).....	22
Abbildung 10: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips (Beyer, 2009)	30
Abbildung 11: Extraktion der Probe mittels Kartusche.....	31
Abbildung 12: Box-Whisker-Plot für Allantoin aufgeteilt in Morgen- und Abendproben.....	37
Abbildung 13: Box-Whisker-Plot für Harnsäure aufgeteilt in Morgen- und Abendproben.....	38
Abbildung 14: Box-Whisker-Plot für die PD aufgeteilt in Morgen- und Abendproben.....	39
Abbildung 15: Box-Whisker-Plot für Hippursäure aufgeteilt in Morgen- und Abendproben ...	39
Abbildung 16: Box-Whisker-Plot für Kreatinin aufgeteilt in Morgen- und Abendproben	39
Abbildung 17: Box-Whisker-Plot für Allantoin in Abhängigkeit zur Ration.....	41
Abbildung 18: Box-Whisker-Plot für Harnsäure in Abhängigkeit zur Ration.....	41
Abbildung 19: Box-Whisker-Plot für die Purinderivate in Abhängigkeit zur Ration	42
Abbildung 20: Box-Whisker-Plot für Hippursäure in Abhängigkeit zur Ration	42
Abbildung 21: Box-Whisker-Plot für Kreatinin in Abhängigkeit zur Ration	42
Abbildung 22: Box-Whisker-Plot für Allantoin der Ration 1 aufgeteilt in Early und Late	44
Abbildung 23: Box-Whisker-Plot für Allantoin der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late	44
Abbildung 24: Box-Whisker-Plot für Allantoin der Ration 3 aufgeteilt in Early und Late	45
Abbildung 25: Box-Whisker-Plot für Harnsäure der Ration 1 aufgeteilt in Early und Late	45
Abbildung 26: Box-Whisker-Plot für Harnsäure der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late	45
Abbildung 27: Box-Whisker-Plot für Harnsäure der Ration 3 aufgeteilt in Early und Late	46
Abbildung 28: Box-Whisker-Plot für die PD der Ration 1 aufgeteilt in Early und Late	47

Abbildung 29: Box-Whisker-Plot für die PD der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late	47
Abbildung 30: Box-Whisker-Plot für die PD der Ration 3 aufgeteilt in Early und Late	47
Abbildung 31: Box-Whisker-Plot für Hippursäure der Ration 1 aufgeteilt in Early und Late ..	48
Abbildung 32: Box-Whisker-Plot für Hippursäure der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late ..	48
Abbildung 33: Box-Whisker-Plot für Hippursäure der Ration 3 aufgeteilt in Early und Late ..	48
Abbildung 34: Box-Whisker-Plot für Kreatinin der Ration 1 aufgeteilt in Early- und Late	49
Abbildung 35: Box-Whisker-Plot für Kreatinin der Ration 2 aufgeteilt in Early und Late.....	49
Abbildung 36: Box-Whisker-Plot für Kreatinin der Ration 3 aufgeteilt in Morgen- und Abendproben	50
Abbildung 37: Färbung der mit Bronopol-Kathon-Lösung konservierten Proben	50
Abbildung 38: Färbung der mit Schwefelsäure konservierten Proben	50
Abbildung 39: Box-Whisker-Plot der Allantoinmessung am Tag der Probennahme	52
Abbildung 40: Box-Whisker-Plot der Allantoinmessung 3 Tage nach Probennahme	52
Abbildung 41: Box-Whisker-Plot der Allantoinmessung 5 Tage nach Probennahme	53
Abbildung 42: Box-Whisker-Plot der Harnsäuremessung am Tag der Probennahme.....	54
Abbildung 43: Box-Whisker-Plot der Harnsäuremessung 3 Tage nach Probennahme	54
Abbildung 44: Box-Whisker-Plot der Harnsäuremessung 5 Tage nach Probennahme	54
Abbildung 45: Box-Whisker-Plot der Hippursäuremessung am Tag der Probennahme	55
Abbildung 46: Box-Whisker-Plot der Hippur-säuremessung 3 Tage nach Probennahme	55
Abbildung 47: Box-Whisker-Plot der Hippursäuremessung 5 Tage nach Probennahme	56

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die Höhe der Gesamt-PD-Ausscheidung in Abhängigkeit des Krafffutteranteils ..	13
Tabelle 2: Auswahl an Formeln zur Beurteilung der Fermentationsleistung im Pansen.....	15
Tabelle 3: Einfluss der Rohfaser auf die Verdauung im Pansen (nach Gfrörer zitiert bei Spann, 1993).....	19
Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Chemikalien und Reagenzien.....	27
Tabelle 5: Zusammensetzung der einzelnen Standards.....	29
Tabelle 6: Übersicht der Verdünnungsschemas des Konservierungsmittelvergleichs	33
Tabelle 7: Konzentrationen der untersuchten Inhaltsstoffe.....	36
Tabelle 8: Stoffmengenkonzentrationen der untersuchten Parameter.....	36
Tabelle 9: Anteile der Inhaltsstoffe am Gesamt-Stickstoff	36
Tabelle 10: Vergleich der Ergebnisse der Morgen- und Abendproben	37
Tabelle 11: Vergleich der Ergebnisse in Bezug auf die Fütterung	40
Tabelle 12: Inhaltsstoffe aufgeteilt in Morgen- und Abendurin innerhalb der Fütterungsgruppen	43
Tabelle 13: Inhaltsstoffe in Abhängigkeit zum Konservierungsmittel und Probentransport ...	51
Tabelle 14: Konzentrationen der untersuchten Inhaltsstoffe im Vergleich zu denen von BRISTOW et al. (1992).....	60
Tabelle 15: Stoffmengenkonzentrationen der untersuchten Parameter im Vergleich zu denen von BRISTOW et al. (1992).....	60
Tabelle 16: Anteile der Inhaltsstoffe am Gesamt-Stickstoff im Vergleich zu denen von BRISTOW et al. (1992).....	61
Tabelle 17: Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren	62
Tabelle 18: Ergebnisse der Messung am Probennahmetag	IV
Tabelle 19: Ergebnisse der Messung zwei Tage nach der Probennahme	V
Tabelle 20: Ergebnisse der Messung vier Tage nach der Probennahme	VI
Tabelle 21: Übersicht über alle Einzelwerte der Harnuntersuchungen	VII

Anhang

Ergebnisse des Konservierungsmittelvergleichs

Tabelle 18: Ergebnisse der Messung am Probennahmetag

Proben- nummer	Allantoin [mmol/l]			Harnsäure [mmol/l]			Hippursäure [mmol/l]		
	Pur	Bronopol	Schwefel- säure	Pur	Bronopol	Schwefel- säure	Pur	Bronopol	Schwefel- säure
1	44,85	37,03	28,63	0,74	1,86	1,71	29,83	31,04	32,72
2	60,08	50,42	41,68	0,26	1,07	1,15	57,89	47,07	52,58
3	28,14	19,44	28,39	1,15	2,21	2,75	20,54	16,73	25,79
4	20,02	13,01	6,07	0,37	1,32	0,45	14,92	15,15	12,78
5	27,70	15,55	1,29	0,04	1,00	0,30	23,43	18,05	11,12
6	23,69	14,09	9,92	0,00	0,71	0,04	20,28	15,64	27,15
7	34,85	18,07	8,58	0,89	1,68	0,89	34,53	21,76	25,14
8	30,51	10,66	15,48	0,74	1,57	0,93	27,09	15,37	32,74
9	19,30	18,05	6,05	0,52	1,36	0,86	27,02	20,81	17,78
10	17,79	10,85	4,60	0,71	1,25	0,86	13,97	11,14	13,99

Tabelle 19: Ergebnisse der Messung zwei Tage nach der Probennahme

Proben- nummer	Allantoin [mmol/l]		Harnsäure [mmol/l]		Hippursäure [mmol/l]	
	Bronopol	Schwefel- säure	Bronopol	Schwefel- säure	Bronopol	Schwefel- säure
1	16,95	16,17	1,68	1,64	19,15	21,77
2	28,17	27,37	1,36	1,25	26,73	32,53
3	15,55	18,34	2,24	2,32	15,84	19,50
4	13,64	12,49	1,15	1,07	15,16	13,16
5	15,39	16,14	1,08	0,86	16,75	18,13
6	10,34	13,28	0,70	0,75	11,17	12,94
7	11,23	15,37	1,75	1,50	22,57	16,08
8	5,98	17,96	1,61	1,71	12,25	21,32
9	11,89	28,63	1,78	0,82	16,32	32,27
10	7,90	13,33	1,75	1,57	11,60	15,80

Tabelle 20: Ergebnisse der Messung vier Tage nach der Probennahme

Proben- nummer	Allantoin [mmol/l]		Harnsäure [mmol/l]		Hippursäure [mmol/l]	
	Bronopol	Schwefel- säure	Bronopol	Schwefel- säure	Bronopol	Schwefel- säure
1	17,48	6,74	1,52	2,00	20,09	12,53
2	14,55	6,01	1,18	1,11	32,74	25,99
3	13,03	4,32	2,35	2,52	7,27	6,02
4	12,11	4,72	1,22	1,34	7,51	12,89
5	11,76	4,43	1,22	1,18	7,84	6,53
6	7,91	4,00	0,67	0,75	6,95	5,62
7	5,66	7,10	1,55	1,89	10,56	15,01
8	5,17	4,96	1,84	1,86	9,33	15,05
9	5,13	4,87	1,54	1,57	4,40	18,18
10	4,81	4,32	1,71	1,28	12,21	6,89

Tabelle 21: Übersicht über alle Einzelwerte der Harnuntersuchungen

Journal-nr	ID	Ration	Early/Late	N _{ges} [g/l]	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hipursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
9439	78	1	Early	5,97	154,85	11,45	1,78	13,23	17,25	18,39
9440	78	2	Early	9,67	239,76	14,67	2,02	16,69	28,07	6,90
9441	357	2	Early	11,25	255,58	9,36	0,71	10,07	12,95	14,94
9442	360	2	Early	8,69	174,83	15,94	0,71	16,65	50,17	6,10
9443	818	2	Early	6,07	169,83	10,18	1,07	11,25	3,96	3,18
9444	1186	2	Early	7,43	221,45	12,84	0,54	13,37	4,86	3,89
9445	1872	2	Early	8,51	233,10	16,44	1,37	17,81	16,02	6,10
9446	2324	2	Early	7,56	204,13	11,64	1,31	12,95	4,19	4,60
9447	2472	2	Early	5,32	126,54	15,62	0,77	16,39	3,80	4,24
9448	2493	2	Early	9,04	194,81	14,61	1,19	15,80	20,59	6,01
9449	2550	2	Early	7,96	204,80	15,68	0,89	16,58	7,92	4,60
9450	2561	2	Early	5,89	158,18	11,89	0,59	12,48	5,69	3,01
9451	2561	1	Early	3,09	57,28	9,23	0,36	9,59	13,17	1,59
9452	2578	2	Early	7,22	173,16	12,40	1,13	13,53	18,25	4,07
9453	2641	2	Early	9,24	226,44	16,44	0,89	17,34	5,86	7,96
9454	2664	2	Early	6,92	171,50	9,61	1,01	10,62	2,73	4,60
9455	2670	2	Early	8,93	216,45	8,22	1,43	9,65	6,53	5,39
9456	2684	2	Early	10,25	234,77	15,56	1,19	16,75	15,85	7,16
9457	2689	2	Early	6,42	149,85	10,69	0,59	11,28	10,99	4,60
9458	2698	2	Early	8,41	208,13	14,10	1,07	15,17	13,90	6,28
9459	2710	2	Early	8,15	216,45	13,60	1,01	14,61	4,74	4,95
9460	2711	2	Early	8,43	189,81	13,41	1,31	14,72	16,58	5,66
9461	2722	2	Early	7,40	191,48	10,31	1,01	11,32	29,02	3,80
9462	2711	1	Early	7,24	149,85	9,61	1,25	10,86	12,95	3,27
9463	2732	2	Early	5,71	176,49	9,30	0,95	10,25	17,58	4,77
9464	2722	1	Early	6,72	141,53	13,66	1,25	14,91	19,92	3,54
9465	2739	2	Early	6,73	158,18	10,31	0,59	10,90	9,82	4,42
9466	2736	1	Early	7,04	133,20	19,67	1,78	21,45	27,35	5,75
9467	2761	2	Early	6,78	164,84	12,33	1,25	13,58	6,98	4,60
9468	2739	1	Early	6,66	138,86	19,16	1,07	20,23	48,28	4,15

Journal-nr	ID	Ration	Early/Late	N _{ges} [g/l]	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hipursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
9469	2807	2	Early	10,95	251,42	14,23	1,13	15,36	37,67	6,45
9470	2761	1	Early	6,22	159,84	15,12	2,02	17,14	46,43	3,54
9471	2889	2	Early	6,24	158,18	11,26	0,77	12,03	19,09	2,92
9472	3798	2	Early	8,01	209,79	28,27	0,95	29,22	10,27	4,42
9473	2889	1	Early	5,16	109,56	17,90	0,95	18,85	16,41	3,54
9474	5349	2	Early	7,24	203,13	13,28	1,01	14,29	19,65	4,15
9475	5361	2	Early	9,65	258,08	12,08	1,31	13,39	5,92	5,22
9476	5349	1	Early	6,56	174,83	14,93	0,95	15,88	13,12	3,62
9477	5425	2	Early	8,91	239,76	28,21	0,95	29,16	27,51	5,39
9478	5361	1	Early	5,51	120,21	16,32	1,49	17,80	16,80	4,07
9479	5440	2	Early	7,84	221,45	9,61	0,89	10,51	8,48	5,04
9480	5494	2	Early	8,83	233,10	18,53	1,67	20,20	39,62	5,04
9481	5440	1	Early	6,74	201,47	15,12	1,73	16,84	22,99	4,42
9482	5627	2	Early	9,07	238,10	21,88	1,25	23,13	8,54	5,57
9483	5707	2	Early	9,88	273,06	32,38	1,78	34,17	21,49	4,42
9484	6427	2	Early	7,27	189,81	15,12	1,13	16,25	21,82	4,51
9485	6491	2	Early	7,79	208,13	17,08	0,89	17,97	25,84	4,07
9486	6491	1	Early	7,16	163,17	12,08	0,77	12,85	50,01	5,39
9487	6590	2	Early	5,71	141,69	11,38	1,25	12,63	5,69	4,42
9488	9015	2	Early	9,27	238,10	15,30	1,67	16,97	10,66	7,43
9663	78	1	Late	9,09	206,46	12,21	2,74	14,94	29,13	3,80
9664	357	1	Late	6,02	143,19	9,87	1,19	11,06	15,40	3,62
9665	360	1	Late	4,59	106,56	8,73	0,83	9,56	14,34	3,45
9666	818	1	Early	5,41	141,53	9,68	1,31	10,98	5,92	2,56
9667	818	1	Late	5,68	151,52	10,25	1,43	11,67	6,86	6,98
9668	1186	1	Late	11,66	266,07	17,20	2,38	19,58	16,46	2,48
9669	2324	2	Late	5,94	139,86	9,87	1,31	11,17	16,63	2,74
9670	2472	1	Late	5,63	126,54	8,73	1,01	9,74	16,52	2,48
9671	2493	1	Late	8,41	196,47	9,04	1,37	10,41	12,89	4,07
9672	2556	2	Early	8,57	204,80	11,07	1,01	12,08	4,63	5,13
9673	2556	1	Late	5,97	131,54	14,48	0,89	15,37	11,89	3,80
9674	2324	1	Late	6,90	161,51	11,83	2,32	14,15	11,94	4,60

Journal-nr	ID	Ration	Early/Late	N _{ges} [g/l]	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hipursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
9675	2578	1	Early	5,66	136,53	13,34	1,73	15,07	12,56	2,92
9676	2578	1	Late	5,13	124,88	11,26	1,43	12,68	17,69	2,74
9677	2641	1	Early	7,77	166,50	12,84	0,77	13,61	13,51	4,77
9678	2641	1	Late	5,40	128,21	13,60	0,71	14,31	12,56	3,36
9679	2642	1	Late	4,36	106,56	8,66	0,77	9,44	4,13	1,59
9680	2642	1	Early	7,23	166,50	10,50	1,19	11,69	9,32	3,54
9681	2664	1	Early	5,72	119,88	10,94	1,43	12,37	10,55	2,92
9682	2670	1	Early	6,77	131,54	12,14	1,19	13,33	8,37	3,18
9683	2684	1	Early	6,33	143,19	14,74	1,01	15,75	7,98	3,45
9684	2684	1	Late	6,67	136,53	11,64	1,55	13,18	14,34	3,01
9685	2689	1	Early	5,84	113,22	7,91	0,95	8,86	7,09	3,18
9686	2698	1	Late	5,96	106,06	11,26	1,61	12,86	7,70	2,74
9687	2698	1	Early	6,22	114,89	24,16	1,55	25,71	20,09	4,42
9688	2711	2	Late	5,63	104,90	16,51	1,61	18,11	24,89	2,21
9689	2710	1	Early	4,99	108,23	33,52	1,13	34,65	2,96	3,18
9690	2736	2	Early	7,88	156,51	25,74	1,25	26,99	3,18	4,33
9691	2732	3	Late	4,15	91,58	7,84	0,89	8,73	12,50	2,30
9692	2736	2	Late	7,58	158,18	12,59	1,37	13,95	13,90	3,09
9693	2732	1	Early	7,08	153,18	18,78	1,07	19,85	5,02	4,24
9694	2739	2	Late	5,63	135,03	13,91	0,77	14,69	15,74	1,50
9695	2739	3	Late	6,30	136,53	13,91	0,71	14,63	12,72	2,21
9696	2807	2	Late	3,46	88,25	8,16	0,48	8,63	6,25	1,59
9697	2761	3	Late	4,09	89,91	11,70	1,43	13,13	7,26	1,68
9698	2807	3	Late	5,71	134,87	13,47	1,19	14,66	6,70	2,92
9699	2807	1	Early	3,98	101,57	13,79	0,89	14,68	4,63	2,12
9700	5349	3	Late	6,50	149,85	32,70	1,43	34,12	6,92	2,83
9701	5425	2	Late	7,63	178,16	20,36	2,02	22,39	12,39	4,24
9702	5494	3	Late	6,42	169,83	19,35	1,49	20,84	19,98	2,74
9703	5627	3	Late	7,81	181,49	15,12	2,08	17,20	14,12	4,24
9704	5494	1	Early	5,32	158,18	9,99	1,01	11,00	9,71	2,30
9705	5707	3	Late	7,72	208,13	20,49	2,14	22,63	13,51	2,65
9706	6427	3	Late	5,11	141,53	11,07	2,38	13,45	9,66	2,83

Journal-nr	ID	Ration	Early/Late	N _{ges} [g/l]	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hipursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
9707	5707	1	Early	6,31	161,51	20,81	2,91	23,72	12,17	3,89
9708	6491	3	Late	5,96	153,18	14,74	1,61	16,34	10,27	2,30
9709	6590	3	Late	6,15	159,84	10,75	2,02	12,77	12,56	2,56
9710	6590	1	Early	4,52	100,90	7,27	1,96	9,24	5,97	2,21
9711	9015	3	Late	7,39	188,15	5,88	2,08	7,96	23,44	3,09
9712	9016	3	Late	7,06	176,49	10,81	2,91	13,73	20,82	3,27
10165	2324	1	Early	5,31	124,88	21,69	1,61	23,30	10,27	3,80
10166	2511	1	Early	6,32	149,85	19,10	1,49	20,59	11,22	4,07
10167	2550	1	Early	5,51	128,21	20,93	1,61	22,54	10,21	3,62
10168	2511	1	Late	7,78	186,48	17,96	1,31	19,27	11,72	4,15
10169	357	1	Early	7,45	151,52	22,89	1,25	24,14	20,37	4,15
10170	1872	1	Early	6,75	151,52	34,09	1,49	35,58	13,17	4,86
10171	1186	1	Early	5,84	124,88	26,18	1,43	27,61	12,00	3,09
10172	2739	1	Late	3,93	116,55	3,54	0,59	4,14	10,66	1,86
10173	2722	1	Late	4,94	103,23	6,64	1,25	7,89	6,14	2,56
10174	5707	1	Late	6,41	121,55	10,12	1,43	11,55	9,38	3,89
10175	2761	1	Late	6,82	133,20	20,62	1,90	22,52	20,65	3,27
10176	5361	1	Late	3,95	96,57	7,02	1,01	8,03	7,76	1,86
10177	2889	3	Late	6,38	166,50	17,77	0,54	18,31	9,49	2,83
10178	5425	3	Late	6,25	154,85	4,87	1,37	6,24	8,09	3,71
10179	2710	1	Late	4,81	118,22	3,86	1,37	5,23	7,20	2,92
10180	2670	1	Late	6,34	149,85	18,66	1,67	20,32	18,25	3,62
10181	5440	3	Late	7,84	168,17	28,52	1,78	30,31	13,84	3,62
10182	2664	1	Late	5,95	143,19	18,97	1,31	20,28	11,44	2,92
10183	3798	3	Late	7,64	196,47	19,35	2,02	21,37	12,84	3,09
10184	2472	1	Early	5,06	139,86	16,38	0,59	16,97	12,17	3,09
10185	1872	1	Late	6,57	143,19	17,14	1,31	18,45	10,55	2,92
10186	2561	1	Late	5,87	108,23	7,59	1,07	8,66	27,57	2,65
10187	2736	3	Late	7,25	173,16	4,81	1,67	6,47	29,13	2,65
10188	9015	1	Early	7,60	209,79	8,16	0,89	9,05	21,49	2,83
10189	2807	1	Late	5,93	163,17	7,84	0,89	8,73	10,55	3,01
10190	5627	1	Late	5,54	123,21	6,45	1,37	7,82	10,32	3,45

Journal-nr	ID	Ration	Early/Late	N _{ges} [g/l]	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hipursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
10191	2889	1	Late	4,00	83,25	11,95	0,65	12,61	4,69	2,56
10192	9016	1	Early	4,82	96,57	16,95	1,49	18,44	11,22	3,45
10193	2711	1	Late	4,91	104,90	6,83	2,08	8,91	18,75	3,89
10194	2550	1	Late	5,73	138,20	16,13	1,19	17,32	12,89	3,45
10195	5440	1	Late	7,07	170,66	13,22	1,25	14,47	96,16	4,24
10196	6590	1	Late	8,56	208,62	7,84	2,08	9,92	12,17	3,62
10197	2761	3	Early	7,26	208,13	21,12	1,78	22,91	27,63	3,89
10198	5627	3	Early	7,43	206,46	11,00	1,73	12,73	14,57	3,71
10199	2889	3	Early	4,90	136,53	5,00	1,07	6,07	4,19	2,56
10200	2561	3	Late	7,05	164,00	17,96	1,90	19,86	28,41	2,92
10201	360	3	Late	8,99	248,09	13,85	0,95	14,80	12,39	4,15
10202	5425	1	Late	4,93	139,03	8,60	0,36	8,96	9,82	2,56
10203	3798	1	Late	5,13	124,88	8,92	1,25	10,17	11,27	2,21
10204	9015	1	Late	4,48	103,90	8,79	1,19	9,98	7,81	2,83
10205	2556	1	Early	5,41	133,20	9,93	1,13	11,06	10,21	3,18
10206	2739	3	Early	7,26	183,15	20,11	1,13	21,24	14,23	3,54
10207	2736	1	Late	4,58	109,89	14,99	0,95	15,94	6,75	2,48
10208	2689	1	Late	5,62	166,50	4,62	0,89	5,51	15,46	2,39
10209	360	1	Early	5,40	114,89	4,81	0,54	5,34	47,16	3,54
10210	5494	1	Late	3,93	84,58	9,93	0,83	10,76	9,77	1,77
10211	5349	1	Late	8,69	198,14	16,13	0,95	17,08	11,89	4,77
10212	2732	1	Late	4,54	114,72	9,42	0,89	10,32	8,59	2,12
10213	6491	1	Late	5,25	136,53	12,90	1,31	14,21	20,31	3,09
10214	9016	1	Late	8,69	221,45	6,83	2,26	9,09	11,55	3,98
10654	2493	1	Early	5,47	146,52	7,84	0,77	8,62	29,08	2,56
10655	3798	1	Early	7,06	199,80	16,70	0,89	17,59	32,37	4,07
10656	2511	2	Early	8,22	201,47	14,04	0,65	14,69	26,62	4,60
10657	5627	1	Early	4,57	134,87	11,38	0,83	12,22	11,16	2,21
10658	2689	3	Early	7,97	219,78	6,58	0,77	7,35	10,88	4,42
10659	2641	3	Early	8,55	239,76	8,16	0,83	8,99	13,39	5,83
10660	1186	3	Late	9,94	243,09	35,99	1,07	37,06	28,46	4,86
10661	2511	3	Early	6,25	176,49	12,52	1,07	13,59	17,02	3,98

Journal-nr	ID	Ration	Early/Late	N _{ges} [g/l]	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hipursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
10662	2698	3	Early	7,56	193,14	22,64	1,13	23,77	24,44	4,95
10663	2711	3	Early	6,97	216,45	8,03	1,31	9,34	14,62	4,33
10664	5707	2	Late	6,46	166,50	16,76	0,89	17,65	28,24	1,94
10665	818	3	Early	5,97	156,51	19,73	1,31	21,04	12,56	3,01
10666	2472	3	Early	6,37	139,86	24,41	0,71	25,13	32,03	3,80
10667	2710	3	Early	7,65	178,16	23,21	0,95	24,16	22,99	4,42
10668	2642	3	Early	5,20	109,89	14,29	0,65	14,95	17,75	2,12
10669	2550	3	Late	7,03	158,18	42,69	1,31	44,00	11,66	3,45
10670	2511	3	Late	6,92	163,17	25,17	1,49	26,66	11,22	3,80
10671	2511	2	Late	5,11	129,04	14,29	0,89	15,19	10,66	1,50
10672	2493	3	Early	6,48	143,19	22,77	0,95	23,72	11,39	3,45
10673	2689	3	Late	7,71	168,17	8,92	1,25	10,17	10,72	4,15
10674	9016	2	Early	5,28	124,88	26,06	0,71	26,77	8,71	3,01
10675	2722	3	Early	5,39	112,39	26,44	1,19	27,63	11,05	2,92
10676	5440	2	Late	4,99	127,21	17,20	0,59	17,80	16,02	2,21
10677	1872	2	Late	4,78	118,22	6,20	1,31	7,51	6,25	2,83
10678	2710	3	Late	6,21	139,86	10,69	0,95	11,64	15,57	2,39
10679	2578	3	Late	6,57	156,51	17,52	1,19	18,71	10,88	2,92
10680	2641	3	Late	9,62	245,59	17,52	0,83	18,35	10,60	6,19
10681	2698	3	Late	6,89	139,86	14,29	1,31	15,60	33,93	3,45
10682	2670	3	Late	8,24	199,80	24,29	1,49	25,77	24,11	5,13
10683	2732	3	Early	8,26	193,14	18,09	1,01	19,10	10,77	5,83
10684	2642	3	Late	6,42	141,53	6,26	1,07	7,33	26,73	2,65
10685	2664	3	Late	6,16	138,20	17,20	1,25	18,45	27,63	3,89
10686	6427	3	Early	6,19	143,19	12,33	1,37	13,70	9,99	3,18
10687	2556	3	Late	6,39	139,86	19,61	1,07	20,68	26,57	3,18
10688	2711	3	Late	6,47	169,83	12,65	1,37	14,02	15,07	3,54
10689	2493	3	Late	10,01	243,09	24,73	1,55	26,27	26,90	4,51
10690	2684	2	Late	7,42	208,13	16,70	0,95	17,65	17,97	2,92
10691	6590	3	Early	6,89	174,83	8,16	1,37	9,53	15,91	3,09
10692	2807	3	Early	6,27	173,16	17,14	1,13	18,27	14,06	2,30
10693	9015	3	Early	5,29	138,20	17,39	1,07	18,46	7,20	2,56

Journal-nr	ID	Ration	Early/Late	N _{ges} [g/l]	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hipursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
10694	5425	3	Early	9,94	266,40	21,19	1,37	22,55	14,23	5,30
10695	5440	3	Early	6,21	180,32	9,42	1,01	10,43	18,36	2,03
10696	9016	3	Early	7,90	188,15	32,19	1,25	33,44	35,55	2,92
10697	5349	3	Early	7,16	201,47	5,12	0,83	5,96	20,98	1,86
10698	5707	3	Early	4,02	98,24	13,53	1,90	15,44	13,12	0,62
10699	2736	3	Early	7,52	189,81	16,95	1,37	18,32	24,50	2,39
10700	5494	3	Early	6,46	153,18	5,06	1,19	6,25	10,21	1,24
10701	2664	3	Early	7,11	186,48	20,55	1,37	21,92	24,72	2,74
10702	360	3	Early	10,44	255,08	22,51	0,77	23,29	19,53	4,60
10703	5425	1	Early	9,10	214,79	15,05	1,25	16,30	18,31	4,07
11475	9016	2	Late	4,48	114,89	15,43	1,37	16,80	8,82	0,44
11476	818	2	Late	2,40	41,96	0,00	0,48	0,48	0,00	0,00
11477	2493	2	Late	7,42	164,84	16,25	1,07	17,32	12,45	2,03
11478	2472	2	Late	4,99	116,55	13,72	1,55	15,27	12,50	0,97
11479	78	3	Late	0,03	0,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11480	5361	2	Late	4,91	124,88	13,15	1,37	14,52	13,95	0,09
11481	5494	2	Late	7,76	163,17	17,39	1,78	19,18	36,78	2,03
11482	2561	2	Late	6,10	144,86	4,81	1,37	6,17	21,65	0,62
11483	3798	2	Late	4,88	119,88	13,53	1,25	14,78	8,04	0,80
11484	2578	2	Late	7,80	221,45	13,85	1,84	15,69	17,52	1,68
11485	78	2	Late	9,58	216,45	19,04	2,91	21,95	12,67	2,56
11486	5627	2	Late	6,31	160,67	8,41	1,37	9,78	9,21	2,74
11487	2689	2	Late	3,34	103,23	4,68	0,65	5,33	5,86	0,97
11488	1186	2	Late	7,85	183,15	13,91	1,13	15,04	49,84	1,86
11489	2761	2	Late	6,61	155,68	19,73	3,51	23,24	14,29	2,12
11490	6427	2	Late	5,54	129,04	15,49	2,14	17,64	13,51	2,30
11491	2722	2	Late	5,37	124,04	9,11	2,68	11,78	8,93	4,33
11492	9015	2	Late	9,57	216,45	16,51	2,26	18,77	22,60	3,54
11493	2889	2	Late	5,52	131,54	12,78	1,19	13,96	8,37	1,77
11494	2556	2	Late	6,75	158,18	13,47	2,14	15,61	10,99	2,92
11495	2710	2	Late	5,70	141,53	12,71	1,55	14,26	14,62	1,50
11496	2641	2	Late	5,56	133,20	13,91	0,95	14,87	9,93	1,94

Journal-nr	ID	Ration	Early/Late	N _{ges} [g/l]	Harnstoff [mmol/l]	Allantoin [mmol/l]	Harnsäure [mmol/l]	Summe PD [mmol/l]	Hipursäure [mmol/l]	Kreatinin [mmol/l]
11497	5349	2	Late	7,85	179,82	20,11	1,84	21,96	16,74	3,01
11498	2550	2	Late	8,39	178,16	22,89	3,21	26,11	26,68	3,62
11499	2670	2	Late	6,31	159,84	16,51	2,02	18,53	11,78	2,03
11500	6590	2	Late	4,10	101,57	6,58	1,67	8,24	7,09	1,24
11501	2472	3	Late	7,51	159,84	22,39	1,96	24,35	16,91	3,62
11502	360	2	Late	2,71	73,26	11,83	0,89	12,72	5,02	0,62
11503	2684	3	Late	6,69	141,53	25,17	2,20	27,37	11,89	2,92
11504	2664	2	Late	6,81	149,85	19,29	2,20	21,49	11,33	2,56
11505	2324	3	Late	3,44	81,59	6,26	1,67	7,93	5,69	0,71
11506	357	3	Late	10,51	228,11	22,96	1,84	24,80	18,58	6,28
11507	2722	3	Late	6,51	133,20	28,84	2,20	31,04	8,15	2,30
11508	2732	2	Late	4,51	98,24	5,82	1,13	6,95	5,53	0,88
11509	1872	3	Late	8,35	171,50	28,52	1,49	30,01	11,39	3,80
11510	2698	2	Late	4,70	118,22	15,56	1,67	17,22	6,36	0,88
11511	357	2	Late	6,81	159,84	7,72	1,13	8,85	11,22	2,21
11512	818	3	Late	6,84	146,52	13,79	2,62	16,40	13,62	2,12
11513	6491	2	Late	5,18	114,89	10,31	1,49	11,80	6,70	1,06
11514	357	3	Early	8,10	186,48	25,30	1,96	27,26	10,05	4,95
11515	2324	3	Early	7,09	146,52	22,20	1,96	24,16	7,98	2,92
11516	2550	3	Early	7,20	151,52	24,54	1,73	26,26	11,33	1,94
11517	6491	3	Early	6,62	158,18	21,00	2,38	23,38	5,36	2,56
11518	3798	3	Early	9,16	199,80	15,94	2,08	18,02	18,98	3,89
11519	2684	3	Early	7,68	174,83	13,53	1,67	15,20	14,40	4,69
11520	2578	3	Early	6,53	144,86	7,46	1,84	9,31	13,51	2,30
11521	1186	3	Early	8,02	194,81	17,33	2,68	20,01	7,53	3,18
11522	1872	3	Early	7,17	156,51	16,82	2,68	19,50	10,66	3,36
11523	2561	3	Early	7,36	171,50	15,94	2,02	17,96	12,17	2,83
11524	2556	3	Early	5,22	113,22	11,26	3,15	14,41	6,92	2,74
11525	78	3	Early	7,82	203,13	32,19	2,26	34,45	7,03	3,71
11526	2670	3	Early	9,75	238,10	37,82	2,91	40,73	11,39	5,04

Danksagung

Folgenden Personen möchte ich danken:

Frau Prof. Dr. Schuldt für die sehr gute Betreuung von Seiten der Hochschule und die konstruktive Kritik, die zum Gelingen dieser Arbeit führte.

Herr Dr. Richardt dass er mir dieses Thema gab und mich seitens der LKS GmbH betreute.

Der LKS GmbH für Übernahme der Kosten für die Probenvorbereitung und Auswertung.

Den Angestellten des Labors für die Harnuntersuchung und Datenauswertung. Mein besonderer Dank gilt hierbei Frau Dipl. troph. Wein für die Betreuung im Labor und die guten Ratschläge.

Meinen Eltern möchte ich danken, weil sie mir dieses Studium ermöglicht haben und immer an mich glaubten.

Meinem Freund Arne dafür, dass er mir zur Seite stand und mich immer zu Höchstleistungen anspornte.

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides Statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.

Ort, Datum

Unterschrift