



Hochschule Neubrandenburg  
University of Applied Sciences

## **Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften**

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

### **Thema:**

-Einfluss von Vitamin E auf die Pansenfermentation und die  
mikrobielle Proteinsynthese -

**vorgelegt von:** Britta Krey

**Studiengang:** Agrarwirtschaft

**URN:** urn:nbn:de:gbv:519-thesis 2016-0214-0

**1. Prüfer:** Professorin Dr. sc. agr. Anke Schuldt

**2. Prüfer:** Dr. Ulrich Meyer

- -

Inhalt

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	2
Abbildungsverzeichnis .....	3
Tabellenverzeichnis .....	3
Abkürzungsverzeichnis .....	4
1. Einleitung .....	7
2. Literaturübersicht .....	8
2.1 Pansenstoffwechsel und mikrobielle Proteinsynthese .....	8
2.1.1 Pansenstoffwechsel und Funktion der Pansenmikroorganismen.....	8
2.1.2 Mikrobielle Proteinsynthese .....	12
2.2 Absorption und Funktion Vitamin E.....	14
2.2.1 chemische-biologische Grundlagen Vitamin E.....	14
2.2.2 Bedeutung von Vitamin E in der Milchviehfütterung.....	17
3. Fragestellung und Zielsetzung .....	19
4. Material und Methoden .....	20
4.1 Fütterung.....	20
4.2 Probenahme, Markerapplikation und Futteraufnahme .....	21
4.3 Probenaufbereitung und chemische Analysemethoden.....	23
4.4 Berechnungen / Formeln.....	27
4.5 Statistische Auswertung.....	31
5. Ergebnisse .....	32
6. Diskussion.....	39
7. Schlussfolgerung .....	43
8. Zusammenfassung .....	45
9. Summary.....	46
10. Literaturverzeichnis.....	48
Anhang .....	55
Danksagung.....	56
Eidesstattliche Erklärung .....	56

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verdauungssystem Wiederkäuer (IDEL, A., 2011).....	9
Abbildung 2: Ablauf der ruminalen mikrobiellen Proteinsynthese (Tamminga, 1979).....	12
Abbildung 3: Vitamin E (SCHERF et al., 1996).....	14
Abbildung 4: Vitamin E Stoffwechsel Wiederkäuer (ZEILER, E. ,2010).....	16
Abbildung 5: Zeitlicher Ablauf der Markereingabe, Duoedenalchymussammlung sowie Pansensaftentnahme zwischen dem 50. Und 70 Laktationstag.....	22
Abbildung 6: Probenaufbereitung und Prüfung der Repräsentativität zur Ausgangsprobe des abgefüllten Probenmaterials.....	24

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Biologische Wirksamkeit verschiedener Vitamin E- Verbindungen (MCDOWELL, 2000).....	15
Tabelle 2: Empfehlungen zur Versorgung von Milchkühen mit Vitamin E (GFE, 2001).....	17
Tabelle 3: Rationszusammenstezung während des Versuchszeitraums .....	21
Tabelle 4: Zusammensetzung des Kraffutters.....	21
Tabelle 5: Inhaltsstoffe der Rationskomponenten mit den Angaben Trockenmasse (T), Rohasche (XA), Rohfaser (XF), Rohfett (XL), Säure-Detergenz-Faser (ADF), Neutrale-Detergenz-Faser (NDF), Netto-Energie-Laktation (NEL) und umsetzbare Energie (ME).....	33
Tabelle 6: Trockenmasseaufnahmen (T-Aufnahme), Milchleistung und Milchinhaltstoffe (Mittelwerte $\pm$ Standartabweichung) während der 5 tägigen Duoedenalchymus Sammelperiode. ....	34
Tabelle 7: Angaben zur organischen Masse Aufnahme (OM-Aufnahme), zum duodenalen Trockenmassefluss, der OM am Duodenum, der fermentierten organischen Masse (FOM) im Pansen und T-Verdaulichkeit (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung) .....	35
Tabelle 8: Angaben zum Stickstofffluss, wie Mikrobieller-Stickstoff (Mikrobieller N), Nicht-Ammoniak-Stickstoff-Fluss (NAN-Fluss), nutzbares Rohprotein (nXP), unabbaubares Rohprotein (UDP), Pansenverdauliches Protein (RDP), Ruminale-	

Stickstoff-Bilanz (RNB), Ruminale-Stickstoff-Bilanz bezogen auf die metabolisierbare Energie (RNB/ME), (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).....	36
Tabelle 9: Angaben zur Mikrobiellen Rohproteinsynthese und-effizienz, mit mikrobiellen Rohprotein (MP), Mikrobielles Rohprotein pro Metabolische Energie (MP per ME), Mikrobielles Rohprotein pro fermentierter organischer Masse (MP per FOM) und Mikrobielles Rohprotein pro Pansen abbaubaren Rohprotein (MP per RDP) (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).....	37
Tabelle 10: Angaben zu den Flüchtigen Fettsäuren (FFS), und der Protozoenkonzentration in der Pansenflüssigkeit (Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung).....	38
Tabelle 11: Mittlere Trockensubstanzaufnahmen der Einzeltiere (T-Aufnahme) ..	55
Tabelle 12: Mittlere tägliche Milchleistung und Milchinhaltstoffe pro Tier.....	55
Tabelle 13: Laktationsnummer.....	55

### Abkürzungsverzeichnis

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ammoniumsulfat
ADFom	Säure Detergenzienfaser (acid detergent fibre)
Al <sub>2</sub> [SO <sub>4</sub> ] <sub>3</sub> x H <sub>2</sub> O	Aluminiumsulfat-Hydrat
CaCl <sub>2</sub> -Lsg	Calciumchlorid-2-hydrat-Lösung
CLA	konjugierte Linolsäuren
cm	Zentimeter
Cr	Chrom
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Chrom(III)oxid
DLG	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft
ECM	Energie korrigierte Milch (energy corrected milk)
FMV	Futtermittel-Verordnung
FOM	fermentierte organische Masse (fermented organic matter)
FS	Frischsubstanz
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Schwefelsäure
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> MnSO <sub>4</sub> -Lsg.	Phosphorsäure-Mangansulfat-Lösung
ICP OES	Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppelten

	Plasma (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)
KON	Kontrollgruppe
KBrO3-Lsg	Kaliumbromat-Lösung
kg	Kilogramm
l	Liter
min	Minute
MJ	Mega Joule
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
MN	mikrobieller Stickstoff
N	Stickstoff
n	Anzahl
NAN	Nicht Ammoniak Stickstoff
NaOH	Natronlauge
NDFom	Neutrale Detergenzienfaser (neutral detergent fibre)
NEL	Netto Energie Laktation
NH3	Ammoniak
NIRS	Nahinfrarotspektroskopie (Near-Infrared Spectroscopy)
nm	Nanometer
NPN	Nicht Protein Stickstoff (non protein nitrogen)
nXP	nutzbares Rohprotein am Duodenum
ME	umsetzbare Energie
mg	Milligram
OM	Organische Masse (organic matter)
p	Signifikanzniveau
ppm	parts per million
RDP	Pansenabbaubares Protein (rumen degradable protein)
RNB	Ruminale Stickstoff Bilanz
SCFA	kurzkettige Fettsäuren
T	Trockenmasse/Trockensubstanz (dry matter)
TMR	Totale Misch Ration (total mixed ration)
UDP	im Pansen nicht abbaubares Futterprotein

Vit. E	Vitamin E
XA	Rohasche
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein

## 1. Einleitung

Die moderne Milchviehhaltung ist von starken Leistungssteigerungen durch Fortschritte in den Bereichen Züchtung, Haltung, Management und Fütterung geprägt. Eine bedarfsgerechte an die Milchleistung angepasste Fütterung ist daher eine Grundvoraussetzung um den Gesundheitsstatus der Hochleistungstiere sicher zu stellen (FLACHOWSKY, MEYER und LEBZIEN, 2002). Bei Milchkühen findet das nutzbare Rohprotein (nXP) am Duodenum als Bewertungsmaßstab der Proteinversorgung Anwendung (LEBZIEN und VOIGT, 1999). Das mikrobielle Rohprotein ist als Bestandteil des nXP eine wichtige Kenngröße im Proteinbewertungssystem der Milchkuh und deshalb ist es wichtig die Proteinumsetzung im Pansen genauer zu betrachten. Die Vergangenheit hat gezeigt, dass schon geringe Mengen von bestimmten Mikronährstoffen, wie Vitamin E großen Einfluss auf den Wiederkäuer-Stoffwechsel haben (ZEILER, 2010). Eine Supplementierung von Vitamin E (Tocopherolen) in der Ration kann aufgrund des antioxidativen Potentials und der Wirkungen auf Zellmembranen (Zellschutz) zur Verringerung des somatischen Zellgehaltes in der Milch beitragen (GFE, 2001). Somit ist eine Zufütterung von synthetisch hergestellten Vitamin E in bestimmten Situationen sinnvoll (GFE, 2001). Es sind jedoch wenige Studien verfügbar, welche die Vitamin E Wirkungen auf den Pansenstoffwechsel untersuchen. Deshalb soll in der folgenden Arbeit der Einfluss von Vitamin E auf den Pansenstoffwechsel und die mikrobielle Rohproteinroteinsynthese untersucht werden.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 Pansenstoffwechsel und mikrobielle Proteinsynthese

#### 2.1.1 Pansenstoffwechsel und Funktion der Pansenmikroorganismen

Hinsichtlich der Nährstoffverwertung beim Wiederkäuer spielt die Ausbildung des Vormagensystems eine bedeutsame Rolle. Das Rind als landwirtschaftliches Nutztier gehört zu den Herbivoren und unterscheidet sich hinsichtlich seiner Verdauungsphysiologie von monogastrischen Nutztieren. Die vom Rind aufgenommene Nahrung wird rejiziert, wiedergekaut und erneut ab geschluckt. Der Pansen ist der erste von insgesamt vier Mägen des Rindes (Rumen, Retikulum, Omasum, Abomasum) (siehe Abbildung 1). Er wird auch als Gärkammer bezeichnet und liegt in der linken Körperhälfte. Sein Fassungsvermögen beträgt 150-180 Liter. Der Pansen wird unterteilt in dorsalen (zum Rücken gerichtet) und ventralen (bauchwärts) Pansensack sowie kranialer (zum Kopf hin) und kaudaler (schwanzwärts) Blindsack (LOEFFLER und GABEL, 2009). Das Gesamt Fassungsvermögen in kg Futterfrischmasse beträgt zwischen 50 und 60 kg. Ausgekleidet ist die Panseninnenwand mit Schleimhaut und Pansenzotten (PFEIFFER, 1987 und LEBZIEN, 2005). Im Pansen unterliegt die Nahrung dann verschiedenen mikrobiellen Ab- und Umbauprozessen (PÜSCHNER und SIMON, 1988; VAN SOEST, 1994.) Über Pansenzotten werden die im Pansen gebildeten Abbauprodukte wie Ammoniak, kurzkettige Fettsäuren (SCFA) sowie Mineralstoffe resorbiert. Damit die Mikroorganismen im Pansen durch Fermentation und Syntheseleistungen hochwertige Nährstoffe zu Verfügung stellen können, muss das Tier in Symbiose treten. Eine Invariante Körpertemperatur, Substratverfügbarkeit aus Futter und endogenen Sekreten, Sicherung der Fließkonstante durch Speichelausscheidung und Partikelabgabe müssen vom Tier sichergestellt werden (VON ENGELHARDT und BREVES, 2000). Die Hauptakteure im Pansenmetabolismus sind die Pansenmikroorganismen (RUSSEL und HESPELL 1981, VAN SOEST, 1994). Pansenmikroorganismen werden differenziert in Bakterien, Pilze, Protozoen, Bakteriophagen und Archaeen (VON ENGELHARDT und BREVES, 2000). Zwischen den Pansenmikroorganismen bestehen antagonistische Wechselwirkungen. Den größten Anteil machen die Bakterien mit einer Konzentration von circa  $10^{10}$  je ml Pansensaft aus. Die zweite Gruppe der Pansenmikroorganismen stellen die Protozoen dar. Diese spielen eine bedeutsame Rolle, da sie zur Intensivierung der Pansenfermentation führen. Ihren

Nährstoffbedarf decken die Pansenprotozoen nicht allein über die Aufnahme von Futterpartikeln, sondern auch über Bakterien und Pilze und halten somit die Bakterienpopulation im Gleichgewicht (COLEMAN, 1995). Die gesamte Mikroflora im Vormagensystem umfasst  $10^{10}$  bis  $10^{11}$  Bakterien und ungefähr  $10^6$  Protozoen pro ml Pansensaft (ENGELHARDT und BREVES, 2000). Durch Fütterungsbedingte Einflüsse wie z.B. Hohe Krafffutter und Proteingehalte kann es zu Änderungen bei der Zusammensetzung der Mikrobenpopulation kommen. Laut PFEIFFER (1987) steigt die Artenvielfalt der Mikroflora im Pansen durch eine rauhfaserreiche Futterrations deutlich an. Im Gegenzug wirken hohe Krafffuttergaben vermindern auf die Artenvielfalt der Mikroflora. Die Protozoenzahl erhöht sich, wenn viele leicht verdaubare Kohlenhydrate zur Verfügung stehen, dieser Vorgang wird aber wieder reguliert durch den pH-Wertabfall. Die Art und Herkunft der Kohlenhydrate kann gleichermaßen Einfluss auf die Menge der vorhandenen Protozoen haben (EADIE et al., 1970). Zusammenfassend können Faktoren wie Futterzusammensetzung, Höhe der Futteraufnahme sowie tierindividuelle physiologische Unterschiede Einfluss auf Pansenmikroorganismen bzw. die Gesamtflora nehmen und den Verdauungsprozess beeinflussen (RUSSEL und HESPELL, 1981).

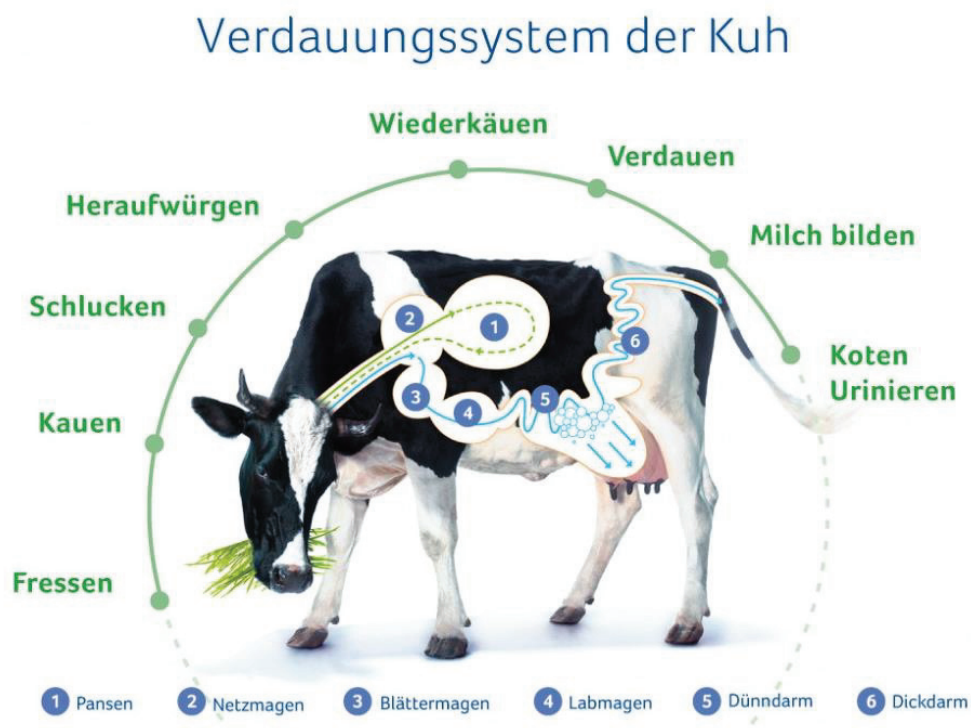


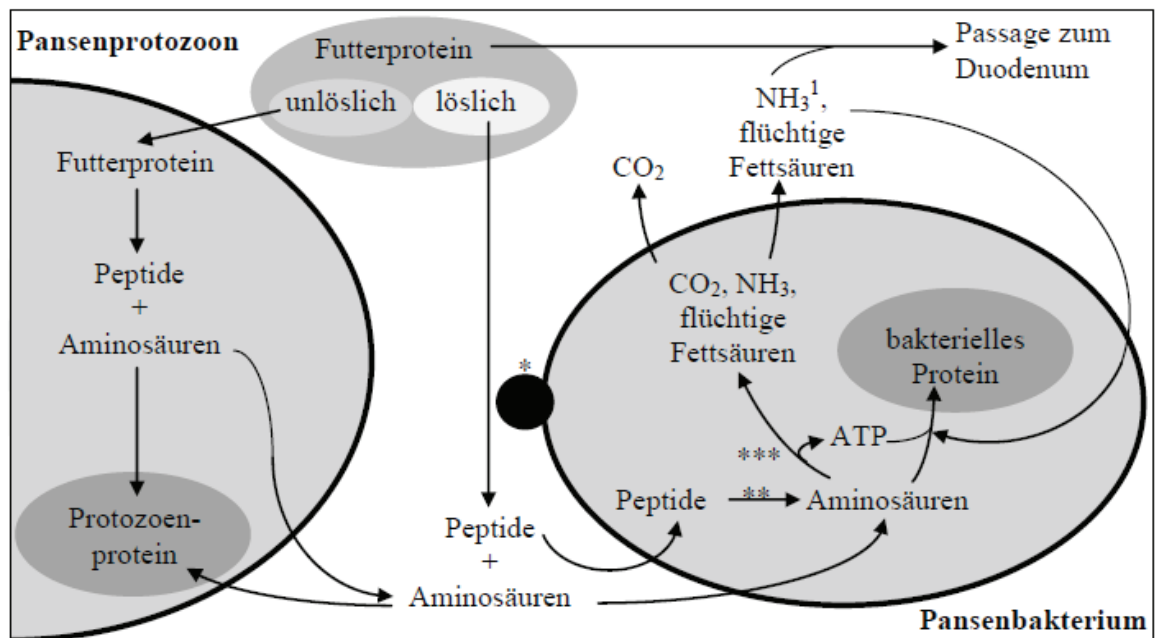
Abbildung 1: Verdauungssystem Wiederkäuer (IDEL, A., 2011).

Um den Energiebedarf für die Erhaltung und Leistung zu sichern werden Zellwandbestandteile und Kohlenhydrate durch mikrobiellen Abbau in kurzkettige Fettsäuren umgewandelt. Bei dem Abbau von Kohlenhydraten durch Mikroben wird in Strukturkohlenhydrate und Nicht-Strukturkohlenhydrate unterschieden. Nicht Strukturkohlenhydrate sind aus Zucker und Stärke zusammengesetzt und werden extrazellulär durch Enzyme amylytischer Bakterien und nicht amylytische Enzymen abgebaut (FRENCH, 1973). Es entstehen flüchtige Fettsäuren, Methan und  $\text{CO}_2$ . Diese werden als Energiequelle zur Gluconeogenese und zur Körperfett oder Milchfettbildung genutzt. Die Strukturkohlenhydrate bzw. pflanzliche Zellwandkohlenhydrate können nur durch die Mikroorganismen abgebaut werden, da Wiederkäuer nicht in der Lage sind  $\beta$ -glycosidische Bindungen mit Hilfe körpereigener Enzyme zu spalten. Die Pansenbakterien produzieren durch hydrolytische Aufspaltung der Zellulose und Hemicellulose Monomere, die über weitere Prozesse zu Pyruvat zu kurzkettigen Fettsäuren wie Acetat, Propionat und Butyrat umgebaut werden (VON ENGELHARDT und BREVES 2000). Das Verhältnis von Acetat (Essigsäure), Propionat (Propionsäure) und Butyrat (Buttersäure) ist abhängig von der Rationszusammensetzung und kann sich auf den Milchfettgehalt auswirken (ORTH und KAUFMANN, 1961). Die vom Wiederkäuer über das Futter aufgenommen Proteine und Stickstoffverbindungen unterlaufen im Pansen vielfältigen Umwandlungsprozessen und stehen dann zum größten Teil im Dünndarm als nutzbares Rohprotein zur Deckung des Rohproteinbedarfs zu Verfügung (LEBZIEN und VOIGT, 1999). Als Endprodukte entstehen beim Proteinstoffwechsel vornehmlich Aminosäuren und Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ). Ein Teil des Futterproteins wird im Pansen nicht umgebaut und gelangt direkt in Labmagen und Dünndarm. Dieses Protein wird als Durchflussprotein oder UDP bezeichnet (LEBZIEN und VOIGT, 1999). Parallel zu den Abbauprozessen von Aminosäuren und Proteinen erfolgt die Synthese von Mikrobenprotein. Als Stickstoffquelle für diesen Prozess stehen neben Ammoniak auch NPN Verbindungen zur Verfügung. Das im Pansen entstandene Ammoniak wird nur in Teilen zur Eiweißsynthese genutzt, sondern passiert die Pansenwand und diffundiert entlang eines Konzentrationsgefälles vom Gastrointestinaltrakt ins Blut. Es ist bekannt das Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) eine zelltoxische Wirkung aufweist, daher wird er bei Überschuss in der Leber zu Harnstoff umgewandelt und über den Urin ausgeschieden. Ein Teil gelangt wiederum über die Speichelflüssigkeit und den Futterbrei in den Pansen. Im

Pansen wird der Harnstoff dann wieder zum Ammoniak umgebaut und steht wieder als Stickstoffquelle zur Verfügung. Dieser Zyklus wird auch als Rumino-Hepatischer-Kreislauf bezeichnet und verdeutlicht die Effizienz des Wiederkäuerstoffwechsels (STANGL, 2011). Besteht bei der Milchkuh eine Kohlenhydrat-hypoxie, bei gleichzeitig hohen Mengen von Stickstoff kommt es zu einer vermehrten N-Ausscheidung. Das hat zu Folge, dass die benötigte Energie zur Eiweißsynthese fehlt. Circa 50% des intermediär produzierten Harnstoffs stammen aus dem Rumino-Hepatischen-Kreislauf. Das Ausmaß des durch den rumino-hepatischen Kreislauf produzierten Harnstoff hängt von der Menge des zugeführten Rohprotein ab (BAILEY et al., 2012). Denn wichtigsten Parameter bei der Nährstoffversorgung von Hochleistungskühen stellt jedoch die Proteinversorgung am Duodenum da und wird unter dem Punkt mikrobielle Proteinsynthese genauer beschrieben.

## 2.1.2 Mikrobielle Proteinsynthese

Neben der Fähigkeit, die in pflanzlichen Futterstoffen in großen Mengen vorkommenden Zellwandbestandteile Cellulose und Hemicellulose abzubauen, sind die Pansenmikroorganismen in der Lage, durch Proteinsynthese dem Wiederkäuer hochwertige Proteine zur Verfügung zu stellen. Einige Studien zeigen, dass der größte Anteil des Stickstoffs im mikrobiellen Rohprotein aus dem vorhandenen Ammoniak im Pansen stammt. Das bedeutet Wiederkäuer sind in der Lage ohne Futterprotein und nur mit Hilfe von NPN- Verbindungen ihr Leistungsspektrum zu erfüllen (VITRANNEN, 1966 und OLTJEN, 1969). Dies zeigt, dass die mikrobielle Proteinsynthese maßgeblich für die Proteinversorgung des Wiederkäuers verantwortlich ist.



**Abbildung 2: Ablauf der ruminalen mikrobiellen Proteinsynthese (Tamminga, 1979)**

Im ruminalen mikrobiellen Proteinmetabolismus (siehe Abbildung 2.) bauen die Pansenbakterien die Proteine extrazellulär zu Peptiden und Aminosäuren ab. Dieser Vorgang wird auch als Proteolyse bezeichnet. Auf diesen Vorgang folgt die Peptidiolyse, dabei werden die Peptide absorbiert und intrazellulär in Aminosäuren zerlegt (TAMMINGA, 1979). Die Aminosäuren werden dann auch zur Energiegewinnung der mikrobiellen Proteinsynthese genutzt. Die Energie steht in Form von ATP (Adenosintriphosphat) zur Verfügung. Der größte Anteil dieser Energie stammt

jedoch aus der anaeroben Reduktion von Kohlenhydraten im Pansenmetabolismus (ENGELHARDT, 2000). Parallel kommt es zum Aufbau und zur Resorption von kurzkettigen Fettsäuren, Kohlenstoffdioxid und zur Desaminierung (Abspalten einer Aminogruppe) von Ammoniak. Nimmt der Organismus zu viele Aminosäuren auf, können diese nur nach Reduktion zu Ammoniak resorbiert werden (TAMMINGA, 1979). Nicht fixiertes Ammoniak kann dann wieder durch die Pansenwand absorbiert und in der Leber zu Harnstoff umgebaut werden. Für den Umsatz von mikrobiellem Protein sind die Protozoen verantwortlich. Neben dem Aufnehmen von unlöslichem Futterprotein nutzen Sie vorrangig mikrobielles Protein. Durch die intrazelluläre Proteolyse werden Aminosäuren freigesetzt und die Protozoen nutzen diese dann direkt zur Proteinsynthese (BONHOMME, 1990). Eine wesentliche Rolle spielt die Menge an Stickstoff im Pansen. Er wird oft als begrenzender Faktor für die mikrobielle Proteinsynthese beschrieben (LEBZIEN et al., 2006). Zur hinreichenden Versorgung der Pansenmikroben mit N sollte der Rohproteingehalt in der Ration bei Milchkühen zwischen 140-165 g/kg T liegen. Das nutzbare Roprotein wird daher als Maßstab der Eiweißversorgung von Milchkühen am Duodenum angegeben (LEBZIEN und VOIGT, 1999). Nach Studien von TAMMINGA et al. (1979) und MABJEESH et al. (1997) führt ein erhöhter Anstieg der verfügbaren Stickstoffmenge im Pansen zu einer starken Minderung der Proteinsyntheseleistung. Bei weiteren Versuchen mit Fistelkühen konnte eine Korrelation zwischen ruminal verfügbarem Rohprotein (XP) zu ruminal verfügbarer Energie durch den Abbau von Nicht-Strukturkohlenhydraten festgesellt werden. Das heißt bei steigender Menge von Nicht-Strukturkohlenhydraten ist die Verdaulichkeit an ruminal abbaubaren Protein im Pansen höher als bei niedrigen Gehalten und damit erhöht sich die Effizienz der Proteinsynthese (MABJEESH et al., 1997). Es gibt zahlreiche Methoden zur Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese. Man unterscheidet in vivo und in vitro Verfahren. Mit Hilfe eines Marker auf Chrom-Basis kann der duodenale Trockenmassefluss, der Nicht-Ammoniak-Stickstoff (NAN) Fluss am Duodenum und der mikrobielle N-Anteil am NAN quantifiziert werden (BRANDT et al., 1981). Durch Infrarot-Spektroskopie wird der Anteil des Mikrobenprotein in Chymus berechnet (LEBZIEN und PAUL, 1997). Laut einigen Studien von LEBZIEN et al. (2006) sind 20-80% der Proteine die am Duodenum ankommen mikrobiellen Ursprungs.

## 2.2 Absorption und Funktion Vitamin E

### 2.2.1 chemische-biologische Grundlagen Vitamin E

Vitamin E ist der Oberbegriff der acht pflanzlichen und fettlöslichen Tocopherol und Tocotrienolen Verbindungen, die Unterschiede in Wirksamkeit und Aktivität aufweisen (FLACHOWSKY et al., 1997). Der strukturelle Aufbau der Tocopherole und Tocotrienole setzt sich aus einem Chromanolring (6 C Atome) zusammen. Die Anordnung des natürlichen Tocopherols ist 2'R, 4'R, 8'R. Die Struktur des  $\alpha$ -Tocopherols wird als RRR-Form bezeichnet, da sie an den Positionen 2, 4 und 8 der Phytolseite jeweils eine Methylgruppe aufweist (siehe Abbildung 3) (SCHERF et al., 1996).

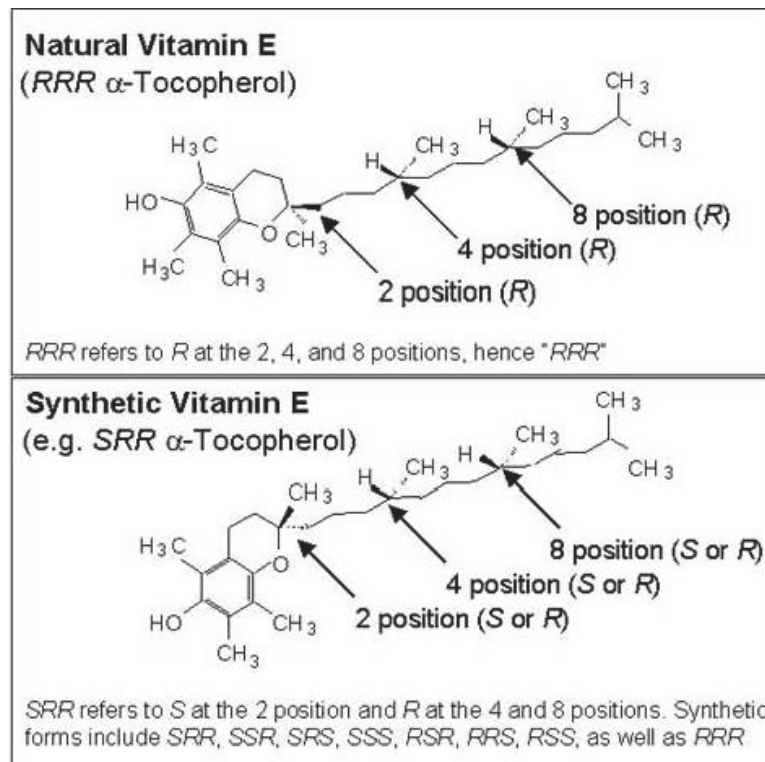


Abbildung 3: Vitamin E (SCHERF et al., 1996)

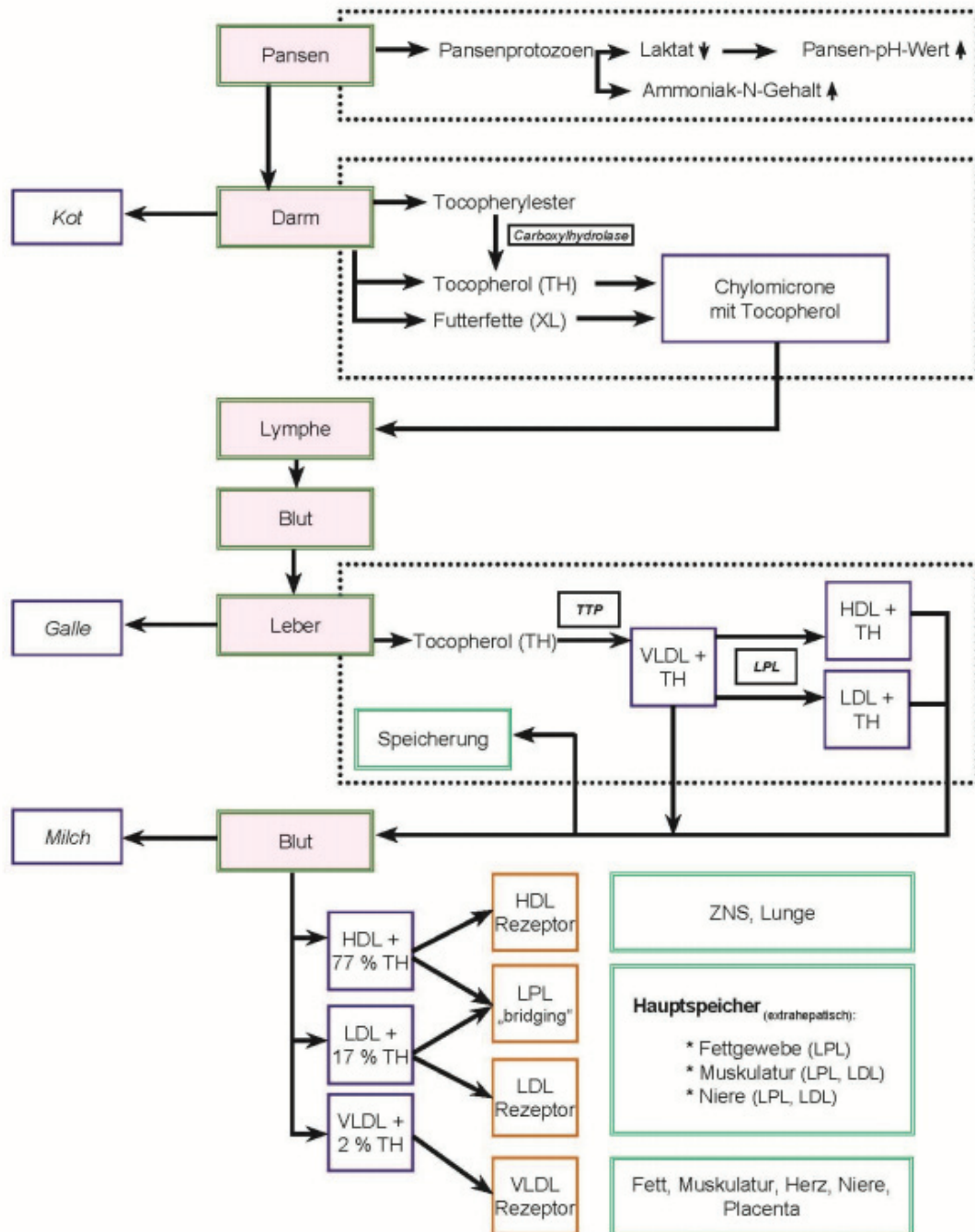
Die Problematik bei den natürlich vorkommenden Tocopherolen ist jedoch, dass diese sehr instabil sind. Die Folge dieser Instabilität sind hohe Verluste beim Trocknen, Lagern und Verarbeiten der Futtermittel (GFE, 2001). Die in Pflanzen vorkommenden Tocopherole sind  $\alpha$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -Tocopherole (PARKER, 1989). Die genannten Tocopherole weisen jeweils unterschiedliche biologische Wirksamkeiten auf (siehe Tabelle 1). Für die Fütterung von Wiederkäuern wird synthetisches dl- $\alpha$

Tocopherolacetat produziert und als Mischfutterzusatz eingesetzt (siehe Abbildung 3) (GFE, 2001).

**Tabelle 1: Biologische Wirksamkeit verschiedener Vitamin E- Verbindungen (MCDOWELL, 2000)**

$\alpha$ - Tocopherol	100 %
$\beta$ - Tocopherol	15- 40 %
$\gamma$ - Tocopherol	1-20%
$\delta$ - Tocopherol	1%
$\alpha$ - Tocotrienol	15-30%
$\beta$ - Tocotrienol	1-5%
$\gamma$ - Tocotrienol	1%
$\delta$ - Tocotrienol	1%

Eine deutliche höhere biologische Aktivität weisen die natürlichen Tocopherole auf. Diese können besser absorbiert werden (FLACHOWSKY et al., 1997). Tocopherole werden beim Wiederkäuer vor der Absorption im Duodenum durch eine pankreatische Carboxyhydrolase aufgespalten (ZEILER, 2010 und BRAMLEY et al., 2000). Laut GASSMANN (1995) wird die Vitamin E Resorption zu einem großen Teil von Art und Menge der aufgenommenen Fettsäuren bestimmt. Nach Einbau in die Mizellen werden die Tocopherole resorbiert und mit der Lymphe in den Chylomikronen aus der Darmschleimhaut weitertransportiert und in den Blutkreislauf abgeführt. Die Speicherung von Vitamin E findet vorwiegend in Leber und Fettgewebe statt. Über das Blut kann die gegenwärtige Vitamin E Versorgung bestimmt werden. Die konstante Versorgung von Vitamin E wird über Muskel, Leber und Depotfett ermittelt (LAFAMME und HIDIROGLOU, 1991) (siehe Abbildung 4.).



**Abbildung 4: Vitamin E Stoffwechsel Wiederkäuer (ZEILER, E. ,2010)**

Vitamin E werden vielfältige Aufgaben im Wiederkäuerstoffwechsel zugesprochen; eine antioxidative Wirkung sowie Zellmembranschutz, regulatorische Wirkung bei der Proteinsynthese, stimulierende Wirkung bei der Antikörperbildung, Förderung der Absorption von Aminosäuren und Fetten (SCHERF et al., 1996 und SCHNEIDER, 2005). Hohe Gehalte von Vitamin E weisen Gräser Leguminosen und Hackfrüchte auf. Der Gehalt sinkt in Abhängigkeit des Konservierungsverfahrens

und mit zunehmendem Reifegrad. Die Konzentration von Vitamin E ist in fachgerecht silierten Grassilagen meist ausreichend, jedoch kann es vor allem in der Winterfütterung zu Vitamin E Mangelsituationen kommen. Da Gräser reich an ungesättigten Fettsäuren sind, kann eine Oxidation durch Vitamin E gehemmt werden. Um diese Radikalkettenreaktion zu stoppen spaltet Vitamin E ein H-Atom aus der OH-Gruppe am Chromanring ab und schützt somit ungesättigte Fettsäuren vor Lipidperoxidationen (MCDOWELL et al., 1996). Hohe Gehalte an freien Radikalen können zu hochgradigen Schäden auf zellulärer und subzellularer Ebene im Organismus führen. Die bedarfsgerechte Fütterung von Vitamin E ist dadurch unerlässlich (MARDONES und RIGOTTI, 2004). Unterschieden wird bei der Versorgungsempfehlung von Vitamin E zwischen Minimalbedarf (Vermeidung von Vitamin spezifischen Mangelsymptomen), Optimalbedarf (ausreichende Versorgung für volle Leistungsfähigkeit) und Empfehlung zur Versorgung (Optimalbedarf mit Sicherheitszuschlag). In Tabelle 2 ist eine Vitamin E Versorgungsempfehlung nach GFE (2001) wiedergegeben.

**Tabelle 2: Empfehlungen zur Versorgung von Milchkühen mit Vitamin E (GFE, 2001)**

Empfehlungen	mg je Tier und Tag	mg je kg Futter- T
Laktierende Kuh	500	25
Trockenstehende Kuh	500	50

Wie zu sehen liegt die optimale Vitamin E Versorgung bei einer laktierenden Milchkuh bei 25 und bei einer trockenstehenden Kuh bei 50 mg je kg Futter-T.

### **2.2.2 Bedeutung von Vitamin E in der Milchviehfütterung**

Einen bedeutenden Stellenwert bei der Nährstoffverwertung beim Wiederkäuer spielen die Pansenmikroorganismen. Diese sind zuständig für die Umsetzung von pflanzlichen Gerüstsubstanzen und Stickstoff (COLEMAN, 1980). Die Pansenmikroorganismen sind in der Lage bestimmte Mengen an Vitamine K und B zu synthetisieren. Wodurch Mangelsymptome durch nicht bedarfsgerechte Mengen an Vitamin K und B in der Fütterung ausgeschlossen werden können (WILLIAMS und

COLEMAN, 1992). Vitamin E hingegen muss über das Futter aufgenommen werden. Die Pansenmikroorganismen sind nicht in der Lage Vitamin E selber zu synthetisieren. Aus verschiedenen Futtermittelanalysen geht hervor, dass in allen Futtermitteln geringe Mengen an Vitamin E enthalten sind und dementsprechend Mangelsymptome ausgeschlossen werden können (NAZIROGLU et al., 2002). Bei der Ergänzung von Vitamin E in verschiedenen Futterrationen wurde festgestellt, dass die Pansenprotozoendichte ansteigt und somit die Menge an produzierten Ammoniak-Stickstoff sich erhöht (HINO et al., 1993. NAZIROGLU et al., 2002). Dadurch, dass die höhere Dichte an Pansenprotozoen ebenfalls eine senkende Wirkung des Laktatgehalt im Pansen bewirkt, kann das Risiko einer Pansenazidose durch Fütterung von Vitamin E gesenkt werden. Der Laktatgehalt sinkt, da die Pansenprotozoen das Laktat schneller abbauen als die Pansenbakterien Laktat produzieren können (WILLIAMS und COLEMAN, 1992). Auf diese Weise steigt der Essigsäure und Propionsäuregehalt im Pansen und der Buttersäuregehalt bleibt gleich (NAZIROGLU et al., 2002). Jedoch warum Vitamin E für ein Ansteigen der Pansenprotozoendichte verantwortlich ist, kann noch nicht beantwortet werden. Studien mit duodenal fistulierten Milchkühen zeigten, dass nach einer intraruminalen Vitamin E Zugabe, es zu einem erhöhten Fluss an organischer Masse und an Rohprotein am Duodenum kommt (LEBZIEN et al., 1983). Die in der Literatur beschriebenen Angaben zur Abbaurrate von Vitamin E, weisen eine hohe Spanne zwischen 39-52 % auf. Dies wird begründet über die unterschiedlichen Kraft-Grundfutter-Verhältnisse und die dadurch resultierenden, unterschiedlichen Fermentationsbedingungen im Pansen (MASOERO et al., 1999). Andere Studien hingegen beobachteten in vitro keinen ruminale Abbau von Vitamin E (LEEDLE et al., 1993). Nach LEEDLE et al. (1993) ist der ruminale Abbau von Vitamin E aufgrund von Analysen Problemen (Wiederfindungsraten) schwer zu Erfassen.

### 3. Fragestellung und Zielsetzung

Ziel dieser wissenschaftlichen Arbeit ist es die Wirkungsweisen einer erhöhten, deutlich über den Versorgungsempfehlungen liegende Vitamin E Supplementierung auf die Pansenfermentation zu untersuchen. Hierzu werden quantitative Betrachtungen der Pansenfermentation ausgehend von Messungen des duodenalen Trockenmasseflusses bei am ventralen Pansensack und am proximalen Duodenum fistulierten Milchkühen durchgeführt. Folgende Fragestellungen sollen geprüft werden.

1. Inwiefern wirkt sich eine erhöhte Vitamin E Supplementierung auf die mikrobielle Rohproteinsynthese und deren Effizienz aus?
2. Besteht ein Einfluss von erhöhten Vitamin E Gaben auf die Anflutung des nutzbaren Rohproteins am Duodenum?
3. Führt Vitamin E Supplementierung zu einem erhöhten Fluss organischer Masse am Duodenum bzw. zu Veränderungen der fermentierten organischen Masse im Pansen?
4. Beeinflusst Vitamin E die Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren und Protozoen in der Pansenflüssigkeit?

## 4. Material und Methoden

Haltung der Tiere und Versuchsgruppen:

Der Versuch wurde am Friedrich-Loeffler-Institut auf der Versuchsstation des Instituts für Tierernährung am Standort Braunschweig durchgeführt. Für den Versuch standen acht am Pansen und Duodenum fistulierte Milchkühe der Rasse Deutsche Holstein (Pansenfistel mit 10 cm Durchmesser im dorsalen Pansensack und 2 cm T-Kanüle im proximalen Duodenum ca. 25- 30 cm hinter dem Labmagenausgang) zur Verfügung. Die Kühe befanden sich im Mittel im 51 Laktationstag (33. bis 65. Laktationstag) und wurden in einem konventionellen Liegeboxenlaufstall mit Hochboxen die mit weichen verformbaren Matratzen ausgestattet sind gehalten. Im Mittel betrug die Lebendmasse der Tiere  $658 \pm 63$  kg und befanden sich im Mittel in der  $5. \pm 2.54$  Laktation. Die Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Jeweils 4 wurden einer Kontrollgruppe (KON) und einer Vitamin E (Vit. E) Gruppe zugeteilt.

### 4.1 Fütterung

Die Energie und Nährstoffversorgung der Versuchstiere wurde in Anlehnung an die Versorgungsempfehlungen der GFE vorgenommen (GFE, 2001). Eine Mischration bestehend aus den Grundfutterkomponenten und einem Milchleistungskraftfutter stand den Tieren ad libitum zur Verfügung (siehe Tabelle 3). Zusätzlich erhielten alle Tiere 2 kg Kraftfutter mit einem geringem Vitamin E Gehalt (217 IU/kg T) eines synthetischen Vitamin E Präparates (DL- $\alpha$ -tocopherylacetat) zur Bedarfsdeckung entsprechend der GfE- Empfehlungen. Dieses Kraftfutter erhielt zudem zusätzlich konjugierte Linolsäuren (CLA). Die Tiere der Vit. E Gruppe erhielten zusätzliche 1 kg eines Kraftfutters mit einem erhöhten Gehalt (2453 IU/kg T) des gleichen Vitamin E Präparates über eine automatische Abruffütterung. Unter Einberechnung der natürlichen Vitamin E Gehalte in den verwendeten Futtermitteln wurde eine Versorgung von 500 mg/Tag und Kuh (GFE, 2001) in der Kontrollgruppe und von 3000 mg/Tag in der Vitamin E Gruppe angestrebt. In Tabelle vier ist die Zusammensetzung des Kraftfutters während der Versuchsperiode dargestellt.

**Tabelle 3: Rationszusammensetzung während des Versuchszeitraums**

	Gruppe	
	KON	Vit. E
	Mischration ad libitum (%; auf T-Basis)	
Grassilage	40	40
Maissilage	40	40
Milchleistungskraftfutter	20	20
	Krafftutter rationiert (kg Originalsubstanz/Tag)	
Krafftutter CLA	2	2
Krafftutter Vit. E	-	1
Milchleistungskraftfutter	4	3

**Tabelle 4: Zusammensetzung des Krafftutters**

Bestandteile (%)	CLA*	Vit. E **	Milchleistungs-Krafftutter
Weizen	41	41	41
Trockenschnitzel	24,95	29,55	30,3
Rapsextraktionsschrot	20	20	20
Sojaextraktionsschrot	6,5	6,5	6,5
Fett Supplement	5,5		
Mineralfutter***	2	2	2
Futterkalk		0,2	0,2
Vitamin E	0,05	0,75	

\* CLA-Krafftutter: Alle Versuchstiere erhielten 2 kg pro Tag und Kuh

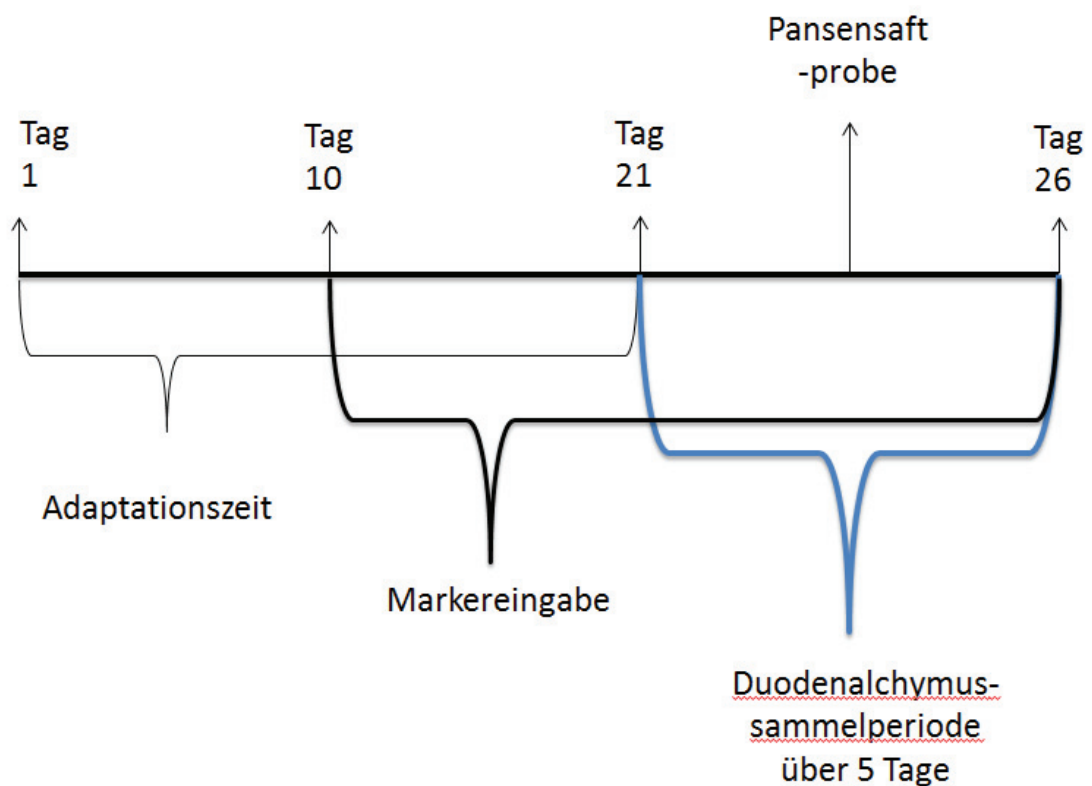
\*\* Vit. E – Krafftutter: Tiere der Vit. E Gruppe erhielten 1 kg pro Tag und Kuh

\*\*\* je kg: 50 g Calcium; 120 g Natrium; 70 g Phosphor; 50 g Magnesium; 6 g Zink; 4 g Mangan; 1,25 g Kupfer; 100 mg Iod; 40 mg Selen; 25 mg Kobalt; 1000000 IE Vitamin A; 100000 IE Vitamin D<sub>3</sub>;

#### 4.2 Probenahme, Markerapplikation und Futteraufnahme

Während des Versuchszeitraums wurden zweimal wöchentlich Grundfutter- und wöchentlich Krafftutterproben gesammelt und über vier Wochen gepoolt. Mittels in Weizenmehl verbackenem Chromoxid als Marker wurde der tägliche duodenale

Trockenmassefluss bestimmt. Hierzu fand zwischen dem 33. und 65. Laktationstag eine 16 tägige Markereingabe statt mit Darmsaftsammlung und Kotprobenentnahme vom 12. bis zum 16. Tag der Markereingabe (siehe Abbildung 5.) Der erste Schritt bei der Probenentnahme am Tier ist der richtige Umgang und das Ansprechen der Tiere um den Stressfaktor so gering wie möglich zu halten. Der nächste Schritt ist, das vorsichtige Öffnen des Deckels der Darmkanüle. Aus der duodenalen Kanüle wurde über fünf Tage alle 10 Stunden 4x100 ml Darmchymus entnommen. Die Entnahme zu jedem Zeitpunkt erfolgte nach der Sample-Spot-Methode. Viermal 100 ml wurden entnommen und die Probe mit dem niedrigsten pH-Wert sowie die mit dem höchsten wurden anschließend in eine Poolprobe über die 5 Sammeltage zusammengeführt. Zur Berücksichtigung der Chromhintergrundkonzentration in den Duodenalchymusproben wurden Blindproben vor Beginn der Markerapplikation entnommen. Zu den Zeitpunkten der Darmsaftentnahme wurde gleichzeitig eine Kotprobe (10 Proben) entnommen und zu einer Poolprobe über die fünf Sammeltage vereint.



**Abbildung 5: Zeitlicher Ablauf der Markereingabe, Duoedenalchymussammlung sowie Pansensaftentnahme zwischen dem 50. Und 70 Laktationstag.**

Über den gesamten Versuchszeitraum erfolgte täglich eine tierindividuelle Erfassung der Aufnahme der Grundfutter-Krafftutter-Mischung. Am dritten Tag der Duodenalchymussammlung wurde bei allen Tieren zu einem definierten Zeitpunkt Pansensaft entnommen. Die Milchmenge wurde zweimal täglich bestimmt. Zweimal in der Woche (am Montagabend und Dienstagmorgen sowie am Donnerstagabend und am Freitagmorgen) wurden bei allen Kühen Proben zur Bestimmung der Milchezusammensetzung (Fett, Eiweiß, somatische Zellzahl) genommen. Zusätzlich wurde mit Beginn der Darmsaftsammlung (Mo-Fr) von der vorgelegten TMR eine Poolprobe erstellt. An Tag 14 wurde bei allen Tieren zu einem definierten Zeitpunkt Pansensaft (10 Proben) entnommen. An einem weiteren Tag der Darmsaftsammlung wurden bei allen Tieren im Rahmen der normalen Milchprobenahme für die Bestimmung der Inhaltsstoffe eine zusätzliche Milchprobe entnommen (100 ml morgens und 100 ml abends).

### 4.3 Probenaufbereitung und chemische Analysemethoden

#### **Futterproben**

Die Futterproben der Einzelkomponenten der TMR (Grassilage, Maissilage, Krafftutter) wurden im Labor des Instituts für Tierernährung in Braunschweig hinsichtlich des Trockenmasse-(T), Rohasche-(XA), Rohprotein-(XP), Rohfett-(XL) und Rohfasergehaltes analysiert (VDLUFA, 1997). Die Fraktionen der organischen Masse (OM) und der N-freien Extraktstoffe (NFE) wurden rechnerisch ermittelt. Die NDF<sub>om</sub>- und ADF<sub>om</sub>-Gehalte in den Futterproben wurden nach der Detergentienmethode im VDFLUFA Methodenbuch Band 3 und nach VAN SOEST (1970) unter Verwendung des Fibertec Gerätes (FIBERTEC SYSTEM M, 1020 HOT EXTRACTOR, FOSS TEACTOR) ermittelt. Der Vitamin E- Gehalt (DL- $\alpha$ -tocopheryl acetat) in den Krafftutterproben wurde mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie nach einer modifizierten Methode analysiert (COMMITTEE, 2011).

#### **Stickstoff und Ammoniak**

Die Duodenalchymusproben wurden zunächst schonend im Wasserbad (29C°) angetaut und anschließend bei Raumtemperatur aufgetaut. Nach dem Auftauen wurden von jeder Probe unter stetigem Rühren 2 x 60 ml Duodenalchymus in ein

100 ml Kautexgefäß abgefüllt. Um sicher zu stellen, dass ein repräsentativer Anteil (feste und flüssige Phase des Duodenalchymus) der Probe abgefüllt wurde, erfolgte nach 30 minütiger Sedimentation der festen Phase des Duodenalchymus eine Sichtkontrolle des Verhältnisse der flüssigen zu festen Phase der Proben (Siehe Abbildung 6).



**Abbildung 6: Probenaufbereitung und Prüfung der Repräsentativität zur Ausgangsprobe des abgefüllten Probenmaterials.**

Die Ausgangsprobe (ca. 1080 ml) der Duodenalchymusprobe wurde in einer Lyophilisationsanlage (CHRIST, Osterode am Harz, Deutschland) gefriergetrocknet und anschließend im Trockenschrank bei 35 °C gelagert. Anschließend erfolgte eine Restfeuchtebestimmung in zwei Parallelen nach VDLUFA (1997). Dafür wurden ca. 2 g des Ausgangsmaterials je Probe in kleine Glastiegel, bei denen zuvor ein Leergewicht bestimmt wurde, eingewogen und über Nacht bei 103 °C im Trockenschrank (HERAEUS, Hanau, Deutschland) getrocknet. Abschließend erfolgten eine Rückwiegung und die Berechnung der absoluten Trockensubstanz. Das restliche Probenmaterial wurde mit einer Zentrifugalmühle unter Verwendung eines 1 mm Siebes vermahlen. In gleicher Weise wurde bei der Restfeuchtebestimmung der Kotproben vorgegangen.

Der Stickstoffgehalt in einer der abgenommenen 60 ml Duodenalchymusproben wurde nach dem KJELDAHL- Aufschlussverfahren bestimmt. Dazu wurden 10 g der Probe in einem KJELDAHL- Kolben eingewogen und mit Siedesteinen und

einem Katalysorengemisch versetzt. Nach der Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure (98%) wurde das Gemisch schonend erwärmt und am Sieden gehalten (8 Stunden). Das daraus entstandene Ammoniumsulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) wurde im Verhältnis 1:2 mit destilliertem Wasser aufgefüllt und mit ca. 1-2 Tropfen Phenolphthalein (zur farblichen Erkennung) gemischt. Durch Zugabe von Natronlauge und vierminütiger Dampfdestillation (BÜSCHI, Labortechnik AG, Schweiz) wurde Ammoniak freigesetzt und in 20 ml einer zweiprozentigen Borsäurelösung übergetrieben. Abschließend erfolgte eine Titration (TITRINO PLUS, Metrohm GmbH & Co. KG, Filderstadt, Deutschland) 0,25 N Salzsäure und die Berechnung des Stickstoffgehaltes.

Die zweite 60 ml Duodenalchymusprobe wurde zur Ammoniak- N Bestimmung direkt mit 5000 Umdrehungen pro Minute in der Beckmann J2-HS Zentrifuge zentrifugiert (BECKMANN, Coulter GmbH, Krefeld Deutschland) und die flüssige Phase abpipettiert. Daraufhin wurden 15 g der flüssigen Phase in die vorbereiteten Glaskolben eingewogen und 25 ml Phosphatpuffer und 2 Tropfen Siliconentschäumer beigelegt. Anschließend erfolgte eine 4-minütige Dampfdestillation (BÜSCHI, Labortechnik AG, Schweiz) und Ammoniak wurde mit einer 20 ml zweiprozentigen Borsäurelösung übergetrieben. Abschließend erfolgte eine Titration (TITRINO PLUS, Metrohm GmbH & Co. KG, Filderstadt, Deutschland) und die Berechnung des Ammoniak-N-gehaltes.

### **Chromanalyse**

Zur Bestimmung der Chromkonzentration im gefriergetrockneten Duodenalchymus wurden 1 g des vermahlenden Probenmaterials in einen Tiegel eingewogen und 8 Stunden bei  $103\text{ }^\circ\text{C}$  getrocknet. Anschließend wurden die Proben zur Aschebestimmung bei  $550\text{ }^\circ\text{C}$  im Muffelofen verascht und mit 4 ml 4,5 % Kaliumbromatlösung und 3 ml Phosphorsäuremangansulfatlösung aufgeschlossen und erhitzt. Beim Erhitzen kommt es zu einem Farbumschlag (blauviolett-rosa). Beim Erreichen dieses Punktes erfolgte die Abkühlung über destilliertes Wasser (auf  $20\text{ }^\circ\text{C}$ ) und das Überführen in einen 250 ml Kolben mit 25 ml  $\text{CaCl}_2$  Vorlage. Über Rundfilter wurden die Proben in die Analysengefäße filtriert und anschließend der Chromgehalt mittels Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES; Quantima, GBC Scientific Equipment Pty Ltd, Australien) gemessen (NÖLTE, 2002). Bei diesem Verfahren wird Probe durch heißes,

ionisiertes Gas zerstört und die einzelnen Atome werden frei. Die Wellenlängen des zerlegten Lichtes geben dann Aufschluss auf die Chromkonzentration in der Probe. Unter Hinzunahme der Chromhintergrundkonzentrationen (Blindwerte) erfolgte die Berechnung der Chromkonzentration in den Duodenalchymusproben. In gleicher Weise wurde die Chromkonzentration in den Kotproben bestimmt.

### **Nahinfrarotsoektroskopie (NIRS Messung)**

Der mikrobielle Stickstoffanteil am Nichtammoniak-N im Dudenalchaymus wurde mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS; Near-Infrared Spectroscopy) bestimmt (LEBZIEN und PAUL, 1997). Diese Analyse arbeitet mit Hilfe von Nahinfrarotlichtbestrahlung des Probenmaterials. Die gemahlene Duodenalchymusproben wurden in zwei Küvetten je Probe gefüllt und bei einer Wellenlänge von 800-2500 Nanometern (nm) bestrahlt. Die chemische Struktur des Probenmaterials steht in Abhängigkeit zur Stärke der reflektierten Strahlung. Nach der Messung erfolgten eine statistische Auswertung der quantitativen Inhaltstoffe sowie des mikrobiellen N (DIETERLE et al., 2003, SIESLER, 2002 und KAWATA, 2002). Nach der Analyse kann das Probematerial aus den Küvetten wieder zurück in die Probengläser geführt werden.

### **Bestimmung der Protozoen Konzentration**

In einem definierten Volumen der Pansenflüssigkeit wurde mit Hilfe eines Mikroskops (NIKON, ECLIPSE E200) und der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer die Anzahl der Protozoen je ml Pansenflüssigkeit bestimmt. Die Fuchs- Rosenthal - Zählkammer und das geschliffene Deckglas wurden zunächst gründlich mit Alkohol und einem weichen Tuch gereinigt. Das Deckglas musste leicht angedrückt werden so, das Newtonsche Interferenzringe sichtbar wurden und auch beim Nachlassen des Drucks erhalten blieben. Die Suspension wurde gründlich geschwenkt um eine Homogenität zu Gewährleisten. Dann wurde mit der Pipette ein Tropfen Pansenflüssigkeit so aufgesetzt, dass er sofort luftblasenfrei kapillar zwischen Zählfläche und Deckglas angesaugt wurde. Anschließend wurde die Zählkammer in das Mikroskop eingespannt und mit dem schwächsten Objektiv (10 fach) und bei starker Ausblendung des Kondensors die Zählfläche aufgesucht und das Mikroskop scharf darauf eingestellt. In den Großquadraten die Anzahl der Protozoen je Kleinquadrat ermittelt und anschließend hochgerechnet.

## Kurzkettige Fettsäuren

Die Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) erfolgte nach GEISSLER et al. (1976). Mittels Gaschromatographie (GC) wurden die kurzkettigen Fettsäuren in der Pansenflüssigkeit analysiert. Dafür wurden die Proben zunächst bei 2400 g für fünf Minuten zentrifugiert (Zentrifuge BECKMAN, J2-HS, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA) und anschließend 10 ml des flüssigen Überstandes abgenommen und mit 1 ml einer 25 % igen Schwefelsäure zur Fällung der Proteine versetzt. Die Proben wurden dann ein zweites Mal bei 2700 g, ohne Bremsen, für 20 min zentrifugiert (EPPENDORF Zentrifuge 5417 R, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) und der entstandene Überstand wurde in einem Sarstedtröhrchen, bis zur weiteren Analyse eingefroren. Zur weiteren Bestimmung wurden die Proben aufgetaut und anschließend für fünf Minuten bei 2400g zentrifugiert (EPPENDORF Zentrifuge 5417 R, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Daraufhin wurde 1 ml PS in Eppendorf-Tupes abpipettiert und erneut bei 20817 g in einer Eppendorf-Zentrifuge (EPPENDORF Zentrifuge 5417 R, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) für 10 min bei 5 °C zentrifugiert. Anschließend wurden 0,7 ml Pansensaftprobe in GC-Fläschchen pipettiert und mit dreifach Bestimmung im GC-Gerät (CLARUS 680 GC, Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, USA) gemessen. Die Bestimmung der Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren erfolgte mittels einen externem Standard der an einer eigens dafür definierten Lösung der zu detektierenden Säuren als interner Standard kalibriert wurde.

### 4.4 Berechnungen / Formeln

Zur Berechnung des Trockenmassegehalts im Futter wurde folgende Formel verwendet:

$$T(\%) = \left( \frac{\text{Trockenmasse (g)}}{\text{Frischmasse (g)}} \right) * 100$$

Der absolute Trockenmassegehalt wurde über die Mittelwerte der zwei parallelen aus den Restfeuchtebestimmungen berechnet.

$$\text{Absolut } T(\%) = \frac{T \text{ aus Gefriertrocknung } (\%) * T \text{ aus Restfeuchte } (\%)}{100}$$

Über die im VDLUFA (1997) Methodenbuch festgelegten Formeln erfolgte die Berechnung von Rohprotein, Ammoniak und Stickstoff in den Duodenalchymusproben. Der Faktor 1,4 wurde zur Umrechnung von Schwefelsäure auf N eingebaut und 6,25 stellt den Umrechnungsfaktor für die Rohproteineinheit da.

$$NH_3N \text{ (mg)/100 g FS} = \frac{\text{titrierte ml } H_2SO_4 * 1,4 * 100}{\text{Einwaage (g)}}$$

$$NH_4N \text{ in } T \text{ (\%)} = \frac{\text{titrierte ml } H_2SO_4 * 1,4 * 100}{\text{Einwaage (g)} * 10 * TS}$$

$$XP \text{ in } T \text{ (g/kg)} = \left( \frac{\text{titrierte ml } H_2SO_4 * 1,4 * a}{\text{Einwaage (g)} * 10 * TS} \right) * 6,25$$

Die Berechnung des Trockenmasseflusses am Duodenum (kg T/Tag) wurde nach der Formel PAPPRIETZ et al., 2011 bestimmt.

$$T \text{ am Duodenum (kg/Tag)} = \frac{\text{Chrom/Kuh/Tag (mg)}}{\frac{\text{Chromkonzentration im Duodenalchymus (mg/g T)}}{1000}}$$

Die Menge des Nicht-Ammoniaks-Stickstoffs (NAN) wurde über Gesamt N in der Frischmasse und über die Trockenmasse im Duodenalchymus berechnet.

$$\text{Gesamt N in Duodenalchymus } T \text{ (\%)} = \frac{\text{Gesamt N (\% FS)}}{T \text{ Duodenalchymus (\%)}} * 100$$

$$NH_3N \text{ in Duodenalchymus } T \text{ (\%)} = \frac{NH_3N (\% FS)}{T \text{ Duodenalchymus (\%)}} * 100$$

$$\begin{aligned}
 \text{NAN in Duodenalchymus } T(\%) & \\
 &= \text{Gesamt } N \text{ in Duodenalchymus } T (\%) \\
 &- \text{NH}_3N \text{ in Duodenalchymus } T (\%)
 \end{aligned}$$

Aus der Differenz des NAN und des endogenen Stickstoffs am Duodenum wurde das nutzbare Rohprotein berechnet. Dies gilt als Maßstab für die Eiweißversorgung der Milchkuh.

$$\begin{aligned}
 nXP(g/Tag) &= [NAN (g) - \text{endogenes } N (g)] * 6,25 \\
 \text{endogenes } N (g/Tag) &= 3,6 * \text{Trockenmassefluss am Duodenum}
 \end{aligned}$$

Das mikrobiell synthetisierte Rohprotein wurde mit Hilfe des mikrobiellen N-Flusses am Duodenum berechnet und dem Faktor 6,25 multipliziert (LEBZIEN und VOIGT 1999, BRANDT und ROHR, 1981).

$$\begin{aligned}
 \text{mikrobielles Rohprotein } \frac{g}{Tag} & \\
 &= \left( \left( \text{NAN} - \text{Fluss am Duodenum} \frac{kg}{Tag} \right) \right. \\
 &\quad \left. * \left( \frac{\text{Mikrobieller } N \text{ Anteil am NAN } (\%)}{100} \right) \right) * 6,25 * 1000
 \end{aligned}$$

Nach den Formeln von SCHAFFT (1983), PAPPRITZ et al. (2011) und GFE (2001) wurde die Anflutung von unabgebautem Rohprotein (UDP) und des pansenverdaulichen Rohproteins sowie die mikrobiellen organischen Masse (Microbial OM) als auch die Berechnung des RNB-Wertes und der fermentierten organischen Masse (FOM) durchgeführt.

$$UDP(g/Tag) = 6,25 * ((NAN(g) - \text{Mircobial } N) - \text{endogenes } N(g) * 6,25)$$

$$\text{Pansenverdauliches Protein } \left( \frac{g}{Tag} \right) = XP \text{ Aufnahme } \left( \frac{g}{Tag} \right) - UDP \left( \frac{g}{Tag} \right)$$

$$\text{Microbial OM} \left( \frac{g}{\text{Tag}} \right) = 11,8 * \text{Microbial N} \left( \frac{g}{\text{Tag}} \right)$$

$$\text{RNB} (g/\text{Tag}) = (XP \text{ Aufnahme} (g/\text{Tag}) - nXP (g/\text{Tag}))/6,25$$

$$\begin{aligned} \text{FOM} \left( \frac{kg}{\text{Tag}} \right) &= \text{OM Zufuhr} \left( \frac{kg}{\text{Tag}} \right) - \text{Duodenal OM Fluss} \left( \frac{kg}{\text{Tag}} \right) \\ &\quad - \text{Microbial OM} \left( \frac{kg}{\text{Tag}} \right) \end{aligned}$$

Die totale Verdaulichkeit der Trockenmasse wurde nach der MCGINN et al. (2004) Formel berechnet. Über die Laboranalysen wurde die Chromkonzentration im Marker und Kot ermittelt und berechnet.

*T Verdaulichkeit*

$$= 1 - \left( \frac{\text{Chrom im Marker} \left( \frac{mg}{\text{Tag}} \right)}{\text{Trockenmasseaufnahme} \left( \frac{kg}{\text{Tag}} \right)} \right) / \text{Chrom im Kot} \left( \frac{mg}{kg T} \right)$$

Über den Mittelwert aller gezählten Protozoen und die Konzentration der untersuchten Suspension wurde die Protozoenkonzentration nachfolgender Formel bestimmt (DRONG et al., 2015).

$$\text{Protozoen}_{\text{Konz.}} [ml^{-1}] = \frac{\text{Anzahl der Protozoen je Kleinquadrat (Mittel)}}{\text{Fläche eines Kleinquadrates [cm}^2\text{]} * \text{Kammerhöhe [cm]}}$$

#### 4.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit STATISTICA (Version 10.0, StatSoft) durchgeführt. Die Versuchsdaten sind nach Gruppe und Tier sortiert und jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen errechnet worden. Anschließend wurden t-Tests durchgeführt um die Einflüsse in den verschiedenen Gruppen statistisch miteinander zu vergleichen. Der t-Test prüft anhand der Mittelwerte zweier Stichproben, wie diese zueinanderstehen (KÖHLER et al., 2007). Dabei sind alle Parameter auf Unterschiedlichkeit zwischen den Gruppen getestet worden. Als Signifikanzniveau wurde in den Berechnungen eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % angenommen, somit gilt  $p \leq 0,05$  als signifikant. Zusätzlich wurde  $p \leq 0,1$  als Tendenz festgelegt.

## 5. Ergebnisse

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse der Rationskomponenten des Grundfutters und des Krafftutters dargestellt. Der Rohproteingehalt in der Grassilage ist deutlich höher im Vergleich zur Maissilage jedoch weist Grassilage generell höhere Rohprotein-gehalte auf und ist Rohfaserreicher als Maissilage. Im CLA- Krafftutter ist ein deutlich höherer Rohfettgehalt als im Krafftutter der Vitamin E-Gruppe. Der Unterschied ist über die Supplementierung der konjugierten Linolsäuren (CLA) im CLA-Krafftutter zu erklären. Der Rohfasergehalt ist im CLA- Krafftutter ist geringer als im Vitamin E Krafftutter und Milchleistungskrafftutter.  $ADF_{om}$  liegt in der Vitamin E und Milchleistungskrafftutter Variante bei 130-133 g pro kg T. Das CLA-Krafftutter liegt um die 10 g pro kg T darunter. Wie zu erwarten hat die Grassilage im Grundfutter höhere XF (278g /kg T), ADF (298g /kg T) und NDF (489 g/kg T) Werte als die Maissilage (XF= 195 g/kg T, ADF= 220 g/kg T, NDF= 498 g/kg T ). Die metabolische Energie liegt bei 13 MJ/kg T und NEL zwischen 8,2 und 8,5 MJ/kg T in allen Krafftuttervariationen.

**Tabelle 5: Inhaltsstoffe der Rationskomponenten mit den Angaben Trockenmasse (T), Rohasche (XA), Rohfaser (XF), Rohfett (XL), Säure-Detergenz-Faser (ADF), Neutrale-Detergenz-Faser (NDF), Netto-Energie-Laktation (NEL) und umsetzbare Energie (ME)**

Inhaltsstoffe		Krafftutter			GF****	
		CLA*	Vit. E**	MKF***	Mais	Gras
<b>T</b>	g/kg	89	88	88	34	28
<b>Nährstoffe</b>						
<b>XA</b>	g/kg T	66	65	64	36	36
<b>XP</b>	g/kg T	186	192	185	62	127
<b>XL</b>	g/kg T	69	28	25	32	38
<b>XF</b>	g/kg T	89	96	98	195	278
<b>ADF<sub>om</sub></b>	g/kg T	122	133	130	220	298
<b>NDF<sub>om</sub></b>	g/kg T	245	262	266	400	498
<b>Energie*****</b>						
<b>ME</b>	MJ/kg T	13,5	13,5	13,5	11,5	9,5
<b>NEL</b>	MJ/kg T	8,5	8,2	8,2	6,9	5,6

\* CLA-Krafftutter: Tiere der KON und Vit. E Gruppe erhielten 2 kg pro Kuh und Tag

\*\* Vit. E- Krafftutter: Tiere der Vit. E Gruppe erhielten 1 kg pro Tag und Kuh

\*\*\* MKF = Milchleistungskrafftutter

\*\*\*\* GF = Grundfutter: 50% Maissilage und 50% Grassilage auf Trockenmasse Basis

\*\*\*\*\* Berechnung der Energiegehalte auf Basis von GFE Gleichungen (2001,2008,2009);  
Abkürzungen: ME= umsetzbare Energie, NEL= Nettoenergie

In Tabelle 6 werden die mittleren Trockenmasseaufnahmen und Leistungsparameter der Kontrollgruppe und Vitamin E Gruppe in der Versuchsperiode dargestellt. Es waren bei der T-Aufnahme keine gruppenspezifischen Unterschiede vorhanden. Die mittlere Milchleistung der Versuchstiere lag mit 37,7 kg pro Tag in der Kontrollgruppe und 35,5 kg pro Tag in der Vitamin E- Gruppe auf einem vergleichbaren Level. Die Energie korrigierte Milchmenge liegt ebenfalls auf selbigem Niveau. Mit einem mittleren Milchfettgehalt von 3 % lag die Kontrollgruppe deutlich unter dem Milchfettgehalt von 4.1 % der Vitamin E- Gruppe. Hinsichtlich des Eiweißgehalts ist zwischen den Gruppen keine Differenz festzustellen, lag jedoch mit 3 % bei beiden Versuchsgruppen im unteren Bereich. Des Weiteren wurde der Harnstoffgehalt der Milch in die Auswertung mit einbezogen. Die Kontrollgruppe zeigte eine geringere Harnstoffkonzentration von 88 ppm pro Liter im Vergleich zur Vitamin E Gruppe mit einer Konzentration von 102 ppm pro Liter.

Hinsichtlich der Leistungsparameter ist daher nur eine Signifikanz beim Milchfett und Milchharnstoffgehalt festzustellen. Die Einzeltierdaten werden tabellarisch im Anhang aufgeführt (Tabelle 12.)

**Tabelle 6: Trockenmasseaufnahmen (T-Aufnahme), Milchleistung und Milchinhaltstoffe (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung) während der 5 tägigen Duodenalchymus Sammelperiode.**

Parameter		KON	Vit. E	p*
	<b>n****</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	
<b>T-Aufnahme</b>	kg/Tag	18,8 $\pm$ 2,4	16,9 $\pm$ 0,9	0,179
<b>Milchmenge</b>	kg/Tag	37,7 $\pm$ 7,1	35,5 $\pm$ 5,3	0,632
<b>ECM**</b>	kg/Tag	32,4 $\pm$ 6,8	35,1 $\pm$ 7,8	0,624
<b>Fett</b>	%	3,0 $\pm$ 0,6	4,1 $\pm$ 0,7	0,046
<b>Eiweiß</b>	%	3,0 $\pm$ 0,1	2,9 $\pm$ 0,2	0,508
<b>Fett</b>	kg/Tag	1,1 $\pm$ 0,3	1,5 $\pm$ 0,4	0,256
<b>Eiweiß</b>	kg/Tag	1,1 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,2	0,559
<b>Harnstoff***</b>	ppm/l	88 $\pm$ 17	102 $\pm$ 16	0,041

\* Signifikanzniveau  $p \leq 0,05$

\*\* ECM (energy corrected milk) = Milch (kg) x ((0,38 x Fett% + 0,21 x Eiweiß (%) + 1,05) / 3,28)

\*\*\* Harnstoff in parts per million (ppm)

\*\*\*\* n= Anzahl Tiere

In Tabelle 7 sind die Mittelwerte der Organischen Masse Aufnahme, des duodenalen Trockenmassefluss, der Organischen Masse am Duodenum und der fermentierten organischen Masse im Pansen aufgeführt. Die OM-Aufnahme liegt bei der Kontrollgruppe bei 17,5 kg pro Tag und bei der Vitamin E- Gruppe bei 16,5 kg pro Tag und weist keine Differenz auf. Der duodenale Trockenmassefluss, als wichtiger Parameter für die mikrobielle Rohproteinsynthese zeigt, ebenfalls mit 16,1 kg pro Tag in der Kontrollgruppe und 15,3 kg pro Tag in der Vitamin E- Gruppe keine Unterschiede auf. Bei der OM am Duodenum konnte keine Differenz zwischen den Gruppen festgestellt werden. Die OM am Duodenum in der Kontrollgruppe lag bei 13,1 kg pro Tag und in der Vitamin E-Gruppe bei 12,1 kg pro Tag. Ein weiterer Parameter war die fermentierte organische Masse, wie in der Tabelle 7. zu sehen liegen beide Versuchsgruppen auf dem gleichen Level.

**Tabelle 7: Angaben zur organischen Masse Aufnahme (OM-Aufnahme), zum duodenalen Trockenmassefluss, der OM am Duodenum, der fermentierten organischen Masse (FOM) im Pansen und T-Verdaulichkeit (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung)**

Parameter		KON	Vit. E	p*
	n***	4	4	
<b>OM-Aufnahme</b>	kg/Tag	17,5 $\pm$ 2,2	16.5 $\pm$ 0,9	0,428
<b>Duodenal Trockenmassefluss</b>	kg/Tag	16,1 $\pm$ 2,4	15,3 $\pm$ 0,5	0,513
<b>OM am Duodenum</b>	kg/Tag	13,1 $\pm$ 1,8	12,1 $\pm$ 0,5	0,447
<b>FOM</b>	kg/Tag	8,6 $\pm$ 0,7	7,9 $\pm$ 1,5	0,538
<b>T-Verdaulichkeit**</b>	%	64 $\pm$ 0,02	60 $\pm$ 0,04	0,202

\* Signifikanzniveau  $p \leq 0,05$ ,

\*\* totale Trockenmasse Verdaulichkeit

\*\*\* n= Anzahl Tiere

Die totale Trockenmasse Verdaulichkeit lag in der Kontrollgruppe bei 60 % und in der Vitamin E- Gruppe bei 64 %. Es konnte jedoch keine Differenz zwischen den Versuchsgruppen festgestellt werden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Kontrolle und Vitamin E während der Versuchsperiode hinsichtlich der aufgeführten Parameter festgestellt werden.

Das berechnete mikrobielle N differenziert zwischen den Versuchsgruppen nicht (siehe Tabelle 8). Die Kontrollgruppe lag bei einem Mikrobiellen N Fluss am Duodenum von 351 g pro Tag und die Vitamin E Gruppe bei 318 g pro Tag. Im Vergleich ist der NAN- Fluss in der Kontrollgruppe bei 566 g pro Tag und in der Vitamin E Gruppe bei 508 g pro Tag. Das nutzbare Rohprotein am Duodenum (nXP) liegt in der Kontrollgruppe bei 3175 g pro Tag und in der Vitamin E- Gruppe bei 2832 g pro Tag. Die Rohproteinaufnahme nimmt Einfluss auf das im Pansen abbaubare Protein (RDP), die RDP Gehalte liegen bei beiden Versuchsgruppen um 1700 g pro Tag. Die ruminale Stickstoffbilanz ist in beiden Gruppen negativ und weist keine Differenz auf. Die Kontrollgruppe weist Werte von -79 g pro Tag und die Vitamin E Gruppe von -52 g pro Tag auf.

**Tabelle 8: Angaben zum Stickstofffluss, wie Mikrobieller-Stickstoff (Mikrobieller N), Nicht-Ammoniak-Stickstoff-Fluss (NAN-Fluss), nutzbares Rohprotein (nXP), unabbaubares Rohprotein (UDP), Pansenverdauliches Protein (RDP), Ruminale-Stickstoff-Bilanz (RNB), Ruminale-Stickstoff-Bilanz bezogen auf die metabolisierbare Energie (RNB/ME), (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung).**

<b>Parameter</b>		<b>KON</b>	<b>Vit. E</b>	<b>p*</b>
	n**	4	4	
<b>Mikrobieller N</b>	g/Tag	351 $\pm$ 42	318 $\pm$ 46	0,401
<b>NAN-Fluss</b>	g/Tag	566 $\pm$ 66	508 $\pm$ 62	0,311
<b>nXP</b>	g/Tag	3175 $\pm$ 370	2832 $\pm$ 385	0,309
<b>UDP</b>	g/Tag	982 $\pm$ 129	843 $\pm$ 216	0,175
<b>RDP</b>	g/Tag	1700 $\pm$ 219	1662 $\pm$ 132	0,803
<b>RNB</b>	g/Tag	-79 $\pm$ 22	-52 $\pm$ 32	0,284
<b>RNB pro ME</b>	g/ME	-0,36 $\pm$ 0,10	-0,25 $\pm$ 0,14	0,305

\* Signifikanzwert  $p \leq 0,05$ , Tendenz  $p \leq 0,1$

\*\* n= Anzahl Tiere

In Tabelle 9 sind Angaben zur mikrobiellen Rohproteinsynthese und deren Effizienz (bezogen auf die umsetzbare Energie des Futters oder die fermentierte organische Masse im Pansen) sowie das Pansen abbaubare Rohprotein dargestellt. Die Kontrollgruppe weist eine mikrobielle Rohproteinsynthese von 2192 g pro Tag auf. Die Tiere der Vitamin E- Gruppe synthetisieren im Vergleich dazu 1896 g pro Tag mikrobielles Rohprotein. Die gesamte Menge an fermentierter organischer Masse lag bei beiden Gruppen im selben Bereich. In der Kontrollgruppe lag die mikrobielle Rohproteinsynthese bei 256 g pro kg FOM und in der Vitamin E Gruppe bei 246 g pro kg FOM. Dieses Ergebnis zeigt, dass es keine Unterschiede hinsichtlich der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese zwischen den Versuchsgruppen gab. Ein weiterer wichtiger Parameter ist die Menge des Mikrobiellen Rohproteins bezogen auf das im Pansen verdaute Rohprotein, auch hier waren keine Unterschiede zwischen den Gruppen feststellbar.

**Tabelle 9: Angaben zur Mikrobiellen Rohproteinsynthese und-effizienz, mit mikrobiellen Rohprotein (MP), Mikrobielles Rohprotein pro Metabolische Energie (MP per ME), Mikrobielles Rohprotein pro fermentierter organischer Masse (MP per FOM) und Mikrobielles Rohprotein pro Pansen abbaubaren Rohprotein (MP per RDP) (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung)**

Parameter		KON	Vit. E	p*
	n**	4	4	
<b>MP</b>	g/Tag	2192 $\pm$ 261	1989 $\pm$ 289	0,401
<b>MP pro ME</b>	g/ME	10,0 $\pm$ 0,6	9,6 $\pm$ 0,9	0,541
<b>MP pro FOM</b>	g/kg	256 $\pm$ 25	246 $\pm$ 17	0,580
<b>MP pro RDP</b>	g/g	1,29 $\pm$ 0,1	1,19 $\pm$ 0,1	0,147

\* Signifikanzniveau  $p \leq 0,05$ , Tendenz  $p \leq 0,1$

\*\* n= Anzahl Tiere

In Tabelle 10 werden Angaben zur Konzentration der flüchtigen Fettsäuren in der Pansenflüssigkeit sowie der molare Anteil von Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, iso-Buttersäure und iso-Valeriansäure an den Gesamtfettsäuren und dem Verhältnis von Essig zu Propionsäure gemacht. Die gesamt Konzentration der flüchtigen Fettsäuren lag bei 105,4/l mmol in der Kontrollgruppe und bei 117,6/l mmol in der Vitamin E Gruppe. Im Einzelnen konnten bei keiner der Fettsäuren Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Das Verhältnis von Essig zu Propionsäure liegt bei beiden Gruppen im Verhältnis von 2:1. Die Protozoenanzahl wurde je ml Pansenflüssigkeit angegeben und liegt in beiden Versuchsgruppen auf dem gleichen Level. In der Kontrollgruppe konnten 156 Protozoen  $10^3$  pro Milliliter ausgezählt werden und in der Vitamin E- Gruppe 188 Protozoen  $10^3$  pro Milliliter. Somit liegen auch hier keine signifikanten Unterschiede vor.

**Tabelle 10: Angaben zu den Flüchtigen Fettsäuren (FFS), und der Protozoenkonzentration in der Pansenflüssigkeit (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung)**

<b>Parameter</b>		<b>KON</b>	<b>Vit. E</b>	<b>p*</b>
	<b>n**</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	
<b>FFS</b>	mmol/l	105,4 $\pm$ 13,2	117,6 $\pm$ 10,9	0,204
<b>Essigsäure</b>	mol %	57,2 $\pm$ 4,7	58,2 $\pm$ 0,4	0,704
<b>Propionsäure</b>	mol %	25,6 $\pm$ 5,4	25,2 $\pm$ 2,58	0,900
<b>Buttersäure</b>	mol %	12,4 $\pm$ 2,9	12,4 $\pm$ 2	0,999
<b>Valeriansäure</b>	mol %	2,5 $\pm$ 1,1	2 $\pm$ 0,5	0,354
<b>iso-Buttersäure</b>	mol %	0,8 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,3	0,977
<b>iso-Valeriansäure</b>	mol %	1,2 $\pm$ 0,2	1,4 $\pm$ 0,7	0,729
<b>Essig: Propionsäure</b>	mol %	2,4 $\pm$ 0,8	2,3 $\pm$ 0,2	0,936
<b>Protozoen</b>	10 <sup>3</sup> /ml	156 $\pm$ 26	188 $\pm$ 60	0,364

\* Signifikanzwert  $p \leq 0,05$ , Tendenz  $p \leq 0,1$

\*\* n= Anzahl Tiere

## 6. Diskussion

Zur Beantwortung der Versuchsfrage, des Einflusses von Vitamin E auf die mikrobielle Proteinsynthese und deren Effizienz, bedarf es möglichst präzisen Messungen der ruminal gebildeten mikrobiellen Proteinmenge, sowie der verschiedenen Bezugsgrößen, wie zum Beispiel der ruminal fermentierten organischen Masse. Der gesamte Versuch unterlag einem hohen Arbeits- und Analysenaufwand und erfordert die quantitative Erfassung der Stoffflüsse am Duodenum bei am ventralen Pansensack und proximalen Duoedenum fistulierten Milchkühen. Die Quantifizierung des duodenalen Trockenmasseflusses erfolgte mit Hilfe eines in Weizenmehl verbackenem Chromoxidmarkers (VON SOOSTEN et al., 2016) und die mikrobielle Rohproteinsynthese wurde mittels von LEBZIEN und PAUL (1997) entwickelten Methoden quantifiziert. Während des Versuches befanden sich die Tiere zwischen dem 33. und 65. Laktationstag. Die mittlere T-Aufnahme lag bei 18.8 kg pro Tag in der Kontrollgruppe und 16,9 kg pro Tag in der Vitamin E-Gruppe. Die Differenz zwischen den Gruppen ist aufgrund einer hohen Standardabweichung in der Kontrollgruppe und durch die geringen Tierzahlen (4 Tiere pro Versuchsgruppe) nicht statistisch signifikant. Laut POTTIER et al. (2006) kann die T-Aufnahme auch von der Laktationsnummer beeinflusst werden. Die Tiere befanden sich im Mittel in beiden Versuchsgruppen in der vierten Laktation und es konnten keine Einflüsse hinsichtlich Laktationsnummer verifiziert werden. Nach Angaben der GFE (2001) beträgt der nXP Bedarf einer Milchkuh mit 650 kg Lebendmasse bei einer Milchleistung von durchschnittlich 35 kg pro Tag 3280 g /Tag. Die Milchleistung in der Kontrollgruppe lag bei 38 kg und in der Vitamin E-Gruppe bei 36 kg pro Tag. Die Messungen des nXP am Duodenum ergaben Werte von 3175 g/Tag in der Kontrollgruppe und 2832 g/Tag in der Vitamin E- Gruppe. Aufgrund der niedrigen Proteingehalte in der Milch von 3 % in der Kontrollgruppe und 2,9 % in der Vitamin E-Gruppe, bei gleicher Lebendmasse, sind die niedrigeren gemessenen Werte im Vergleich zu den GFE Angaben weitgehend passend zu den erbrachten Leistungen der Tiere. Die Rohproteinaufnahme nimmt Einfluss auf das im Pansen abbaubare Protein (RDP). Die Menge des RDP lag bei ca. 1700 pro g/Tag und wies keine Unterschiede auf. Dies ist übereinstimmend zu den Ergebnissen der T-Aufnahme. Die ruminale Stickstoffbilanz ist in beiden Gruppen negativ und weist keine Differenz auf. Die Kontrollgruppe weist Werte von -79 g pro Tag und die Vitamin E Gruppe -52 g pro Tag auf. Laut RIEMEIER et. al. (2004) ist

bis zu einer RNB pro MJ ME von -0,3 keine Beeinträchtigung der mikrobiellen Proteinsynthese festzustellen. Die Vitamin E- Gruppe liegt bei einer RNB pro MJ ME von -0,25 und die Kontrollgruppe bei -0,36. Bezogen auf die metabolische Energie weist Vitamin E ebenfalls kein Einfluss auf, jedoch ist anzumerken dass sich die RNB in beiden Gruppen im unteren Bereich einer ausreichenden N-Versorgung der Mikroben befand. In der Versuchsgruppe Vitamin E konnten signifikant erhöhte Harnstoffwerte gegenüber der Kontrollgruppe festgestellt werden. Die Milchwarnstoffwerte liegen in beiden Gruppen auf einem niedrigen Niveau und sind damit übereinstimmend mit der gemessenen negativen RNB. In einer Studie von ASCHEMANN et al. (2012) war bei einer RNB von -0,15 g/MJ ME der Milchwarnstoffgehalt in einem Bereich kleiner als 100 ppm. Bei einer RNB von 0,26 g/MJ ME war der Milchwarnstoffgehalt größer als 200 ppm. Die in dieser Studie gemessene negative RNB in beiden Versuchsgruppen bei niedrigen Harnstoffgehalten in der Milch sind somit konsistent. Versuche in denen die mikrobielle Proteinsynthese bei Milchkühen gemessen wurde zeigten Werte von 1336 g/Tag bis 1511 g/Tag mikrobielles Protein am Duodenum (RIEMEIER, 2004 und BORCHERT, 2006). In diesem Versuch konnten Werte von 2192 g/Tag in der Kontrollgruppe und 1896 g/Tag in der Vitamin E- Gruppe festgestellt werden. Laut RIEMEIER (2004) zeigt die mikrobielle Rohproteinsynthese bezogen auf die fermentierte organische Masse im Pansen die Effizienz der ruminalen Proteinsynthese an. Die gesamte Menge an fermentierter organischer Masse liegt bei beiden Gruppen auf gleichem Niveau. Die Tiere aus der Kontrollgruppe haben im Mittel 256 g und die Vitamin E-Gruppe im Mittel 246 g mikrobielles Protein pro kg fermentierte organische Masse gebildet. Nach Studien von LEBZIEN et al. (1996) und GFE (2001) ergeben sich Mittelwerte von 156 g mikrobielles Protein kg/ FOM. Die Werte liegen deutlich oberhalb der von LEBZIEN (1996) ermittelten Werte. Diese Unterschiede deuten auf eine effiziente mikrobielle Proteinsynthese in diesem Versuch hin. Als weiterer Parameter der Effizienz der mikrobiellen Rohproteinsynthese wird das mikrobiell gebildete Rohprotein auf die metabolisierbare Energieaufnahme bezogen. Durchgeführte Studien zur mikrobiellen Proteinsynthese in Braunschweig Völkenrode und Dummerstorf /Rostock ergaben bei einer großen Anzahl von Einzelwerten (335 Einzelwerte und 61 unterschiedliche Rationen) bezogen auf die Zufuhr an umsetzbarer Energie (ME) eine mittlere mikrobiell gebildete Rohproteinmenge von  $10,1 \pm 1,5$  g MP je MJ ME

(GFE, 2001). Mit Werten von  $10,0 \pm 0,6$  g MP je MJ ME in der Kontrollgruppe und  $9,6 \pm 0,9$  g MP je MJ ME in der Vitamin E – Gruppe sind die Werte dieser Studie zu den von der GFE beschriebenen Werten vergleichbar. Einflüsse einer Vitamin E Supplementierung auf Parameter der mikrobiellen Effizienz zeigten sich jedoch nicht. Die von LEBZIEN und FLACHOWSKY (2005) beschriebenen erhöhten Flüsse an organischer Substanz und Rohprotein am Duodenum durch die Supplementierung von Vitamin E im Krafffutter konnten in dieser Studie ebenfalls nicht festgestellt werden.

Die Protozoenkonzentration in der Pansenflüssigkeit soll laut HINO et al. (1993) und NAZIROGLU et al. (2002) durch eine Supplementierung von Vitamin E in der Ration zunehmen. Dies hätte ein Ansteigen der produzierten Ammoniak–Stickstoffmenge sowie ein Abfall des Laktatgehalt zu Folge. Durch eine Absenkung des produzierten Laktates könnte das Risiko einer Pansenazidose verringert werden. Dieser Einfluss ist als sehr positiv zu bewerten und wäre vor allem in der Früh- bis Hochlaktation von großer Bedeutung. Die Laktatkonzentration wurde in diesem Versuch nicht bestimmt jedoch die Protozoen in der Pansenflüssigkeit ausgezählt. Die in der Literatur von NAZIROGLU et al. (2002) beschriebene senkende Wirkung einer Vitamin E Supplementierung auf den Laktatgehalt in der Pansenflüssigkeit bedingt durch eine erhöhte Protozoenzahl konnte jedoch in diesem Versuch nicht festgestellt werden. Bei genauerer Betrachtung der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft konnten auch dort keine Unterschiede festgestellt werden. Das Verhältnis von Essigsäure zu Propionsäure ist wie in der Literatur beschrieben zwei zu eins. Die Gründe für ein mögliches Ansteigen der Pansenprotozoen durch Vitamin E- Supplementierung sind wenig untersucht, können jedoch durch diesen Versuch nicht bestätigt werden.

In einigen Versuchen konnte mit einer hohen Vitamin E Supplementierung über die Futterration eine Steigerung der täglichen Milchleistung erfasst werden (MOEINI et al., 2008 und WICHTEL et al., 2004). Parallel konnte zu diesen Ergebnissen eine erhöhte T-Aufnahme nachgewiesen werden. Die dadurch verbesserte Energie- und Proteinversorgung könnte daher der Grund für erhöhte Milchmengen sein. In dieser Arbeit sowie in anderen wissenschaftlichen Publikationen (ORTMANN und PHERSON, 1999; BALDI et al., 2000) konnten jedoch keine Steigerung der Milchleistung durch Vitamin E- Supplementierung nachgewiesen werden. Von den

Milchinhaltsstoffen zeigt nur der Fettgehalt einen signifikanten Unterschied auf. Der Fettgehalt in der Vitamin E- Gruppe ist mit 4,1% Fett absolut um 1% höher als in der Kontrollgruppe mit 3, 1%. In der Literatur wird beschrieben, dass bei einer Zufütterung von konjugierten Linolsäuren es zu einer Milchfett senkenden Wirkung kommt (PAPPRITZ et al., 2011 und POTTIER, J. et al., 2006.). In beiden Versuchsgruppen wurde CLA (konjugierte Linolsäuren) in der Ration supplementiert. Das würde bedeuten, dass Vitamin E die milchfett senkende Wirkung der konjugierten Linolsäuren wieder aufhebt. Dieser Aspekt war jedoch kein Untersuchungsschwerpunkt dieser Arbeit und sollte in weiteren Studien genauer betrachtet werden. Weitere Parameter wie Milchleistung, Körperfettmobilisation, Rohfasergehalt in der Ration und den ungesättigten Fettsäuren in der Grassilage können ebenfalls Einfluss auf den Milchfettgehalt gehabt haben (WHITE et al., 2001). Aus den vorliegenden Versuchsergebnissen gehen keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen durch Vitamin E- Einfluss hervor.

## 7. Schlussfolgerung

Aus den erfassten Versuchsergebnissen wird deutlich, dass keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der mikrobiellen Rohproteinsynthese und Pansenfermentation durch Vitamin E zu finden waren. Beide Versuchsgruppen zeigen eine mikrobielle Rohproteinsynthese innerhalb anderer Studien.

Die ruminale Stickstoffbilanz ist in beiden Gruppen negativ und weist keine Differenz auf und lag in beiden Gruppen im unteren Bereich einer ausreichenden N-Versorgung der Mikroben. Insgesamt konnte in diesem Versuch eine effiziente mikrobielle Proteinsynthese festgestellt werden jedoch kein Einfluss durch Vitamin E.

Als weiterer Parameter für die mikrobielle Effizienz zeigte das mikrobiell gebildete Rohprotein bezogen auf die metabolisierbare Energieaufnahme in diesem Versuch vergleichbare Werte zu Angaben GfE (2001).

Eine in mehreren Studien beschriebene senkende Wirkung durch Vitamin E Supplementierung auf den Laktatgehalt in der Pansenflüssigkeit, bedingt durch eine erhöhte Protozoenzahl konnte ebenfalls nicht festgestellt werden

Eine Erhöhung der Tierzahl in den Gruppen und das Anlegen eines langfristigen Fütterungsversuchs über z.B. eine gesamte Laktationsperiode könnte die Aussagekraft der Werte verbessern. Durch den signifikant erhöhten Fettgehalt in der Vitamin E Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe, sollte die aufhebende Wirkung von Vitamin E auf die milchfetttsenkende Wirkung der supplementierten konjugierten Linolsäuren in der Ration weiter untersucht werden. Ein weiterer Aspekt für nachfolgende Untersuchungen wäre die Variation der Dosis der Vitamin E –Supplementierung sowie die Betrachtung der Abbauraten von Vitamin E unter Einfluss verschiedener Krafftutter-Grundfutter-Verhältnisse und die damit verbundenen Fermentationsbedingungen im Pansen. Für zukünftige Versuche wäre es ebenfalls interessant den Einfluss von Vitamin E auf die Mikrobengruppen und die damit einhergehende Variabilität der mikrobiellen Proteinsyntheseleistung genauer zu untersuchen. Insgesamt ist es schwierig genaue Aussagen über den Einfluss von Vitamin E auf die mikrobielle Proteinsynthese zutreffen, da ein großes Spektrum von Faktoren wie Höhe der Futteraufnahme und Passagerate, Grundfutterqualität, Verhältnis von Grundfutter zu Krafftutter in der TMR, die

Rohnährstoffgehalte sowie die N-Quelle für die Mikroben Einfluss auf die Effizienz der mikrobiellen Synthese Leistung haben.

## 8. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, den Einfluss von Vitamin E auf die Pansenfermentation und die mikrobielle Rohproteinsynthese zu untersuchen. Acht am ventralen Pansensack und am proximalen Duodenum fistulierte Milchkühe der Rasse Deutsche Holstein standen am Institut für Tierernährung des Friedrich Loeffler-Instituts zur Verfügung. Die Vitamin E Supplementierung im Kraftfutter wurde bei vier Tieren einer Kontrollgruppe in Anlehnung der GfE Empfehlungen vorgenommen. Das natürliche Vitamin E der Ration wurde dabei mit einberechnet. Bei weiteren 4 Tieren wurde eine Vitamin E Supplementierung deutlich oberhalb der GfE- Empfehlungen (ca. 6 fach) vorgenommen. Das Grundfutter setzte sich aus 50% Maissilage und 50 % Grassilage zusammen und das Grundfutter: Kraftfutter Verhältnis der gesamt Ration war 50:50 auf T-Basis. Chromoxid wurde als Marker zur Quantifizierung des duodenalen Trockenmasseflusses verwendet. Hierzu fand zwischen dem 33. und 65. Laktationstag eine 16-tägige Markereingabe mit Darmsaftsammlung und Kotprobenentnahme vom 12. bis zum 16 Tag statt. An Tag 14 der Markereingabe wurde bei allen Tieren zu einem definierten Zeitpunkt Pansensaft entnommen um die Protozoenzahl sowie die flüchtigen Fettsäuren bestimmen zu können. An einem weiteren Tag der Darmsaftsammlung wurden bei allen Tieren Milchproben für die Bestimmung der Inhaltstoffe genommen. Über die Chromkonzentration im Duodenalchymus konnten die Trockenmasseflüsse am Duodenum quantifiziert werden. Die Bestimmung des mikrobiellen N im Duodenalchymus wurde mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) durchgeführt. Für die Auswertung der Versuchsdaten wurde das Programm Statistica 12 verwendet. Es konnten keine Unterschiede hinsichtlich der mikrobiellen Rohproteinsynthese festgestellt werden. Bezogen auf die Zufuhr an umsetzbarer Energie (ME) konnte eine mittlere mikrobielle Rohproteinsynthese von 10 g MP je MJ ME in der Kontrollgruppe und 9 g MP je MJ ME in der Vitamin E – Gruppe verifiziert werden. Die im vorliegenden Fütterungsversuch geprüften Fragestellungen, bezüglich des Einflusses einer Supplementierung von Vitamin E auf die Pansenfermentation und mikrobielle Rohproteinsynthese sowie deren Effizienz bei Milchkühen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

## 9. Summary

### **Influence of Vitamin E supplementation on ruminal microbial crude protein synthesis in dairy cows.**

The aim of the current thesis was to investigate the effect of vitamin E on ruminal fermentation and microbial crude protein synthesis. Eight lactating dairy cows of the German Holstein breed equipped with cannulas at the dorsal sac of the rumen and the proximal duodenum were available at the Institute of Animal Nutrition of the Friedrich-Loeffler-Institut. All animals received 2 kg concentrate (original substance) containing 217 IU vitamin E (DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate) per kg dry matter. Four animals of the vitamin E group received additional 1 kg concentrate (original substance) containing 2453 IU/kg vitamin E per kg dry matter. The natural vitamin E content of the ration was included in the calculations. The diet of the control group was formulated according to the recommendations of the German Society of Nutritional Physiology (GfE). The diet of the vitamin E group that was supplemented with vitamin E greatly above the GfE recommendations (6 times higher). The forage consisted of 50% corn silage and 50% grass silage and forage: concentrate ratio of the complete ration was 50:50 (on dry matter basis). Chromium oxide was used as a marker for quantifying the duodenal dry matter flow. Between the 33<sup>rd</sup> and 65<sup>th</sup> days of lactation, a 16 day marker entry was conducted and samples of duodenal chyme were collected on five consecutive days from the 12<sup>th</sup> to the 16<sup>th</sup> day every 10 hours. On day 14 of the marker entry, rumen fluid was extracted from all animals at a defined time point to determine the protozoa count and the short chain fatty acids. On a separate day during the duodenal chyme collection period, milk samples were taken for all animals to determine the milk ingredients. The dry matter flows in the duodenum could be quantified by using the concentration of chromium in the duodenal chyme. Measurement of the microbial N was carried out using near-infrared spectroscopy (NIRS). The program Statistica 12 were used for evaluation of the test data. No differences relating to microbial crude protein synthesis could be determined. With regard to the supply of metabolisable energy (ME), an average microbial crude protein synthesis of 10 g MP per MJ ME in the control group and 9 g MP per MJ ME in the vitamin E group was verified. The investigations in the present feeding study on the question to the effect of vitamin E supplementation on

ruminal fermentation and microbial crude protein synthesis and its efficiency for dairy cattle showed no significant differences between the experimental groups.

## 10. Literaturverzeichnis

- ASCHEMANN, M., LEBZIEN, P., HÜTHER, L., DÖLL, S., SÜDEKUM, K., H. u. DÄNICKE, S. et al., 2012. "Effect of niacin supplementation on digestibility, nitrogen utilisation and milk and blood variables in lactating dairy cows fed a diet with a negative rumen nitrogen balance." *Archives of Animal Nutrition* 66, 200-214.
- BAILEY, E. A., TITGEMEYER, E. C., OLSON, K. C., BRAKE, D. W., JONES, M. L. u. ANDERSON, D. E., 2012. Effects of supplemental energy and protein on forage digestion and urea kinetics in growing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 90, 3490-3504
- BALDI, A., G. SAVOINI, L. PINOTTI, E. MONFARDINI, F. CHELLI und V. DELL'ORTO, 2000. Effects of Vitamin E and different energy sources on vitamin e status, milk quality and reproduction in transition cows. *J. Vet. Med. A.*, 47, 598-608
- BONHOMME J. A., 1990, Rumen ciliates: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. *Anim. Feed Sci.* 73. 2760-2780
- BRAMLEY P. M., I. ELMADAFI, A. KAFATOS, F. J. KELLY, Y. MANIOS, H. E. ROXBOROUGH, W. SCHUCH, P. J. a. SHEEY u. K. H. WAGNER., 2000., Vitamin E. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 913-938
- BRANDT, M. u. ROHR, K., 1981. Beiträge zur Quantifizierung der N-Umsetzung in den Vormägen von Milchkühen. 1. Mitteilung; Bestimmung des Mikrobenstickstoffs im Duodenalchymus mit Hilfe von <sup>15</sup>N. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* 46, 39-48
- BORCHERT, U., 2006. Einfluss unterschiedlicher Fütterungsstrategien auf die Fermentationsbedingungen und Umsetzungen im Pansen der Milchkuh. Dissertation. Rheinische-Friedrich-Wilhelms Universität Bonn
- COLEMAN, G. S., 1980. Rumen ciliate protozoa. *Adv. Parasitol.*, 18, 121-173
- COMMITTEE, J. P. E., 2011. The Japanese Pharmacopoeia. 16 ed. The Society of Japanese Pharmacopoeia : Tokio, Japan
- DIETERLE, P. ENGLING, F., HORST, H., PAUL, C., ROBOWSKY, K. D., TILLMANN, P., 2003. Die Anwendung der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) bei der

Untersuchung von Futtermitteln und pflanzlichen Produkten. Standpunkt VDLUFA  
Bonn: VDLUFA

DRONG, C., MEYER, U., VON SOOSTEN, D., FRAHM, J., REHAGE, J., BREVES, G. u. DÄNICKE, S., 2015. Effect of monensin and essential oils on performance and energy metabolism of transition dairy cows. *J. Anim. Physiol Anim. Nutr.* 100:537-551

ENGELHARDT V., W. u. BREVES, G. 2000. Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Enke im Hippocrates Verlag; GmbH, Stuttgart.

EADIE, J., MAGRET, J., HYLDAARDJENSEN, S. O., MANN, R. S., u. REID, R. S., 1970, Observations on the microbiology and biochemistry of the rumen cattle given different quantities of a pelleted barley ration. *Br. J. Nutr.* 24:157-180

FLACHOWSKY, G., SCHAARMANN, G., SÜNDER, A., 1997. Bedarfsüberschreitene Vitamin E- Gaben in der Fütterung von Nutztieren. *Übers. Tierernährung.* 25, 87-135

FRENCH, D. 1973, Chemical and physical properties of starch. *J Anim. Sci.* 37; 1040-1060

GASSMANN, B., 1995. Natürlich vorkommende Vitamin E- Formen- Geschichte und Stand ihrer Bewertung: Teil 2: Absorption, Transport, Verteilung, Retention. *Ernährungs- Umschau* 42, S.442-446

GEISLER, C., HOFMANN, M. u. HJOKEL, B., 1976. Ein Beitrag zur gaschromatographischen Bestimmung flüchtiger Fettsäuren. *Arch. Anim. Nutr.* 26, 123-129

GFE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie). 2001 Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder. DLG-Verlag, Frankfurt am Main S. 16-122

HINO, T., N. ANDOH u. H. OHGI. 1993. Effects of beta carotene and alpha-tocopherol on rumen bacteria in the utilization of long-chain-fatty acids and cellulose. *J. Dairy Sci.*, 76, 600-605

IDEL, A. 2011. Die Kuh ist kein Klima-Killer. Metropolis Verlag, Marburg S.8

KAWATA, S., 2002. Instrumentation for Near-Infrared- Spectroscopy. In SIESLER, H. W., OZAKI, Y., HEISE, H. M. (Hrsg.) „Near-Infrared- Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications“, Weinheim; WILEY-VCH-Verlag GmbH.

KÖHLER, W., SCHACHTEL, G., VOELSKE, P., 2007. Biostatistik, Eine Einführung für Biologen und Agrarwissenschaftler, 4 Aufl., Berlin-Heidelberg; Springer Verlag, 109-178

LAFLAMME, L.F. and HIDIROGLOU. 1991., Effects of selenium and vitamin E administration on breeding of replacement beef heifers. Ann. Rech.Vet.22, 65-69

LEBZIEN, P., 2005. Ernährungsphysiologische Grundlagen. In: BRADE, W., FACHOWSKY, G. (Hrsg.) Rinderzucht und Milcherzeugung, Empfehlung für die Praxis“, 2 Aufl., Braunschweig: Landbauforschung Völkenrode FAL Agricultural Research, Sonderheft 289, 89-100

LEBZIEN, P., 2006. Investigations on the effect of the ruminal N-balance on rumen metabolism, urea content in blood serum and milk as well as some liver parameters of lactating cows. Arch. Anim. Nutr. 60; 99-109

LEBZIEN, P. Paul, C., 1997. Use of near-infrared reflectance spectroscopy for the estimation of the microbial portion of non-ammonia-nitrogen in the duodenum of dairy cows. Anim. Feed Sci. Technology 68, 225-233

LEBZIEN, P. ROHR, K. u. SCHAFFT, H. 1983. Bestimmung der wahren Verdaulichkeit von Aminosäuren aus dem Dünndarm von Milchkühen. Arch. Anim. Nutr.45:345-360

LEBZIEN, P. u. VOIGT, J., 1999. Calculation of utilizable crude protein at the duodenum of cattle by two different approaches. J. Anim. Nutr. 60 2, 99-110

LEBZIEN, P.,1996. Das deutsche Proteinbewertungssystem für Wiederkäuer in der Diskussion. Kraftfutter 79 S.447-451

LEEDLE, R.A., LEEDLE; J.A.Z, BUTINE D.A., 1993. Vitamin E is not degraded by ruminal microorganisms: assessment with ruminal contents from a steer feed a high-concentrate diet. J. Anim. Sci. 71, 3443-3450

- LOEFFLER, K., GABEL, G., 2009; Anatomie und Physiologie der Haustiere. 12 Aufl., Stuttgart: Eugen Ulmer KG, 210-280
- MABJEESH, S., ARIELI, A., BRUCKENTHAL, I., ZAMWELL, S. u. TAGARI.1979. Effect of ruminal degradability of crude protein and nonstructural carbohydrates on the efficiency of bacterial crude protein synthesis and amino acid flow to the abomasum of dairy cows. J. Dairy Sci. 80, 2939-2949
- MARDONES, P. u. RIGOTTI, A., 2004. Cellular mechanisms of vitamin E uptake: relevance in  $\alpha$ -tocopherol metabolism and potential implications for disease. J. Nutr. Biochem. 15, S. 252-260
- MASOERO, F.; MOSCHINI, M.; BERTUZZI T.; ROSSI F. u. PIVA,G., 1999 Effect of different types of rumen protected vitamin A and E on their rumen degradability and digestibility. Zoot. Nutr. Anim. 25, 3-10
- MCGINN, S. M., BEAUCHEMIN, K. A., COATES. T., COLOMBATTO, D., 2004. Methane emissions from beef cattle; Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast and fumaric acid. J. Anim. Sci. 82, 3346-3356
- MCDOWELL, L. R., WILLIAMS, S. N., HIDRIOGLOU, N., NJERU, C. A., HILL, G. M., OCHOA, L. und WILKINSON, N. S., 1996.Vitamin E supplementation for the ruminant. Anim. Feed Sci. Technol., 60, S. 273-296
- MCDOWELL, L.R., 2000. Vitamins in animal and human nutrition. Iowa State University Press; Second edition S.155-217
- MOEINI, M. M., H. KARAMI und E. MIKAEILI, 2008.Effect of selenium and vitamin E supplementaion during the late pregnancy on reprodutive indices and milk production in heifers. Anim. Reprod. Sci., 10. 48-98
- NAZIROGLU, M., T. GÜLER und A. YÜCE .2002. Effect of Vitamin E on ruminal fermentation in vitro. J. Vet. Med. A, 49,251-255
- NÖLTE, J., 2002. ICP Emissionsspektroskopie für Praktiker, Grundlagen Methodenentwicklung, Anwendungsbeispiele. Weinheim; WILEY-VCH Verlag-GmbH, 1-11

OLTJEN, R. R., 1969. Effects of feeding ruminant's non–nonprotein nitrogen as the only nitrogen source. J. Anim. Sci. 28; 673-682

ORTH, A., KAUFMANN, W., 1961, Die Verdauung im Pansen und ihre Bedeutung für die Fütterung der Wiederkäuer.; Berlin und Hamburg; Parey Verlag

ORTHMAN, K. und B. PHERSON, 1999. Effect of selenate as feed supplement to dairy cows in comparison to selenite selenium yeast. J. Anim. Sci. Invest., 7, 3460-375

PAPPRITZ, J., LEBZIEN, P. MEYER, U., JAHREIS, G., KRAMER, R., FLACHOWSKY, G., DÄNICKE, S., 2011. Duodenal availability of conjugated linoleic acids after supplementation to dairy cow diets. E. J. of Lipid Sci. and Tech. 113, 1443-1455

PARKER, R. S., 1989. Dietary and biochemical aspects of Vitamin E, Adv. Food Nutr. Res. 33, S.157-232

PFEIFFER, E., 1987; Verdauung. In: SCHEUNERT, A., TRAUTMANN, A., WITTKER, G. (Hrsg.) „Lehrbuch der Veterinär- Physiologie“, 7. Aufl., Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey, S. 30-60

POTTIER, J., FOCANT, M., DEBIER, C., DE BUYSSER, G., GOFFE, C., MIGNOLET, E., FROIDMONT, E. u. LARONDELLE, Y. . 2006. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. J. Dairy Sci. 89, 685-692.

PÜSCHNER, A. u. SIMON, O. 1988. Grundlagen der Tierernährung. 4. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Jena.

RIEMEIER, A., 2004. Einfluss der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB) auf die Pansenfermentation, mikrobielle Proteinsynthese, Menge des am Dünndarm anflutenden nutzbaren Rohprotein (nXP) sowie die Stickstoffausscheidung. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

RUSSEL, J. B. u. HESPELL, R.B. 1981. Microbial rumen fermentation. J. Dairy Sci. 64: 1152-1172

SCHAFFT, H. 1983. Untersuchungen zur Quantifizierung des Abbaus von Futterprotein in den Vormägen von Milchkühen, Dissertation, Universität Göttingen.

- SCHERF, H. 1987. Vitamin E in der Rinderfütterung. /Hoffmann-la Roche (Hrsg.)
- SCHERF, H., L.J. MACHLIN, T.M. FRYE, B.A. KRAUTMANN u. S.N. WILLIAMS. 1996., Vitamin E biopotency: Comparison of various „natural-derived“ and chemically synthesized alpha-tocopherols. Anim. Feed Sci. Technol., 59, 115-126
- SCHNEIDER, G.N., 2005. Chemistry and biology of vitamin E. Mol. Nutr. Food Res., 49, 7-30
- SIESLER, H. W., 2002. Instruction. In SIESLER, H. W., OZAKI, Y., KAWATA, S., HEISE, H. M. (Hrsg.) „Near-Infrared- Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications“, 1-10 Weinheim; WILEY-VCH-Verlag GmbH.
- SOEST VAN, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press. 2nd
- STANGL, G. I., 2011. Die Nährstoffe und ihr Stoffwechsel. In KIRCHGESSNER, M., ROTH, F.X., SCHWARZ, F. J. (Hrsg.) „Tierernährung. Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis“, Aufl. 13, Frankfurt am Main; DLG-Verlag, S. 45-132
- TAMMINGA, S., 1979, protein degradation of ruminants, J. Anim. Sci. 49, 1610-1632
- VDLUFA, 1997. Methodenbuch Band 3. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. 4. Ergänzungslieferung. Darmstadt; VDLUFA- Verlag
- VITRANNEN, A. I. 1966. Milk production of cows on protein-free feed. Science 153, 1600-1603
- VON SOOSTEN, D., MEYER, U., HÜTHER, L. und DÄNICKE, S., 2016. Opportunities to reduce the sampling frequency for measurement of duodenal dry matter flow and ruminal microbial crude protein synthesis in dairy cows. In: Proceedings of the Society of Nutrition Physiology, page 50
- WHITE, S. L., BERTRAND, J. A., WADE, M. R., WASBURN, S. P., GREEN J.T. und JENKINS, T. C., 2001. Comparison of fatty acid content of milk from jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. J. Dairy Sci. 84, 2295-2301

WICHTEL, J.J., G.P. KEEFE, J.A. VAN LEEUWEN, E. SPRANGLER, M. A. MCNIEVEN und T. H. OGLIVIE, 2004. The selenium status of dairy herds in Prince Edward Island. Can. Vet. J., 45, 120-131

WILLIAMS, A. G. u. G. S. COLEMAN., 1992. The rumen protozoa. Springer Verlag New York, S.441

ZEILER E., 2010., Einfluss der Supplementation von Vitamin E und Selen auf die Eutergesundheit von Milchkühen, Dissertation, TU München, S.11-27

## Anhang

**Tabelle 11: Mittlere Trockensubstanzaufnahmen der Einzeltiere (T-Aufnahme)**

<b>Kuh</b>	<b>Gruppe</b>	<b>T- Aufnahme (kg/Tag)</b>
2	CLA	21,6
114	CLA	19,3
126	CLA	18,2
541	CLA	15,9
28	Vit. E	17,1
39	Vit. E	17,1
515	Vit. E	15,6
540	Vit. E	17,6

**Tabelle 12: Mittlere tägliche Milchleistung und Milchinhaltsstoffe pro Tier**

<b>Kuh</b>	<b>Gruppe</b>	<b>Milchmenge kg/Tag</b>	<b>ECM</b>			<b>Harnstoff ppm/L</b>
			<b>kg/ Tag</b>	<b>Fett %</b>	<b>Eiweiß%</b>	
2	CLA	44,4	38,9	3,1	3,0	62
114	CLA	42,6	35,5	2,8	2,9	77
126	CLA	29,3	23,1	2,4	3,0	94
541	CLA	34,4	32,2	3,7	2,9	57
28	CLAVE	34,4	34,3	4,3	2,8	90
39	CLAVE	35,9	35,7	4,1	3,1	89
515	CLAVE	29,3	25,7	3,2	2,9	122
540	CLAVE	42,2	44,8	4,8	2,9	107

**Tabelle 13: Laktationsnummer**

<b>Gruppe</b>	<b>Kuh</b>	<b>Laktation</b>
CLA	2	3
CLA	114	2
CLA	126	2
CLA	541	7
Vit. E	28	3
Vit. E	39	3
Vit. E	515	7
Vit. E	540	8

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich beim Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungs-anstalt für Tiergesundheit in Braunschweig und Herrn Prof. Dr. Dr. Dänicke für die Bereitstellung des Forschungsthemas meiner Bachelorthesis bedanken, sowie insbesondere Herr Dr. von Soosten, Herr Dr. Meyer und Frau. Prof. Dr. Schuldt für die vielen Ratschläge und die Unterstützung.

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, Britta Krey, an Eides statt, dass ich diese Bachelorarbeit selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe erstellt habe. Ich habe lediglich, die in der Arbeit angegebenen Hilfen genutzt. Sämtliche Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus schon veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Literaturquellen stammten, habe ich deutlich gekennzeichnet. Diese Bachelorarbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und wurde noch nicht veröffentlicht.

---