

Aus der Medizinischen Tierklinik
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig
und dem Institut für Tierernährung
des Bundesforschungsinstitutes für Tiergesundheit,
Friedrich-Loeffler-Institut, in Braunschweig

**Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme, den Mineralstoff-
und Energiestoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie
auf die Nährstoffverdaulichkeit bei Milchkühen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Hildegard Grabherr
aus Horgenzell

Leipzig, 2010

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Arwid Dauschies
Betreuer: apl. Prof. Dr. Manfred Fürll
Prof. Dr. Gerhard Flachowsky

Gutachter: apl. Prof. Dr. Manfred Fürll, Medizinische Tierklinik der
Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig
Prof. Dr. Gerhard Flachowsky, Institut für Tierernährung des
Bundesforschungsinstitutes für Tiergesundheit, Friedrich-Loeffler-Institut,
Braunschweig
Prof. Dr. Jürgen Rehage, Klinik für Rinder, Stiftung Tierärztliche Hochschule,
Hannover

Tag der Verteidigung: 24.11.2009

Inhaltsverzeichnis

Seite

Abkürzungsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	3
2.1 Definition Hypocalcämie	3
2.2 Ätiologie und Pathogenese der Hypocalcämie	3
2.3 Phosphat- und Magnesiumstoffwechsel im peripartalen Zeitraum.....	5
2.4 Rolle des Säure-Basen-Status im peripartalen Zeitraum	6
2.5 Bedeutung der Futteraufnahme und des Energiestoffwechsels im peripartalen Zeitraum	6
2.6 Methoden zur Gebärpareseprophylaxe	7
2.7 Charakterisierung von Zeolith A.....	9
3 Eigene wissenschaftliche Originalarbeiten	14
3.1 Publikationen.....	15
3.1.1 Grabherr H, Spolders M, Flachowsky G, Fürll M. Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme von trockenstehenden Milchkühen, auf den Mengen- und Spurenelementstoffwechsel im peri- partalen Zeitraum sowie auf die Milchleistung in der folgenden Laktation Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 2008; 121: 41-52.....	15
3.1.2 Grabherr H, Spolders M, Fürll M, Flachowsky G. Effect of several doses of zeolite A on feed intake, energy metabolism and on mineral metabolism in dairy cows around calving J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2009; 93: 221-36.....	41
3.1.3 Grabherr H, Spolders M, Lebzien P, Hüther L, Flachowsky G, Fürll M, Grün M. Effect of several doses of zeolite A on rumen fermentation and phosphorus metabolism in dairy cows Arch. Anim. Nutr.: in press	67
4 Übergreifende Diskussion.....	87
4.1 Effekte durch die Zulage von Zeolith A in Bezug auf die Gebärpareseprophylaxe	87
4.1.1 Einfluss auf den Calciumstoffwechsel	87
4.1.2 Bedeutung des Zeolith/Calcium-Verhältnisses beim Einsatz von Zeolith A	89
4.2 Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme und den Energiestoffwechsel	90
4.2.1 Futteraufnahme	90
4.2.2 Energiestoffwechsel.....	93
4.3 Einfluss von Zeolith A auf den Säure-Basen-Haushalt.....	94
4.4 Futteraufnahme und Milchleistung in der Folgelaktation.....	95
4.5 Einfluss von Zeolith A auf andere Mengen- und Spurenelemente	95
4.5.1 Mg-Stoffwechsel	95
4.5.2 Ausgewählte Spurenelemente.....	96
4.5.3 Phosphorstoffwechsel.....	97
5 Schlussfolgerung.....	102

Inhaltsverzeichnis

6	Zusammenfassung.....	104
7	Summary.....	106
8	Literaturverzeichnis.....	108

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomic Absorption Spectrophotometry
Abb.	Abbildung
ADF	Acid Detergent Fiber
Al	Aluminium
Al ₂ O ₃	Aluminiumoxid (aluminium oxide)
BHB	Beta-Hydroxybutyrat (Beta-Hydroxybutyrate)
bzw.	beziehungsweise
Ca	Calcium
CaO	Calciumoxid (calcium oxide)
Co	Cobalt
CO ₂	Kohlendioxid
Cr ₂ O ₃	Chromium oxide
Cu	Kupfer (Copper)
d	day
DCAD	Dietary Cationic Anionic Difference
DM	Dry Matter
DMF	Dry Matter Flow
DMI	Dry Matter Intake
DOM	Digestible Organic Matter
DXF	Digestible Crude fiber
DXL	Digestible Crude Lipid
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority)
EP	Endogenous Protein
excr.	excretion
FAL	Forschungsanstalt für Landwirtschaft
FCM	Fettkorrigierte Milchmenge (Fat Corrected Milk)
Fe	Eisen (Iron)
FE	fraktionelle renale Excretion (Fractional Urinary Excretion)
FFA	Free Fatty Acids
FFS	Freie Fettsäuren
Fig.	Figure
FLI	Friedrich Loeffler Institut
FOM	Fermented Organic Matter
g	Gramm
GE	Bruttoenergie
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
GH	Wachstumshormon (Growth hormone)
HCl	Salzsäure (Hydrochloric acid)

Abkürzungsverzeichnis

I	Iodine
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry
i.e.	it est
K	Kalium
kg	Kilogramm
l	Liter
meq	Milliequivalent
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
min	minutes
ml	Milliliter
mmol	Millimol
μmol	Mikromol
Mn	Mangan (Mangane)
MP	Microbial Protein
n	Anzahl Tiere oder Proben (number of animals)
N	Nitrogen
Na	Natrium (Sodium)
Na ₂ O	Natriumoxid (sodium oxide)
NABE	Net Acid-Base Excretion
NAN	Non-Ammonia N
NaOH	Natronlauge (sodium hydroxide)
NDF	Neutral Detergent Fiber
NEFA	Non Esterified Fatty acids
NEL	Nettoenergie-Laktation
NH ₃ -N	Ammonia-Nitrogen
NH ₄ ⁺	Ammoniumion (ammonium ion)
NIRS	Near Infrared Spectroscopy
No	Number
NSBA	Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung
nXP	digestible protein
P	Phosphor
p	Signifikanzniveau
P _i	anorganisches Phosphat
PTH	Parathormon (Parathyroid Hormone)
r	Korrelationskoeffizient
REML	Restricted Maximum Likelihood
SAS	Statistical Analysis System
SCFA	Short Chain Fatty Acids
SD	Standardabweichung (Standard Derivation)

Abkürzungsverzeichnis

Se	Selenium
T	Trockensubstanz
TAG	Triacylglyceride
TMR	Totale Mischration
u.a.	unter anderem
uCP	utilizable Crude Protein
UDP	Undegraded Crude Protein
VDLUFA	Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
vs	versus
XA	Rohasche (crude ash)
XF	Rohfaser (crude fiber)
XL	Rohfett (crude lipid)
XP	Rohprotein (crude protein)
XX	N-freie Extraktstoffe
Zn	Zink
1,25-(OH) ₂ -D	1,25-Dihydroxyvitamin D

1 Einleitung

Die peripartale hypocalcämische Gebärparese stellt in der Milchviehhaltung trotz intensiver Forschung hinsichtlich Prophylaxe- und Therapieansätzen nach wie vor ein bedeutsames Problem dar. Mit zunehmender Milchleistung hat die Milchfieberinzidenz in den letzten Jahren zugenommen und beträgt 5-10 % aller adulten Milchkühe (HOUE et al. 2001; MARTIG 2002). Bei Nichtbehandlung können die Tierverluste bis zu 70 % betragen (RIOND 2001). Eine besondere Bedeutung kommt der subklinischen Hypocalcämie zu, da diese oft unerkannt bleibt und Ursache für Leistungsverluste durch sekundär auftretende Komplikationen sein kann. Als mögliche Komplikationen sind zu nennen:

- Schweregeburt (CURTIS et al. 1983; OETZEL 1988)
- Retentio secundinarum (CURTIS et al. 1983; OETZEL 1988; HORST et al. 1997; HOUE et al. 2001)
- Metritis (HOUE et al. 2001; WHITEFORD u. SHELDON 2005)
- Gebärmuttervorfall (RISCO et al. 1984; OETZEL 1988; GOFF u. HORST 1997)
- Mastitis (CURTIS et al. 1983; OETZEL 1988; GOFF 2006b)
- Labmagenverlagerung (CURTIS et al. 1983; OETZEL 1988; GRÖHN et al. 1989; HORST et al. 1997; GOFF u. HORST 1997; GOFF 2006b)
- Ketose (CURTIS et al. 1983; OETZEL 1988; GRÖHN et al. 1989; GOFF u. HORST 1997).

Aufgrund der wirtschaftlichen Bedeutung, wird der Prophylaxe der Hypocalcämie in der Praxis eine wesentliche Bedeutung beigemessen. Bereits in den 50er Jahren wurde die Vorlage einer Ca-armen Ration in der Trockenstehperiode als eine gut wirksame Methode beschrieben (BODA u. COLE 1954). In der heutigen Rationsgestaltung ist eine Ca-arme Fütterung allerdings schwer durchführbar, da bei der herkömmlichen Rationsgestaltung (mit betriebseigenen Futtermitteln) der Calciumgehalt meist oberhalb des empfohlenen Bereichs liegt (BLOCK 1984). Um dieses Problem zu umgehen wurde der Einsatz von Ca-Bindern (Zeolithe) untersucht (THILSING-HANSEN u. JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; KATSOULOS et al. 2005b).

Da der Einsatz von Zeolith A eine relativ neue Strategie zur Vorbeugung der hypocalcämischen Gebärparese darstellt, liegen bislang nur wenige Untersuchungen zum Einfluss auf den Stoffwechsel und die Tiergesundheit vor. Kaum Kenntnisse gibt es zum Einfluss von Zeolith A auf das Futteraufnahmeverhalten. Zum Einfluss auf den Mineralstoffwechsel liegen Untersuchungen zu den Makroelementen Ca, Mg und P, aber nicht zu Spurenelementen vor. Des Weiteren fehlen Dosis-Wirkungs-Studien hinsichtlich Mineralstoffwechsel sowie Futteraufnahme und Energiestoffwechsel. Keine Untersuchungen existieren zu den Wechselwirkungen von Zeolith A mit dem alimentären Phosphor im Gastrointestinaltrakt. Wenig untersucht wurde bisher auch der Einfluss von Zeolith A auf die Nährstoffverdaulichkeit.

Daher sollten in den eigenen Untersuchungen folgende Fragen geklärt werden:

- Wie wirkt sich die Zulage von Zeolith A ante partum auf die Futteraufnahme und den Energiestoffwechsel aus?
- Welchen Einfluss zeigen verschiedene Zeolithdosierungen (ca. 100 bis ca. 1000 g pro Tier und Tag) auf den peripartalen Ca-, Mg- und P-Stoffwechsel?
- Wird der Spurenelementstoffwechsel durch die Einmischung von hohen Zeolith A-Mengen beeinflusst?
- Wie verhält sich Zeolith A in vivo im Gastrointestinaltrakt bei Kühen hinsichtlich Stabilität bei verschiedenen pH-Werten?
- Welchen Einfluss hat Zeolith A auf die Pansenfermentation?
- Wie wirkt sich die Zeolith A-Zulage auf die Verdaulichkeit des Futters aus?
- Hat eine Zeolith A-Zulage ante partum einen Einfluss auf die Milchleistung in der folgenden Laktationsperiode?

2 Literaturübersicht

2.1 Definition Hypocalcämie

Eine Hypocalcämie ist charakterisiert durch stark erniedrigte Calcium- (Ca-) Konzentrationen im Serum infolge einer peripartalen Regulationsstörung des Ca-Stoffwechsels. Verschiedenen Untersuchungen zufolge liegt die untere Grenze für eine Normocalcämie im Bereich von 2 mmol/l (HOVE 1986; DESCOTEAUX 1997; BIGRAS-POULIN u. TREMBLAY 1998; JONNISON 1999). Eine Hypocalcämie kann subklinisch verlaufen oder mit leichten bis schwerwiegenden, ohne Behandlung oft tödlich endenden Symptomen einhergehen. Die Erkrankung zeigt sich je nach Schweregrad als neuromuskuläre Dysfunktion mit schlaffer Lähmung der quergestreiften und glatten Muskulatur, Kreislaufschwäche sowie Bewusstseinsstrübung bis hin zum Koma (MALZ u. MEYER 1992; OETZEL 1988; HOUE et al. 2001).

2.2 Ätiologie und Pathogenese der Hypocalcämie

Die Ursache der akut zum Kalbetermin auftretenden Hypocalcämie liegt in einem plötzlich erhöhten Ca-Bedarf für die Milchbildung. Durch verzögerte Kompensationsmechanismen kommt es zu einem akuten Ca-Mangel (LITLEDIKE et al. 1981; GOFF et al. 1987; HORST et al. 1994). Mit dem Kolostrum (Ca-Gehalt von 1,8-2,3 g/kg) wird etwa 20-30 g Ca pro Tag ausgeschieden (GOFF 2000; MARTIG 2002). Extrazellulär stehen einer Kuh mit 600 kg Lebendmasse lediglich 8-9 g Ca, davon nur 3 g im Plasma zur Verfügung (GOFF 2000). Die Ca-Konzentration im Blut liegt in der Regel zwischen 2,1 und 2,5 mmol/l (GOFF 2006a). Zur Anpassung des erhöhten Ca-Bedarfs unterliegt der Stoffwechsel einem komplexen Regelkreis (Abbildung 1).

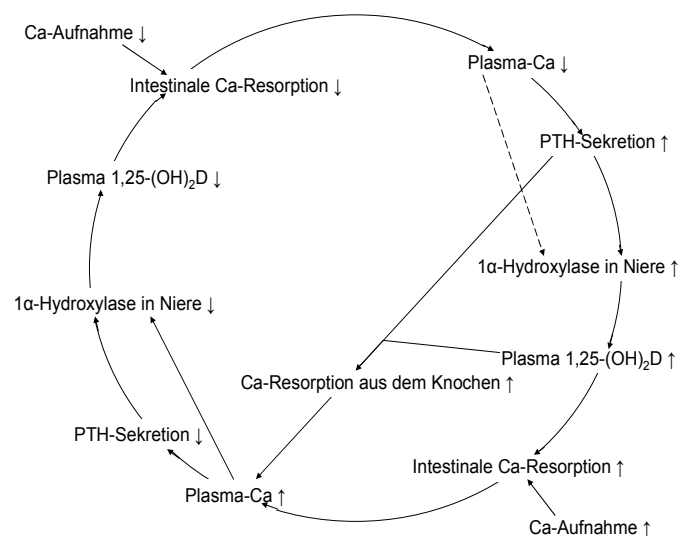


Abbildung 1: Regulation des Calciumstoffwechsels (Horst 1986)

Die Bereitstellung von Ca im extrazellulären Raum wird im Wesentlichen von Parathormon (PTH) und dem 1,25-Dihydroxyvitamin D ($1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$) gesteuert (HORST 1986; GOFF 2006a). Als Ca-Quellen dienen das aus dem Verdauungstrakt resorbierte Calcium sowie das Ca-Depot im Knochen (REINHARDT et al. 1988; Martig 2002; GOFF 2006). Dabei kommt es für die Milchbildung in der Regel zu einem Verlust von bis zu 13 % des osseären Ca, welches in der Spätlaktation wieder aufgefüllt wird (GOFF 2006a). Eine gesteigerte Absorption von Ca im Darm tritt nach etwa 24 Stunden, die Absorption von Ca aus den Knochen erst nach 48 Stunden oder noch später ein (GOFF et al. 1987; MARTIG 2002). Da die PTH- und $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ -Freisetzung bei gesunden und an Gebärparese erkrankten Tieren gleichermaßen hoch oder bei den erkrankten sogar noch höher ist (GOFF et al. 1991; HORST et al. 1994), liegt die Ursache nicht primär in einem Mangel dieser Hormone, sondern vielmehr an einer reduzierten Anzahl bzw. Ansprechbarkeit der Rezeptoren in den Zellen der Zielorgane Darm und Knochen (HORST et al. 1994, GOFF 2000).

Einige Faktoren begünstigen das Auftreten der hypocalcämischen Gebärparese. Ein wesentlicher Faktor ist das Alter der Tiere. Besonders für Tiere ab der dritten Laktation besteht eine erhöhte Inzidenz (LITLEDIKE et al. 1981; CURTIS et al. 1984; HORST et al. 1994; HORST et al. 1997). Eine Ursache ist die verminderte Absorptionsfähigkeit im Darm. HORST et al. (1990) stellten mit Zunahme des Alters eine Reduzierung der Anzahl der $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ -Rezeptoren im Darm fest. Dadurch ist der Organismus weniger in der Lage, Ca aus dem Darm zu resorbieren und benötigt folglich eine verlängerte Adaptationsphase um ausreichend Ca für die Milchbildung zu resorbieren (HORST et al. 1990). Die Inzidenz steigt demnach mit der Laktationsleistung (GRÖHN et al. 1989; HORST et al. 1997). Als ein weiterer prädisponierender Faktor für das Auftreten der Gebärparese wird ein zu hohes Ca-Angebot während der Trockenstehperiode beschrieben (GOINGS et al. 1974; GREEN et al. 1981; KICHURA et al. 1982). Bei einer hohen Ca-Zufuhr überwiegt der parazelluläre Ca-Transport, der dem Konzentrationsgradienten folgt (BRONNER 1987; HORST et al. 1994). Der transzelluläre Ca-Transport, der bei verminderter Ca-Versorgung bzw. bei erhöhtem Bedarf einsetzt, ist vom Ca-Transportprotein abhängig, das von $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ reguliert wird (Horst et al. 1997). Erhalten die Kühe in der Trockenstehperiode eine Ca-reiche Ration, kann der tägliche Bedarf fast ausschließlich durch passive Absorption gedeckt werden und die Mechanismen der aktiven Ca-Mobilisation sind nahezu inaktiv (GOFF et al. 1987). Auch eine phosphor- (P-) reiche Fütterung kann die aktive Ca-Absorption beeinträchtigen. So hemmen hohe Konzentrationen des anorganischen Phosphats (P_i) im Blut die für die Synthese von $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ benötigte renale $25\text{-OH-D-}1\alpha\text{-Hydroxylase}$ (GOFF 2000). In einem Fütterungsversuch mit verschiedenen P-Zulagen in der Ration (10 bzw. 82 g/Tag) lag die $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ -Konzentration ante partum bei hohen P-Gehalten in der Ration niedriger im Vergleich zu Kühen mit P-armer Fütterung (KICHURA et al. 1982). Gleichzeitig wurde bei diesen Tieren häufiger eine Hypocalcämie festgestellt.

Für das Auftreten einer Hypocalcämie spielen auch genetische Faktoren eine wichtige Rolle. OETZEL (1991) stellte in einer Metaanalyse für Holsteinkühe eine Milchfieberinzidenz von ca 11 % fest. Bei Jerseykühen liegt sie mit ca 20 % noch höher (OETZEL 1991; GOFF et al.

1995). Diese Tiere weisen aufgrund verminderter Anzahl von $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ -Rezeptoren eine verminderte Ansprechbarkeit auf $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ (GOFF et al. 1995) auf.

Auch Überkonditionierung (Body-Condition-Score (BCS) > 4 nach EDMONSON et al. 1989) ist als ein weiterer prädisponierender Faktor nicht unerheblich (HEUER et al. 1999).

2.3 Phosphat- und Magnesiumstoffwechsel im peripartalen Zeitraum

Der P-Stoffwechsel wird durch dieselben Hormone wie der Calciumstoffwechsel gesteuert und ist dadurch eng mit dem Ca-Stoffwechsel verbunden (BARTON et al. 1981; HORST 1986; MARTIG 2002; GOFF 2006a). Durch den Anstieg von PTH und $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ als Reaktion auf eine Hypocalcämie wird vermehrt P_i über die Nieren und den Speichel ausgeschieden (GOFF 2000). Demzufolge treten bei hypocalcämischen Kühen peripartal in der Regel auch erniedrigte P_i -Konzentrationen im Serum auf. Allerdings stimuliert PTH auch die P-Freisetzung aus den Knochen und erhöht indirekt durch die Aktivierung der $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ -Freisetzung die P-Absorption aus dem Darm (GOFF 2000). Die physiologische P_i -Konzentration im Serum liegt beim Rind zwischen 1,6 und 2,2 mmol/l (KRAFT u. DÜRR 1999). Sie kann nach der Abkalbung auch deutlich darunter liegen, sollte aber 1,25 mmol/l nicht unterschreiten (KRAFT u. DÜRR 1999). Bis zu 50 % aller klinisch gesunden Kühe weisen peripartal eine erniedrigte P_i -Konzentration im Blut auf (STAUFENBIEL et al. 2002). Bei an Gebärpause erkrankten Kühen haben bis zu 85 % eine Hypophosphatämie (STAUFENBIEL et al. 2002). Die P_i -Konzentration solcher Tiere liegt dann oft nur noch bei 0,3-0,6 mmol/l (GOFF 1998, 2006a). Nach Normalisierung des Ca-Stoffwechsels steigt die P_i -Konzentration durch den Rückgang der PTH-Sekretion und damit verbundener verminderter Ausscheidung von P_i über die Niere bzw. den Speichel sowie durch eine erhöhte P-Absorption nach Wiederherstellung der physiologischen Magen-Darm-Motorik wieder an (GOFF 1998). Im Vergleich zum Ca ist die P-Absorption im Gastrointestinaltrakt stärker vom alimentären P-Angebot abhängig. Die P_i -Konzentration im Plasma korreliert eng mit der P-Absorption (PFEFFER et al. 1993; GOFF 2006a). Einige Studien belegen erniedrigte Serumkonzentrationen von P_i nach einer P-Unterversorgung (KINCAID et al. 1981; BREVES et al. 1985; CALL et al. 1987; VALK et al. 2002). Neben dem P-Gehalt in der Ration spielen auch andere Rationskomponenten für die P-Absorption eine wichtige Rolle. So können hohe Gehalte von Ca, Mg, Al oder Fe im Darm mit dem P zu nicht resorbierbaren Verbindungen komplexieren und die Absorption behindern (HORST 1986; REINHARD et al. 1988; ROSOL u. CAPEN 1997).

Die Magnesium- (Mg-) Konzentration im Blut liegt bei hypocalcämischen Tieren in der Regel im Normalbereich mit einer Tendenz zur Hypermagnesämie (MARTIG 2002; STAUFENBIEL et al. 2002). Der Referenzbereich für Mg im Serum liegt nach KRAFT u. DÜRR (1999) bei gesunden Kühen zwischen 0,75 und 1,30 mmol/l. Der Grund für eine Hypermagnesämie liegt in der durch die Hypocalcämie induzierten PTH-Sekretion und der damit verbundenen renalen Rückreorption von Mg (RIOND et al. 1995). Allerdings ist bei Verfütterung von Rationen mit niedrigen Mg-Gehalten auch ein Auftreten von Hypomagnesämie möglich (ALLEN u. DAVIES 1981). Eine Mg-Mangelversorgung tritt

insbesondere bei Fütterung von rasch gewachsenem Grünfütter auf (MARTIG 2002). Anders als bei Ca und P_i unterliegt Mg weniger stark einer hormonellen Regulation (ROSOL u. CAPEN 1997). Die Mg-Homöostase resultiert vielmehr aus der Absorption im Verdauungstrakt und der renalen Ausscheidung (ROSOL u. CAPEN 1997) und ist damit stärker von der alimentären Mg-Zufuhr abhängig (GOFF 2004, 2006).

2.4 Rolle des Säure-Basen-Status im peripartalen Zeitraum

Der Säure-Basen-Haushalt spielt für den Mineralstoffwechsel eine wichtige Rolle. Zur Beurteilung kann im Harn die Netto-Säuren-Basen-Ausscheidung (NSBA) über die Nieren nach den Methoden von KUTAS (1965) und LACHMANN (1981) gemessen werden. Der physiologische Bereich der Gesamt-NSBA liegt bei Kühen ab der zweiten Laktation zwischen 80 und 215 mmol/l (FÜRLI 2005). Eine alkalotische Stoffwechsellage ante partum gilt als prädisponierender Faktor für die Entstehung von Milchfieber (HORST et al. 1992). Ursache ist eine herabgesetzte Sensibilität der Ca-regulierenden Hormone (GOFF et al. 1991a; HORST et al. 1992). Eine milde metabolische Acidose dagegen steigert die Ansprechbarkeit von PTH (GOFF et al. 1991a; HORST et al. 1992). Kühe sind peripartal in der Regel einer acidotischen Belastung ausgesetzt, was ursächlich auf direkte Geburtseinflüsse zurück zu führen ist (FÜRLI et al. 1991). Dies wiederum trägt zu einer Verbesserung der Calciumbilanz durch gesteigerte Ca-Absorption im Verdauungstrakt sowie zur Ca-Mobilisierung aus den Knochen bei (GAYNOR et al. 1989). Dies wurde in einer Untersuchung mit trockenstehenden Kühen (HÖRÜGEL u. FÜRLI 1998) mit abnehmender NSBA in den letzten zwei Wochen der Trächtigkeit und höheren Ca-Konzentrationen im Blut zum Zeitpunkt der Kalbung bestätigt.

2.5 Bedeutung der Futteraufnahme und des Energiestoffwechsels im peripartalen Zeitraum

In den letzten Wochen der Trächtigkeit ist in der Regel mit einem Rückgang der Trockensubstanz- (T-) Aufnahme um 30 % zu rechnen (BERTICS et al. 1992; GRUMMER 1995; DRACKLEY 2002). Am stärksten ausgeprägt ist der Rückgang in der letzten Trächtigkeitswoche (BERTICS et al. 1992; GRUMMER 1995). Neben der raumfordernden Entwicklung des Fetus sind endokrine Veränderungen zur Anpassung des Stoffwechsels an die Geburt und Milchbildung in der Transitphase eine mögliche Ursache für die verminderte Futteraufnahme (GRUMMER 1995). Insbesondere ist diese Phase mit einer vermehrten Freisetzung von Wachstumshormon (GH), Prolactin und Glucocorticoiden und einer verminderten Freisetzung von Insulin und Schilddrüsenhormonen gekennzeichnet. GH stimuliert die Gluconeogenese und hemmt die Lipogenese (BAUMAN u. VERNON 1993; ETHERTON u. BAUMANN 1998; ROSSOW 2004). Glucocorticoide stimulieren ebenfalls die Gluconeogenese und führen zusammen mit GH zu einer erhöhten Anzahl an β -adrenergen Rezeptoren und somit zu einer gesteigerten catecholaminergen Lipolyse (VERNON 2002; ROSSOW 2004). Die verminderte Futteraufnahme sowie die hormonelle Umstellung bewirken eine Fettmobilisation am Ende der Trächtigkeit (GRUMMER 1995). Dies spiegelt

sich in einer erhöhten Konzentration von freien Fettsäuren (FFS) im Blut wider. BERTICS et al. (1992) und STUDER et al. (1993) beschrieben zwischen 17 und 2 Tagen ante partum einen Anstieg der FFS im Plasma um das Zweifache und bei der Kalbung einen weiteren Anstieg um denselben Faktor. Während der Anstieg zum Zeitpunkt der Kalbung auf den hormonellen Einfluss infolge des Geburtsstresses (Anstieg von Adrenalin bzw. Noradrenalin) zurückzuführen ist (GRUMMER 1995), resultiert der Anstieg ante partum aus dem Rückgang der Futteraufnahme und dient der Energiebereitstellung für den Fetus und das Muttertier (GRUMMER 1993). Diese Strategie birgt allerdings für die Hochleistungskuh ein erhöhtes Risiko für Stoffwechsellentgleisungen (VERNON 2002). Die durch die Lipolyse freigesetzten FFS werden in der Leber als Triacylglyceride (TAG) gespeichert, zu CO₂ oxidiert bzw. zu Ketonkörper umgebaut oder in Lipoproteine eingebaut und in die Blutbahn abgegeben (ROSSOW 2004). Eine negative Energiebilanz und ein gestörter Kohlenhydratstoffwechsel in der Leber nach der Kalbung führen zu einer gesteigerten Ketonkörperproduktion (FÜRL 2000; DRACKLEY et al. 2001; DRACKLEY 2002), weshalb neben den freien Fettsäuren auch die Beta-Hydroxybutyrat- (BHB)-Konzentration im Blut einen wichtigen Indikator für die Energieversorgung, insbesondere post partum darstellt. Nach FÜRL et al. (1992) korreliert die BHB-Konzentration eng mit der Energieversorgung.

2.6 Methoden zur Gebärpareseprophylaxe

Es gibt eine Reihe von Möglichkeiten zur Vorbeugung einer hypocalcämischen Gebärparese. Tabelle 1 gibt einen Überblick über verschiedene Vorbeugungsstrategien.

Eine gut untersuchte Methode ist die Ca-arme Fütterung in den letzten Wochen der Trächtigkeit. Bei einer Ca-Aufnahme von maximal 20 g/Tier/Tag gegen Ende der Trächtigkeit sind die Tiere in einer negativen Ca-Bilanz, was bereits vor der Kalbung eine Aktivierung der PTH-Sekretion und Synthese von 1,25-(OH)₂-D bewirkt (HORST et al. 1997; HOUE et al. 2001). In der Praxis ist diese Methode insbesondere bei Verfütterung von Gras- und Maissilage mit relativ hohen Ca-Gehalten (4,0-6,5 g/kg T; BEYER et al. 2003) allerdings kaum durchzusetzen.

Ein anderer Ansatzpunkt zur Prävention der hypocalcämischen Gebärparese ist die Applikation von Vitamin D-Präparaten. Der Wirkungsmechanismus besteht darin, dass 1,25-(OH)₂-D, das hauptsächlich am Dünndarm wirkt, die Produktion eines Ca-bindenden Proteins aktiviert und somit eine gesteigerte enterale Ca-Absorption fördert (SACHS et al. 1982). Allerdings birgt die Supplementierung von Vitamin D-Präparaten unter Umständen die Gefahr der Induktion einer verzögerten Gebärparese nach mehreren Tagen post partum, welches wahrscheinlich auf eine Hemmung der renalen 1 α -Hydroxylase zurückzuführen ist (LITLEDIKE u. HORST 1982; HOVE u. KRISTIANSEN 1984). Des Weiteren erfordert der Einsatz dieser Präparate die Kenntnis des genauen Kalbetermins. Eine intramuskuläre Applikation ist nur dann ausreichend wirksam, wenn es in einem Zeitraum von vier Tagen bis 24 Stunden ante partum, bei einigen synthetischen Vitamin D-Präparaten auch bis sechs Tage ante partum verabreicht wird (GOFF u. HORST 1990).

Durch peripartale orale Ca-Substitution kann ebenfalls einer Hypocalcämie entgegengewirkt werden. Da die erste Gabe einen Tag vor der Kalbung erfolgen sollte, setzt allerdings auch diese Methode die Kenntnis des genauen Kalbetermins voraus. Der Einsatz von ungeschütztem Calciumchloridgel oder -boli birgt außerdem die Gefahr einer Schleimhautreizung im Vormagensystem und damit verbundenen Entzündungsreaktionen (OETZEL et al. 1998; FÜRLL et al. 1998) sowie einer Acidose bei sehr hohen Gaben (GOFF u. HORST 1993).

Bei der gezielten Steuerung der Kationen- und Anionenkonzentrationen in der Trockensteherration (DCAD-Konzept) wird durch einen Anionenüberschuss eine milde metabolische Acidose induziert, wodurch eine gesteigerte Ca-Absorption im Darm und Ca-Freisetzung aus den Knochen erreicht wird (BLOCK 1984; GAYNOR et al. 1989; GOFF et al. 1991a; BLOCK 1994). Ein wesentlicher Nachteil dieses Verfahrens ist allerdings die Geschmacksbeeinträchtigung des Futters (KAMPHUES 1996; MOORE et al. 2000). Bei Überdosierung von Ammoniumverbindungen besteht des Weiteren auch die mögliche Gefahr der Entstehung von Azidosen oder Hyperammonämien (KAMPHUES 1996).

Tabelle 1: Methoden zur Vorbeugung der hypocalcämischen Gebärparesse

Methoden	Wirkungsmechanismus	Literatur
Ca-arme Diät (< 20 g/Tag) in den letzten 2 Wochen der Trächtigkeit	Negative Ca-Bilanz führt zu einer gesteigerten PTH-Sekretion bereits vor der Kalbung	GREEN et al. 1981; KICHURA et al. 1982; HORST et al. 1997; HOUE et al. 2001
Orale oder parenterale Vitamin D-Applikation einige Tage vor der Kalbung	gesteigerte Ca-Absorption im Dünndarm	LITLEDIKE u. HORST 1982; HOVE u. KRISTIANSEN 1984; GOFF und HORST 1990; HORST et al. 2003; GOFF 2006a
Orale Ca-Applikation peripartal	Erhöhte Ca-Versorgung für die Milchbildung, Ausgleich der negativen Ca-Bilanz	OETZEL 1993; GOFF et al. 1996; OETZEL et al. 1998; PEHRSON et al. 1998 ; SCOTT u. WIJK 1999
Anionenreiche Rationsgestaltung (DCAD-Konzept) in den letzten 2 Wochen ante partum	Induktion einer milden Acidose durch Anionen-überschuss in der Ration, dadurch gesteigerte Ca-Absorption im Darm und Ca-Freisetzung aus den Knochen	BLOCK 1984; GAYNOR et al. 1989; GOFF et al. 1991; FÜRLL et al. 1996; MOORE et al. 2000; OETZEL 2000; CHARBONNEAU et al. 2006; GOFF 2006a;
Einmischung von Ca-bindenden Substanzen (Zeolithe) in der Ration 2 bis 4 Wochen ante partum	Aktivierung der Ca-regulierenden Hormone ante partum durch Verringerung der Ca-Absorption	THILSING-HANSEN u. JØRGENSEN 2001, THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003, KATSOULOS et al. 2005b

Im Vergleich zu den genannten Präventionsmethoden, die schon seit mehreren Jahren bekannt sind, stellt der Einsatz von Calciumbindern (Zeolithen) in der Ration eine relativ neue Strategie zur Vorbeugung von Milchfieber dar. Durch die Bindung von Ca in der Ration an das Zeolith wird dieses nicht resorbiert und kann damit vom Stoffwechsel nicht genutzt werden, was folglich zu einer negativen Calciumbilanz entsprechend einer calciumarmen Fütterung führt (THILSING-HANSEN u. JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003). Im Gegensatz zum DCAD-Konzept, ist diese Form der Gebärpäresephylaxe eher als eine Methode zu betrachten, die den Stoffwechsel nur geringfügig beeinflusst (keine Acidose erzeugend).

Unterstützend zu den spezifischen Vorbeugungsstrategien ist die Vermeidung einer Überkonditionierung der Tiere von großer Bedeutung. Der Body Condition Score (BCS, nach EDMONSON et al. 1989) ante partum sollte nicht mehr als 4 betragen (FÜRLI et al. 1996).

2.7 Charakterisierung von Zeolith A

Im Jahre 1756 entdeckte der schwedische Baron von CRONSTEDT eine neue Gruppe von Mineralien, die beim Erhitzen durch Wasserabgabe zu brodeln beginnen, so dass es aussah als würden sie sieden. Von dieser Eigenschaft leitete er den Namen Zeolith ab, das in der griechischen Sprache für „Siedender Stein“ (zein = sieden, lithos = Stein) steht. BRECK (1974) definierte diese Stoffgruppe als kristalline hydratisierte Aluminiumsilikate mit Gerüststruktur, Alkali- oder Erdalkalimetalle enthaltend, synthetisiert oder natürlich vorkommend. Die allgemeine empirische Formel ist $M_{x/n} [(AlO_2)_x (SiO_2)_y] \cdot (H_2O)_z$, wobei n für die Ladung des Alkali- bzw. Erdalkalimetalls (M) steht. Das Grundgerüst baut sich aus Al^{3+} - und Si^{4+} -Oxidtetraedern auf und bildet ein Kristallgitter mit offenen Hohlräumen. In diesen Hohlräumen lagern sich Wassermoleküle und austauschbare Kationen an.

Das synthetisch hergestellte Zeolith A ist ein Natrium-Aluminiumsilikat mit der Formel: $Na_{12}Al_2Si_{12}O_{48} \cdot 27 H_2O$. 1 g Zeolith A hat eine Kationenaustauschkapazität von 5,48 meq und damit folgende Bindungskapazitäten (EFSA 2004):

- 0,126 g Na^+
- 0,214 g K^+
- 0,067 g Mg^{2+}
- 0,11 g Ca^{2+}
- 0,103 g NH_4^+
- 0,10 g Cu^{2+}

Die hohe Kationenaustauschkapazität wurde für verschiedene Untersuchungen zur Bindung unerwünschter Stoffe in der Fütterung von landwirtschaftlichen Nutztieren genutzt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Studien zum Einsatz von Zeolith A in der Fütterung von landwirtschaftlichen Nutztieren zwischen 1984 und 2007

Tierart und - kategorie	Fragestellung	Menge Art und Dauer der Applikation	Untersuchte Effekte	Autor
Lamm	Biologische Effekte von Zeolith bei unterschiedlichen Protein- und N-Gehalten in der Ration	3 % in der Ration (Mais/ Mais + Harnstoff /Mais + Soja) eingemischt, über 9 Wochen	Erhöhte Harnstoffkonzentration, erniedrigte Zn-Konzentration im Plasma, kein Einfluss auf Ca-, Mg- und P-Konzentrationen	POND et al. 1984
Ferkel	Wirkung von Zeolith bei Cd-induzierten Anämien	3 % in der Ration (mit und ohne Zusatz von 92 ppm Cd), über 31 Tage	Bindung von Cd und dadurch partiell Verhinderung einer Cd-Vergiftung	POND u. YEN 1984
Milchkühe	Wirkung von Zeolith mit und ohne NaHCO ₃ -Zulage auf Futteraufnahme, Milchleistung und –zusammensetzung, Nährstoffverdauung und der Passagerate im Verdauungstrakt	2 % in der Ration (mit und ohne Zusatz von NaHCO ₃), über 28 Tage	Negativer Effekt auf Futteraufnahme, Nährstoffverdauung und Milchleistung	JOHNSON et al. 1988
Schwein	Effekte zwischen Zeolith und Cu-Supplementierung auf Wachstumsleistung, Magenulzeration, Schlachtkörperzusammensetzung und Mineralstoffgehalten im Gewebe	0,5 % mit und ohne Zusatz von 250 ppm Cu, über 60 Tage	Keine Verhinderung von Cu-Einlagerung in der Leber und kein Schutz vor Magenulzera durch Zeolith A-Supplementierung	WARD et al. 1991
Broilerküken	Einfluss von Zeolith und ansteigende Ca-Gehalte in der Ration auf Wachstums-, Plasma- und Tibiamerkmale	0,75 % bei Ca-Zulagen von 0,6 bis 1,2 %, über 10 Tage	Bei niedriger Ca-Zulage höhere Knochenstabilität der Tibia; bei hoher Ca-Zulage verminderte Knochenmineralisierung (excl. Tibia)	WATKINS u. SOUTHERN 1992
Masthähnchen	Affinität verschiedener Zeolithdosierungen zu Aflatoxin <i>in vitro</i> und Schutz gegen diesen <i>in vivo</i>	1 % ins Futter (mit Aflatoxin versetzt), über 21 Tage	Detoxifikation von Aflatoxin	MIAZZO et al. 2000
Milchkühe in Spätlaktation	Wirkung von oral gedrenchtem Zeolith auf die Ca-Konzentration im Blut	500 g 2 x täglich als Drench, über 3 Tage	Erniedrigte Ca-Konzentration im Serum, anschließend Anstieg der Serumkonzentration („overshooting“)	JØRGENSEN et al. 2001

Tabelle 2: Fortsetzung

Tierart und - kategorie	Fragestellung	Menge Art und Dauer der Applikation	Untersuchte Effekte	Autor
Milchkühe, trockenstehend	Vorbeugung von Milchfieber und subklinischer Hypocalcämie	1000 g/Tag in die Ration, 4 Wochen ante partum	Ca-Stoffwechsel-stabilisierende Wirkung peripartal	THILSING- HANSEN u. JØRGENSEN 2001
Milchkühe, trockenstehend	Wirksamkeit auf peripartale Ca-, Mg- und P-Homöostase	700 g/Tag in die Ration, 3 Wochen ante partum	Ca-Stoffwechsel-stabilisierende Wirkung peripartal, Erniedrigte Mg- und P _i -Konzentrationen im Plasma	THILSING- HANSEN et al. 2002
Milchkühe, trockenstehend	Einfluss von Zeolithfütterung in der Trockenstehperiode auf den peripartalen Ca-, Mg- und P-Status	500 bis 1000 g/Tag in die Ration, 2 bis 4 Wochen ante partum	Rückgang des Gebärpareserisikos um 3 bis 100 %, abhängig von der Zeolithmenge; Erniedrigte Mg- und P _i -Konzentrationen im Plasma	THILSING- HANSEN et al. 2003
Milchkühe, trockenstehend	Einfluss von Zeolith auf renale Ca-Exkretion	800 g/Tag in die Ration, 2 bis 3 Wochen ante partum	Anstieg der renalen Ca-Excretion ein Tag nach Versuchsbeginn, anschließend allmählicher Rückgang auf Ausgangsniveau	ENEMARK et al. 2003a
Milchkühe, trockenstehend, nichttragend	Einfluss auf Ca-Stoffwechsel (Blut- und Harnparameter) und auf unerwünschte Wirkungen auf andere Mineralstoffe (Na, Mg, P) und Säure-Basenhaushalt	709 g/Tag in die Ration; über 7 Tage	Geringgradige Erniedrigung von Ca im Serum und Urin, signifikant erniedrigte Mg- und P _i -Konzentrationen im Serum und Urin	ENEMARK et al. 2003b
Milchkühe, trockenstehend	Einfluss von Zeolith-, Mg- und P-Supplementierung ante partum auf die peripartale Mineralstoffkonzentrationen im Serum	500 g/Tag (mit hohen und niedrigen Mg- und P-Zulagen) in die Ration, 2 Wochen ante partum	reduzierte Zeolith-induzierte Hypophosphatämie bei zusätzlicher Mg- und P-Supplementierung, gleichzeitig verminderte peripartale Stabilisierung der Ca-Konzentration im Serum	PALLESEN et al. 2007
Milchkühe, trockenstehend	Wirkung von Zeolith bei variierenden Ca und P-Zulagen	600 g/Tag (mit hohen und niedrigen Ca- und P-Zulagen in die Ration, 2 Wochen ante partum	verminderte peripartale Stabilisierung der Ca-Konzentration im Serum bei hoher P-Zulage	THILSING et al. 2007

JØRGENSEN et al. (2001) sahen in der calciumbindenden Eigenschaft von Zeolith A eine Möglichkeit zur Prävention der hypocalcämischen Gebärparese der Milchkuh und untersuchten die Wirkung von Zeolith A auf den Calciumstoffwechsel nach oraler Applikation bei Kühen. Durch die Bindung von Ca im Futter soll eine negative Ca-Bilanz ante partum zur Aktivierung von PTH und 1,25-(OH)₂-D vor der Kalbung induziert werden. In einem Versuch mit laktierenden Kühen zeigte sich eine geringgradige Erniedrigung der Ca-Konzentration im Serum, nachdem die Tiere mit Zeolith A gedrencht wurden (JØRGENSEN et al. 2001). Dieses Resultat veranlasste THILSING-HANSEN u. JØRGENSEN (2001), den Effekt von Zeolith A an tragenden Kühen im peripartalen Zeitraum zu untersuchen. Dazu erhielten die Tiere etwa 4 Wochen ante partum bis zur Kalbung 1000 g Zeolith A pro Tier und Tag in die Ration eingemischt. Zum Zeitpunkt der Kalbung wurde eine stabilisierende Wirkung auf den Calciumstoffwechsel beobachtet. In einer weiteren Studie mit einer Zeolith A-Zulage von 700 g/Tier/Tag in Form von Pellets wurde zusätzlich eine erhöhte 1,25-(OH)₂-D-Aktivität ante partum festgestellt, welche eine Reaktion des Stoffwechsels auf die negative Calciumbilanz als Folge einer verminderten Calciumabsorption darstellt (THILSING-HANSEN et al. 2002). Auch *in vitro* zeigte Zeolith A Ca-bindende Eigenschaften im Pansensaft (THILSING et al. 2006). Nach Zusatz von Zeolith A zum Pansensaft mit einem pH-Wert von 7,8 erniedrigte sich die Konzentration von löslichem Ca signifikant.

Bei der Wahl der Dosierung von Zeolith A spielt neben den absoluten Zeolithmengen auch das Zeolith A/Ca-Verhältnis (Zeolith A-Aufnahme in g pro Tier und Tag/Ca-Aufnahme in g pro Tier und Tag) eine wichtige Rolle (THILSING-HANSEN et al. 2003). So wurde in einer Untersuchung von THILSING-HANSEN et al. (2003) trotz einer Dosierung von 500 g Zeolith A pro Tier und Tag keine signifikante Reduzierung der Gebärparesehäufigkeit erreicht, weil die Calciumaufnahme der Tiere sehr hoch war (91 g Calcium pro Tier und Tag) und demnach das Zeolith/Calcium-Verhältnis nur bei 5:1 lag. In dieser Studie wurde eine signifikante Reduzierung der Hypocalcämieinzidenz bei einem Zeolith/Calcium-Verhältnis zwischen 10:1 und 20:1 beschrieben. Allerdings wurde ein möglicher Einfluss auf die Futteraufnahme bei der Wahl der Dosierung nicht berücksichtigt.

Mit Hilfe der folgenden Formel lässt sich der prozentuale Rückgang der aufgetretenen Hypocalcämiefälle am Tag der Kalbung errechnen (THILSING-HANSEN et al. 2003):

$$\text{Rückgang [\%]} = \frac{\text{Hypocalcämie Kontrollkühe [\%]} - \text{Hypocalcämie Versuchskühe [\%]}}{\text{Hypocalcämie Kontrollkühe [\%]}} * 100$$

Neben dem erwünschten Effekt auf den Calciumstoffwechsel wurde allerdings in einigen Studien auch ein negativer Einfluss auf den Phosphorstoffwechsel festgestellt (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; ENEMARK et al. 2003b). THILSING-HANSEN et al. (2002) sahen als Ursache dafür die Instabilität von Zeolith A bei niedrigen pH-Werten im Labmagen und der damit verbundenen Freisetzung von Aluminium (Al) aus dem Zeolithverband. In

einer Studie (COOK et al. 1982) zum Abbauverhalten von Zeolith A konnte gezeigt werden, dass dieses Material im sauren Milieu bei einem pH-Wert von 4 und niedriger partiell unter Freisetzung von Kieselsäure, amorphem Aluminiumsilikat und freiem Al zerfällt. Da sich freies Al mit P_i verbinden kann, so dass P_i im Gastrointestinaltrakt nicht mehr resorbiert werden kann (ALLEN 1984), wird dieser Mechanismus maßgeblich zu der erniedrigten P_i -Konzentration im Serum von Kühen nach Zeolith A-Supplementierung führen (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003). THILSING et al. (2006) stellten in *in vitro* Untersuchungen mit Pansensaft nach Zusatz von Zeolith A und anschließendem Zuführen von HCl nachweislich eine Erniedrigung von löslichem Phosphat im Pansensaft fest. Die Instabilität im sauren Milieu unterscheidet das synthetische Zeolith A von den natürlichen Zeolithen. Der Unterschied liegt in einem engen Al/Si-Verhältnis (1:1 für Zeolith A; COOK et al. 1982). Clinoptilolith dagegen, das zu den natürlichen Zeolithen zählt, weist z.B. ein Al/Si-Verhältnis von 1:5 auf. In einem Fütterungsversuch zum Einfluss auf die Milchfieberinzidenz und auf den Mineralstoffwechsel bei Milchkühen mit Clinoptilolith wurde kein negativer Effekt auf den Phosphatstoffwechsel festgestellt (KATSOULOS et al. 2005b).

Neben Makroelementen haben Zeolithe auch eine hohe Bindungskapazität für Spurenelemente. Während bislang noch keine Untersuchungen zum Einfluss vom synthetisch hergestellten Zeolith A auf den Spurenelementstoffwechsel beim Wiederkäuer vorliegen, wurde Clinoptilolith dahingehend in einigen Studien untersucht (POND 1989; BOSI et al. 2002; KATSOULOS et al. 2005a). In all diesen Untersuchungen wurde jedoch kein Effekt festgestellt.

Die viel versprechenden Resultate zur Verwendung von Zeolith A zur Milchfieberprävention veranlassten eine Antragstellung der dänischen Delegation zur Zulassung von Zeolith A für den spezifischen Ernährungszweck "Reduzierung von Milchfieber bei Milchkühen". Dazu wurde zunächst eine Dosierung von 1000 g Zeolith A pro Tier und Tag empfohlen (EFSA 2004). Zeolith A ist in der Futtermittelindustrie als Futterzusatzstoff (Technologische Zusatzstoffe) für alle Tierarten und -kategorien ohne Höchstmengenbegrenzung zugelassen (EG-Verordnung 1831/2003). Entsprechend der Richtlinie 2008/4/EG der Kommission vom 09.01.2008 ist dieser Futterzusatzstoff in die Richtlinie 94/39/EG für den spezifischen Ernährungszweck der "Reduzierung von Milchfieber bei Milchkühen" mit einer Maximaldosierung von 500 g Zeolith A pro Tier und Tag aufgenommen worden. In der Humanernährung wird es auch als Lebensmittelzusatzstoff (E 554) eingesetzt (EFSA 2004).

3 Eigene wissenschaftliche Originalarbeiten

Die Untersuchungen umfassten insgesamt drei verschiedene Fütterungsversuche mit Milchkühen. Das eingesetzte Zeolith A wurde von der IMPAG GmbH, Offenbach bezogen. Der Futterzusatzstoff war fein pulverisiert und hatte eine Restfeuchte von 20 ± 2 %. Das Calciumbindevermögen war mit > 160 mg CaO/g (114 mg Ca²⁺) deklariert.

In der ersten Studie wurde die Wirkung einer hohen Zeolith A-Dosierung (90 g/kg T) in den letzten zwei Wochen der Trächtigkeit auf die Futteraufnahme und den Energiestoffwechsel, den Makro- und Spurenelementen im Serum sowie auf die Milchleistung von Kühen untersucht. Die Tiere waren in eine Kontroll- und eine Versuchsgruppe eingeteilt. Dazu wurde die tägliche T-Aufnahme erfasst und Serum für die klinisch chemischen Untersuchungen gewonnen. Nach der Kalbung wurden Laktationsleistung und Milchzusammensetzung untersucht (**Publikation 1**).

In der zweiten Studie wurden Kühe für die Dosis-Wirkungsstudie in den letzten vier Wochen der Trächtigkeit in vier Versuchsgruppen eingeteilt. Während einer Adaptationsphase von zwei Wochen erhielten die Tiere eine TMR ohne Zeolith A-Zulage. In den letzten zwei Trächtigungswochen wurde 0, 12, 23 bzw. 43 g Zeolith A/kg Trockensubstanz in die Ration eingemischt. Auch hier wurde die tägliche T-Aufnahme erfasst und die klinisch chemischen Parameter im Serum untersucht. Die folgende Laktationsleistung wurde ebenfalls erfasst (**Publikation 2**).

In der dritten Studie wurde mit doppelt fistulierten Milchkühen der Effekt von verschiedenen Zeolith A-Dosierungen auf den Verdauungsstoffwechsel und das Verhalten von Zeolith A, insbesondere die Wechselwirkungen mit Phosphor in verschiedenen Verdauungsabschnitten untersucht. Die Tiere erhielten 0, 10 bzw. 20 g Zeolith A/kg T über einen Zeitraum von drei Wochen in die Ration eingemischt. Für diese Studie wurden Pansensaft, Darmsaft und Serum gewonnen (**Publikation 3**).

3.1 Publikationen

3.1.1 Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme von trockenstehenden Milchkühen, auf den Mengen- und Spurenelementstoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie auf die Milchleistung in der folgenden Laktation

Influence of zeolite A supplementation during the dry period of dairy cows on feed intake, on the macro and trace element metabolism around calving and milk yield in the following lactation

Hilde Grabherr¹, Markus Spolders¹, Gerhard Flachowsky¹, Manfred Füll²

¹Institut für Tierernährung, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Braunschweig

²Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig Medizinische Tierklinik, Leipzig

Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift 2008; 121: 41-52

Zusammenfassung

In dieser Studie wurde der Einfluss von Zeolith A, einem Calciumbinder aus der Gruppe der Aluminiumsilikate, auf die Futteraufnahme, den Mengen- und Spurenelementstoffwechsel sowie die Milchleistung in der folgenden Laktation bei Milchkühen untersucht. Dazu wurden 46 Kühe in 2 Gruppen (A-Kontrollgruppe und B-Versuchsgruppe) eingeteilt. In den letzten 2 Wochen ante partum wurde den Tieren eine Totale Mischration (TMR) zur freien Aufnahme vorgelegt. Die Tiere der Gruppe B erhielten zusätzlich 90 g Zeolith A/kg Trockensubstanz (T). Die Futteraufnahme der Einzeltiere wurde täglich erfasst. Im Serum wurden die Konzentrationen von Ca, Mg und P_i (anorganisches Phosphat), Fe, FFS (freie Fettsäuren) und β-HB (β-Hydroxybutyrat) und im Plasma von Cu, Zn und Mn bestimmt. Nach der Kalbung wurden die Milchmenge (fettkorrigiert) und -inhaltsstoffe (Fett, Eiweiß, Laktose und Harnstoff) bestimmt. Nach Einmischung von Zeolith A in die TMR war die mittlere Futteraufnahme in Gruppe B mit $6,2 \pm 1,3$ kg T/Tier/Tag um 48 % im Vergleich zu Gruppe A ($12,0 \pm 1,4$ kg T/Tier/Tag) niedriger. Die Zeolithzulage zeigte eine stabilisierende Wirkung auf die Ca-Konzentration im Serum. Dieser Effekt führte am Kalbetag und 1 Tag post partum auch zu einer signifikant niedrigeren Mg-Konzentration. Des Weiteren war in Gruppe B bereits 7 Tage vor dem errechneten Kalbetermin bis zum Kalbetag eine signifikante Erniedrigung der P_i-Konzentration im Serum festzustellen. Kein wesentlicher Effekt von Zeolith A war auf die Spurenelementkonzentration festzustellen. Die verminderte Futteraufnahme der Tiere in Gruppe B führte zu einer signifikanten Erhöhung der Konzentration von FFS eine Woche nach Versuchsbeginn und von β-HB zum Zeitpunkt der Kalbung. Nach der Kalbung waren die Futteraufnahme sowie die Laktationsleistung zwischen den Gruppen gleich. Aufgrund der stark herabgesetzten Futteraufnahme bei den Tieren in Gruppe B nach Zeolithzusatz und der aufgetretenen Hypophosphatämie ist ein Einsatz von Zeolith A in der eingesetzten Dosierung nicht vertretbar.

Schlüsselwörter: Zeolith A, Milchkuh, Subklinische Hypocalcämie, Prophylaxe, Futteraufnahme, Mengenelemente, Spurenelemente, Milchleistung

Summary

The object of the present study was to determine the influence of zeolite A, a calcium binder from the group of the aluminosilicate, on feed intake, macro and trace element metabolism as well as the milk yield in the following lactation in dairy cows. 46 cows were allotted to 2 groups (A-control group and B-experimental group). They were fed a total mixed ration (TMR) ad libitum 2 weeks before calving. Additionally the cows in group B received 90 g zeolite A/kg dry matter (DM). The individually feed intake was registered daily. The serum was analysed for Ca, Mg, and P_i (inorganic phosphate), Fe, FFA (free fatty acid) and β-HB (β-hydroxybutyrate) and the plasma for the trace elements Cu, Zn, and Mn. After calving the milk yield (FCM) and the milk composition (fat, protein, lactose and urea) were analysed. Feed intake of group B, amounting to $6,2 \pm 1,3$ kg DM/d was around 48 % lower as compared to $12,0 \pm 1,4$ kg DM/d for group A. The zeolite addition into the TMR showed a stabilizing

effect on the average Ca concentration in the serum around calving. This effect led to a significantly lower Mg concentration on the day of calving and 1 day post partum. The P_i -concentration was significantly lower already after the 1st week of zeolite supplementation and on the day of calving as compared to group A. There was no essential effect of zeolite A on the trace element concentration. The depression of feed intake for group B led to a significant increase of FFA one week after beginning zeolite supplementation and of β -HB around calving. The feed intake post partum as well as the milk yield were not affected by zeolite supplementation. Because decreased feed intake of group B after zeolite supplementation and the occurred hypophosphatemia, it is not acceptable to use zeolite A in the proved dose for preventing milk fever.

Keywords: Zeolite A, dairy cow, subclinical hypocalcaemia, prevention, feed intake, macro elements, trace elements, milk yield.

Einleitung

In der Milchviehhaltung haben peripartale Stoffwechselstörungen bei Hochleistungskühen aufgrund steigender Milchleistung nach wie vor eine große Bedeutung (FLEISCHER et al., 2001). Die hypocalcämische Gebärparese bezeichnet eine akute Störung des Calciumstoffwechsels bei der Milchkuh, die in der Regel kurz nach dem Kalben auftritt. Prädisponiert sind vor allem Hochleistungskühe ab der 3. Laktation. Die Inzidenz liegt weltweit bei 5 bis 10 % aller adulten Milchkühe (MARTIG 2002; RINGS et al. 1997). Bereits eine subklinische Hypocalcämie kann negative Auswirkungen auf verschiedene physiologische Funktionen haben (HOUE et al. 2001). DESCOTEUX et al. (1997) beschrieben einen unteren Grenzwert für die Normocalcämie von 2 mmol Ca /l Serum.

Der Einsatz von Zeolith A ante partum als Calciumbinder wird als eine mögliche Präventionsstrategie von Milchfieber diskutiert (THILSING-HANSEN u. JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003). Zeolith A soll das über das Futter aufgenommene Calcium im Gastrointestinaltrakt binden und eine Resorption weitgehend verhindern. Ziel ist es, eine negative Calciumbilanz ante partum herbeizuführen und somit die Calciumhomöostase um die Geburt zu gewährleisten.

In einzelnen Studien wurde über positive Effekte auf die Calciumhomöostase nach Zulage von Zeolith A am Ende der Trockenstehperiode berichtet (THILSING-HANSEN u. JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003). Eine Untersuchung mit Clinoptilolith (natürliches Zeolith) zeigte ebenfalls eine Verringerung der Milchfieberinzidenz nach einer Zulage ante partum (KATSOULOS et al. 2005b).

Das synthetische Zeolith A, ein Natrium-Aluminiumsilikat, findet als Wasserenthärter in der Waschmittelindustrie und Aquaristik Verwendung. In der Futtermittelindustrie ist es als Fliesshilfsmittel und als gerinnungshemmender Futterzusatz für alle Tierarten und -kategorien für sämtliche Futtermittel zugelassen (Verordnung (EG) Nr. 2439/1999 der Kommission vom 17. November 1999, gestützt auf die Richtlinie des Rates vom 23. November 1970 über Zusatzstoffe in der Tierernährung, 70/524/EWG). Des Weiteren wird es auch als

Lebensmittelzusatzstoff (E 554) eingesetzt. In jüngster Zeit wurden Bemühungen angestellt, Zeolith A in die Richtlinie 93/74/EWG aufzunehmen zum speziellen Ernährungszweck für trockenstehende Milchkühe zur Prävention der hypocalcämischen Gebärdparese. Zu dessen Eignung bedarf es prüfender Studien (EFSA 2004).

Wie sich Zeolith A auf die Futteraufnahme von Milchkühen auswirkt wurde bisher kaum untersucht. In bisherigen Untersuchungen wurde nach Zulage von Zeolith A jeweils eine verminderte Futteraufnahme erfasst (JOHNSON et al. 1988; THILSING-HANSEN et al. 2002). Bei einem Fütterungsversuch mit natürlichen Zeolithen an laktierenden Milchkühen wurde dagegen keine negative Beeinflussung der Futteraufnahme festgestellt (HEMKEN et al. 1984). Ein Versuch mit Bullen zeigte sogar eine tendenziell gesteigerte Futteraufnahme nach Einmischung von Clinoptilolith in die Ration (SWEENY et al. 1984). Auch FUKUSHEMA (1979) berichtete über gesteigerte Futteraufnahmen von laktierenden Milchkühen nach Zeolithzulage.

Über Wechselwirkungen von Zeolith A mit Spurenelementen bei Wiederkäuern liegen bislang noch keine Studien vor. Eine Untersuchung mit Clinoptilolithen an laktierenden Milchkühen zeigte keinen Effekt auf den Spurenelementstoffwechsel (KATSOULOS et al. 2005a). Ebenso konnte keine Interaktion von Clinoptilolith mit Kupfer bei Schaflämmern mit induzierten Kupferintoxikationen festgestellt werden (POND et al. 1989). Eine Studie mit Bentonit-Gaben an Schafböcken dagegen zeigte eine erniedrigte Bioverfügbarkeit von Kupfer (IVAN et al. 1992).

Ziel der eigenen Untersuchung war, zu prüfen, wie sich die Einmischung von Zeolith A in hohen Dosen in eine TMR (total mixed ration) auf die tägliche Futteraufnahme auswirkt und ob sie möglicherweise Konsequenzen auf den Energiestoffwechsel hat. Des Weiteren sollte untersucht werden, welchen Einfluss Zeolith A auf die Konzentration von Ca, Mg und P sowie der Spurenelemente Cu, Zn und Mn im Blutserum (-plasma) hat und welche Rolle dabei die Futteraufnahme ante partum spielt. Ebenso sollte die Frage geklärt werden, wie sich eine Fütterung von Zeolith A ante partum auf die nachfolgende Laktation hinsichtlich Milchleistung und Milchinhaltsstoffen auswirkt.

Material und Methoden

Tiere

Die experimentellen Untersuchungen wurden im Herbst des Jahres 2004 auf der Versuchstation der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) in Braunschweig mit 46 trockenstehenden Milchkühen der Rasse Deutsche Holstein durchgeführt. Die Tiere wurden 13 bis 28 Tage vor dem errechneten Geburtstermin von der Weide in den Versuchsstall eingestallt. Tatsächlich kalbten die Kühe aus Gruppe A (Kontrollgruppe) im Mittel 19 ± 6 Tage und aus Gruppe B (Versuchsgruppe) 17 ± 5 Tage nach Versuchsbeginn. Die Kühe befanden sich am Ende der 2. bis 5. Laktation und waren gleichmäßig auf die Gruppen verteilt (Tab. 1). Die Haltung der Tiere erfolgte in einem Liegeboxenlaufstall auf Vollspaltenboden mit Einzel- fütterung. In der letzten Woche ante partum wurden die Tiere auf Stroh gehalten.

Tabelle 1: Tierverteilung nach Zahl der abgeschlossenen Laktationen

Laktationszahl	n	
	Gruppe A	Gruppe B
2	14	13
3	6	6
4	2	3
5	1	1

Charakterisierung des Zusatzstoffes Zeolith A

Das eingesetzte Zeolith A ist ein synthetisch hergestelltes Natrium-Aluminiumsilikat ($\text{Na}_{12}\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48} \times 27\text{H}_2\text{O}$). Es besitzt eine Kationenbindungskapazität von 5,48 meq/g. 1 g Zeolith A hat folgende Bindungskapazität zu den Elementen (in g):

K^+ : 0,214; Cu^{2+} : 0,174; Na^+ : 0,126; Ca^{2+} : 0,11; NH_4^+ : 0,103; Mg^{2+} : 0,067 (MUMPTON u. FISHMAN 1977; MUMPTON 1999).

Dieser Futterzusatz wurde von der Firma IMPAG GmbH, Offenbach bezogen (chemische Zusammensetzung sowie physikalische Eigenschaften s. Tab. 2).

Tabelle 2: Chemische Zusammensetzung und physikalische Eigenschaften von Zeolith A ($\text{Na}_{12}\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48} \times 27\text{H}_2\text{O}$) (Herstellerinformation)

Na_2O	$18 \pm 1 \%$
Al_2O_3	$28 \pm 1 \%$
SiO_2	$32 \pm 1 \%$
H_2O	$20 \pm 1 \%$
Feststoffgehalt	$80 \pm 2 \%$
pH (5 % Suspension)	$11,5 \pm 0,5$
Calciumbindevermögen (CaO-wasserfrei)	$> 160 \text{ mg}$

Fütterung

Es wurden zwei Gruppen zu je 23 Tieren gebildet (Gruppe A und B). Beide Tiergruppen erhielten ab Versuchsbeginn (2–3 Wochen ante partum) bis zum Zeitpunkt der Geburt eine Totale Mischration (TMR), bestehend aus 48 % Maissilage, 32 % Grassilage und 20 % Kraftfutter für Trockensteher zur freien Aufnahme. Gruppe B erhielt darüber hinaus im Mittel 90 g Zeolith A pro kg T täglich in die TMR eingemischt. Die Zusammensetzung des Kraftfutters ist in Tabelle 3 aufgelistet. In Tabelle 4 sind die Gehalte an Rohnährstoffen sowie an Ca, Mg und P der eingesetzten TMR aufgeführt.

Die Futteraufnahme wurde täglich tierindividuell über computergesteuerte Wägetröge erfasst. Mit der Kalbung wurde die Zeolithfütterung beendet. Bei der Erfassung der mittleren Futteraufnahme wurden Futteraufnahmen, die technisch bedingt unter 2 kg T bzw. über 18 kg T pro Tier und Tag lagen aus der Berechnung herausgenommen. Die Auswertung der Futteraufnahme erfolgte ab Versuchstag 1 mit allen Tieren. Da die Tiere nicht exakt nach 14 Tagen abkalbten, lag die Versuchsdauer für die einzelnen Tiere zwischen 8 und 29 Tagen. Bei der

Ergebnisdarstellung ist daher eine mittlere Versuchsdauer von 17 Tagen ausgewertet worden, wodurch allerdings am letzten Versuchstag (Tag 17) nur noch von 11 Tieren der Gruppe A bzw. 8 Tieren der Gruppe B Daten vorhanden sind. Da eine Kuh aus der Kontrollgruppe bereits am 2. Versuchstag kalbte, wurden in dieser Gruppe nur von 22 Tieren die Futteraufnahmen ante partum erfasst.

Tabelle 3: Zusammensetzung des Kraftfutters für Trockensteher

Futterbestandteile	Gehalt in %
Sojaextraktionsschrot	20,0
Gerste	31,0
Weizen	31,0
Trockenschnitzel	10,0
Sojaöl	1,5
Mineralfutter	6,5
(6 % Ca; 8 % P; 8,5 % Na; 5% Mg)	

Tabelle 4: Nährstoff- und Mineralstoffgehalte \pm SD in der TMR (n = 4)

	TMR A	TMR B
Trockensubstanz, T (%)	31,4 \pm 1,5	33,4 \pm 1,7
Organische Substanz, OS (g/kg T)	931,1 ^b \pm 4,0	878,4 ^a \pm 12,2
Rohasche, XA (g/kg T)	68,9 ^a \pm 4,0	121,6 ^b \pm 12,2
Rohprotein, XP (g/kg T)	129,0 ^b \pm 7,3	117,4 ^a \pm 4,7
Rohfett, XL (g/kg T)	33,7 ^b \pm 2,3	26,8 ^a \pm 1,3
Rohfaser, XF (g/kg T)	212,8 ^b \pm 1,5	192,8 ^a \pm 10,2
ADF (g/kg T)	233,0 ^b \pm 4,9	214,0 ^a \pm 7,0
NDF (g/kg T)	427,7 ^b \pm 12,9	390,8 ^a \pm 10,3
N-freie Extraktstoffe, XX (g/kg T)	555,6 \pm 7,2	541,4 \pm 21,3
Ca (g/kg T)	4,16 ^b \pm 0,14	3,81 ^a \pm 0,13
Mg (g/kg T)	2,38 ^b \pm 0,16	2,18 ^a \pm 0,15
P (g/kg T)	4,13 ^b \pm 0,10	3,78 ^a \pm 0,10
Bruttoenergie, GE (MJ/kg T)	18,31 ^b \pm 0,11	17,12 ^a \pm 0,23
Nettoenergie-Laktation, NEL (MJ/kg T)	5,92 \pm 0,03	5,01 \pm 0,08

a < b; p < 0,05

Nach der Kalbung wurden einige Tiere aus versuchstechnischen Gründen in Ställen untergebracht, wo keine tierindividuelle Erfassung der Futteraufnahme möglich war. Dadurch konnten zur Ermittlung einer exakten Futteraufnahme nach der Kalbung repräsentativ noch 11 Tiere aus jeder Gruppe über 105 Tage zur Auswertung herangezogen werden. Die Kühe erhielten post partum eine Mischsilage aus 60 % Mais und 40 % Gras auf Trockensubstanzbasis zur freien Aufnahme und Kraftfutter nach Milchleistung zugeteilt. Futterproben in der TMR

wurde täglich und aus der Mais- und Grassilage jeden 2. Tag die Trockensubstanz bestimmt. Für die Laboranalysen wurden Futterproben über 2 Wochen zu einer Sammelprobe gepoolt. Insgesamt waren es jeweils 4 Sammelproben aus dem Grund- und Kraftfutter bzw. der TMR. Die Bestimmung der Roh Nährstoffe der eingesetzten Futtermittel erfolgte mittels Weender-Analyse nach den Vorschriften des VDLUFA (2004), Methodenbuch III, im Labor des Instituts für Tierernährung der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig. Die organische Substanz, die N-freien Extraktstoffe sowie die Energie wurden rechnerisch ermittelt. Die sauren (ADF) und neutralen Detergenzienfaser (NDF) wurden nach den modifizierten Vorschriften 6.5.1 und 6.5.2 nach GOERING u. VAN SOEST (1970) bestimmt. Der Gehalt an Ca, P, und Mg wurde in den einzelnen Futtermitteln (Mais-, Grassilage und Kraftfutter) nach den VDLUFA-Vorschriften (Nr. 10.6.1, modifiziert) bestimmt. Die Gehalte in der TMR wurden rechnerisch nach den prozentualen Anteilen der Einzelkomponenten ermittelt.

Blutproben

Zur Beurteilung der Stoffwechsellage wurden von allen Tieren 14 Tage (unmittelbar vor Beginn der Versuchsfütterung) und 7 Tage vor dem errechneten Geburtstermin, am Tag der Kalbung, 1 und 2 Tage sowie 7 Tage nach der Kalbung Blut aus der Vena jugularis externa genommen. Außer am Kalbetag erfolgte die Blutentnahme direkt nach der morgendlichen Fütterung. Am Tag der Kalbung wurde das Blut nach dem Kalbevorgang entnommen. Da eine Kuh aus der Kontrollgruppe bereits am zweiten Versuchstag kalbte, erfolgte die Probennahme 7 Tage vor dem errechneten Geburtstermin in dieser Gruppe nur von 22 Tieren. Zu den übrigen Probennahmeterminen waren es jeweils 23 Tiere in jeder Gruppe. Das Blut wurde in 10 ml-Sarstedt-Röhrchen mit Lithium-Heparin für Plasma und mit Plastikkügelchen für Serum aufgefangen. Anschließend wurde es bei 3000 g 10 Minuten bei 15° C zentrifugiert. Der Überstand wurde in 3 ml-Sarstedt-Röhrchen abgefüllt und bis zur Analyse bei -19° C tiefgefroren. Die Untersuchung der klinisch-chemischen Parameter im Blutserum erfolgte an der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig mit Hilfe des Roche/Hitachi 912 Automatic Analyser von Roche Diagnostics GmbH Mannheim. Die Messung der Spurenelementkonzentrationen (Cu, Zn und Mn) im Plasma wurde am Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig mit dem Atomabsorptionsspektrometer AAS 929 von Unicam (England) durchgeführt. Hierzu wurden Blutproben von 14 Tagen ante partum (Versuchsbeginn), 1 Tag und 2 Tage post partum ausgewählt.

Milchproben

Während der gesamten Laktation wurde täglich die Milchmenge erfasst. Hierfür konnten aus Gruppe A 21 und aus Gruppe B 22 Tiere ausgewertet werden. Zweimal wöchentlich wurden Milchproben zur Untersuchung der Milchinhaltsstoffe gewonnen.

Berechnungen

Aus der mittleren Zeolithaufnahme und der aufgenommenen Calciummenge der Tiere aus Gruppe B wurde das Zeolith-Calcium-Verhältnis nach THILSING-HANSEN et al. (2003) berechnet. Anhand der Häufigkeit der aufgetretenen Hypocalcämien ($\text{Ca} < 2 \text{ mmol/l}$) am Tag der Kalbung konnte der Rückgang der Häufigkeit der subklinischen Hypocalcämie in % berechnet werden.

Statistische Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe von Excel (Version 2002, Betriebssystem Windows XP) und des Statistikprogramms SAS 9.1. Die Mittelwerte und die Standardabweichungen wurden mit Hilfe der Prozedur MEANS berechnet. Es wurde eine Varianzanalyse mit dem folgenden einfaktoriellem fixen Modell durchgeführt:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

mit: Y_{ij} = Beobachtungswerte der Zielvariablen

μ = Mittelwert der Gesamtstichprobe

α_i = fixer Effekt der Gruppen

e_{ij} = Normalverteilter Fehler einer Zufallsvariablen

Anschließend wurde ein Mittelwertvergleich unter Anwendung des TUKEY-Tests durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % angenommen.

Ergebnisse

Futteraufnahme ante partum

In Abbildung 1 sind die mittleren täglichen Futteraufnahmen der Tiere der beiden Gruppen dargestellt. Die mittlere Futteraufnahme der Kühe in Gruppe A lag bei $12,0 \pm 1,4 \text{ kg T/Tier/Tag}$. Im Vergleich dazu war die mittlere Futteraufnahme in Gruppe B nach Einmischung von Zeolith A mit $6,2 \pm 1,3 \text{ kg T/Tier/Tag}$ unter den hier gegebenen Versuchsbedingungen dramatisch erniedrigt ($p < 0,0001$). Während sich bei den Tieren in Gruppe A die Futteraufnahme bis zum 5. Tag steigerte, ging sie bei den Tieren in Gruppe B ab dem 3. Tag deutlich zurück. Bei einer mittleren T-Aufnahme von $6,2 \text{ kg T}$ lag die Energie- und Proteinversorgung dieser Tiere mit im Mittel $31,2 \text{ MJ NEL}$ bzw. 732 g XP pro Tier und Tag deutlich unter den Versorgungsempfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (2001) und war signifikant niedriger im Vergleich zu den Tieren in Gruppe A, deren mittlere Energieaufnahme bei $71,0 \text{ MJ NEL}$ und die mittlere Proteinaufnahme bei 1546 g XP pro Tier und Tag lag ($p < 0,0001$) (Tab. 5). Aus der verminderten Futteraufnahme der Tiere in Gruppe B resultierte auch eine verminderte Mineralstoffaufnahme (Tab. 5), welche aber noch in der Übereinstimmung mit den Versorgungsempfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (2001) lag. Die mittlere täglich aufgenommene Zeolithmenge in Gruppe B variierte zwischen 376 und 834 g je Tier. Das Maximum der Verteilungskurve liegt bei einer aufgenommenen Zeolithmenge im Bereich von 600 bis 700 g pro Tag (Abb. 2). Über den Versuchszeitraum betrug die mittlere Zeolithaufnahme $565 \pm 122 \text{ g/Tier/Tag}$ und die Calciumaufnahme $23,5 \text{ g/Tier/Tag}$. Daraus errechnet sich ein Zeolith/Calcium-Verhältnis

von 24. Da eine fest vorgegebene Zeolithmenge pro kg T in die TMR eingemischt wurde, war auch das Verhältnis konstant.

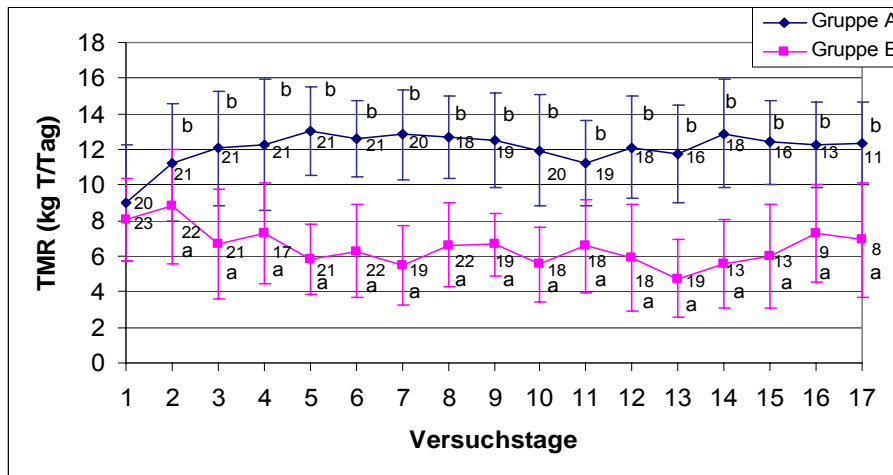


Abbildung 1: Vergleich der mittleren Futteraufnahme \pm SD mit und ohne Zeolithzusatz von Versuchsbeginn bis 1 Tag ante partum (Zahlen an den einzelnen Datenpunkten = Anzahl der Stichproben). $a < b$; $p < 0,05$

Tabelle 5: Vergleich der mittleren Energie (NEL)-, Protein (XP)- sowie Mengenelementversorgung \pm SD ante partum pro Tier und Tag zwischen den beiden Tiergruppen und den GfE-Versorgungsempfehlungen (2001)

	Gruppe A (n = 22)	Gruppe B (n = 23)	Versorgungsempfehlung
NEL, MJ	71,0 ^b \pm 8,3	31,2 ^a \pm 6,6	53,5
XP, g	1546 ^b \pm 182	732 ^a \pm 154	1170
Ca, g	49,6 ^b \pm 6,1	23,5 ^a \pm 5,1	34
Mg, g	28,2 ^b \pm 3,9	13,3 ^a \pm 3,0	16
P, g	49,3 ^b \pm 5,8	23,4 ^a \pm 5,0	22

$a < b$; $p < 0,05$

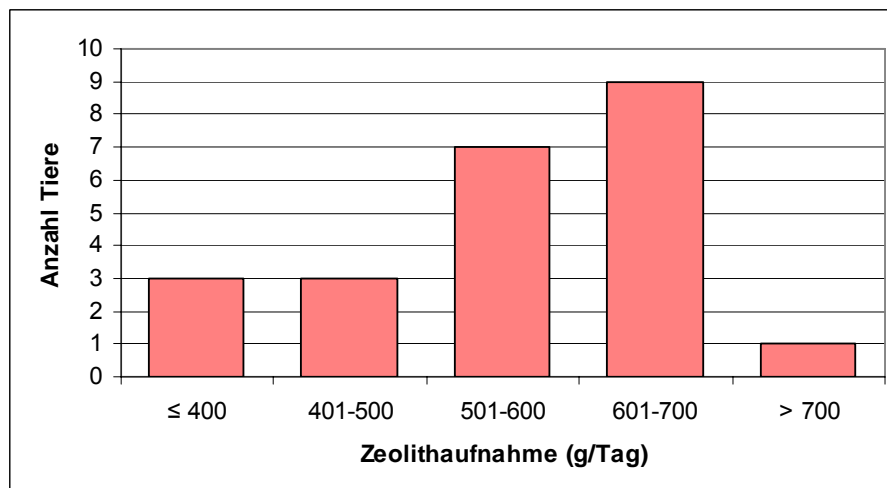


Abbildung 2: Mittlere aufgenommene Zeolithmenge in g pro Tier und Tag.

Mengen- bzw. Spurenelementkonzentrationen im Blut

Abbildung 3 zeigt den Verlauf der Calciumkonzentration im Serum von Versuchsbeginn (14 Tage ante partum) bis 7 Tage post partum.

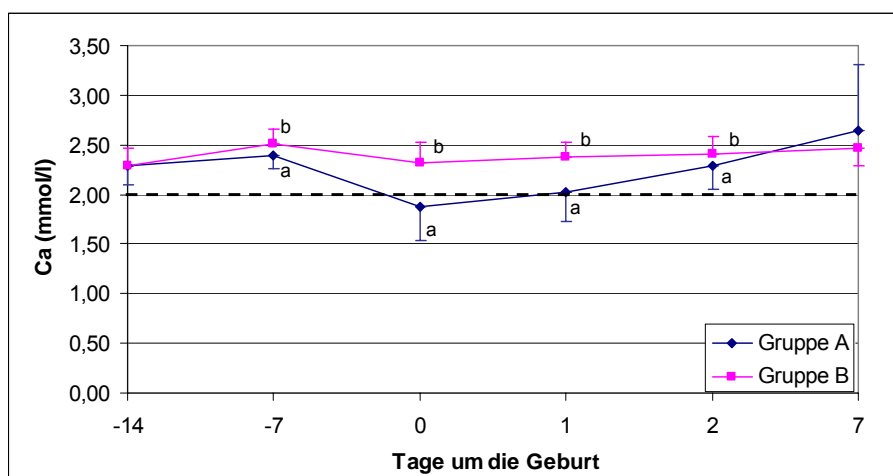


Abbildung 3: Verlauf der Calciumkonzentration \pm SD im Serum (mmol/l) von 23 Tieren je Gruppe. Die gestrichelte Linie stellt die Grenze für die Hypocalcämie (< 2 mmol/l, DESCOTEUX et al. 1997) dar. $a < b$; $p < 0,05$

Zu Versuchsbeginn war die mittlere Serumcalciumkonzentration in beiden Gruppen gleich (Gruppe A $2,29 \pm 0,20$ mmol/l, Gruppe B $2,29 \pm 0,18$ mmol/l). Bereits ab 7 Tage vor dem errechneten Geburtstermin zeigten die Tiere der Gruppe B eine signifikant höhere Ca-Konzentration im Serum im Vergleich zu Gruppe A ($p = 0,017$). Zum Zeitpunkt der Geburt sank die mittlere Konzentration bei den Tieren in Gruppe A im Mittel auf $1,87 \pm 0,34$ mmol/l ab und lag unter der Grenze für eine Hypocalcämie (2 mmol/l; DESCOTEUX et al. 1997). Bei den Tieren in Gruppe B hingegen zeigte die Calciumkonzentration peripartal einen stabilen Verlauf. Am Tag der Kalbung betrug die mittlere Konzentration $2,32 \pm 0,20$ mmol/l. Einen Tag post partum erholten sich die Tiere der Gruppe A allmählich von der Calciumdepression. Die mittlere Konzentration lag mit $2,03 \pm 0,30$ mmol/l wieder über der Grenzlinie, war aber im Vergleich zu Gruppe B, deren mittlere Calciumkonzentration zu diesem Zeitpunkt bei $2,37 \pm 0,15$ mmol/l lag, immer noch hochsignifikant erniedrigt ($p < 0,0001$). Zwei Tage post partum waren die Unterschiede ebenfalls signifikant ($p = 0,0417$), aber die Serumcalciumkonzentration in Gruppe A lag zu diesem Zeitpunkt wieder im stabilen Bereich ($2,28 \pm 0,23$ mmol/l). Bei den Tieren in Gruppe B veränderte sich die Konzentration kaum ($2,41 \pm 0,18$ mmol/l). 7 Tage post partum war die Calciumkonzentration zwischen den Gruppen wieder nahezu gleich. Während des Versuchszeitraumes wurde bei zwei Tieren aus Gruppe A durch den Hoftierarzt eine klinische Hypocalcämie diagnostiziert. Von der subklinischen Hypocalcämie ($Ca < 2$ mmol/l) am Tag der Kalbung waren in Gruppe A 16 von 23 Tieren betroffen. In Gruppe B waren es hingegen nur 4 von 23 Kühen. Aus diesen Ergebnissen ergibt sich eine Inzidenz für die Hypocalcämie von 70 % bei

den Tieren aus Gruppe A, dagegen nur 17 % bei den Tieren aus Gruppe B. Somit war ein Rückgang der Häufigkeit an subklinischer Hypocalcämie von 76 % zu verzeichnen.

Die Magnesiumkonzentration im Serum lag über den Versuchszeitraum bei beiden Tiergruppen innerhalb eines physiologischen Bereiches von 0,75–1,3 mmol/l (KRAFT et al. 1999) (Abb. 4). Zu Versuchsbeginn betrug die Mg-Konzentration bei den Tieren der Gruppe A im Mittel $1,03 \pm 0,09$ mmol/l und der Gruppe B $1,04 \pm 0,13$ mmol/l. Während die Mg-konzentration im Serum in Gruppe B über den Versuchszeitraum nahezu konstant blieb, kam es bei den Kühen der Gruppe A zum Kalbetag zunächst zu einem Anstieg auf $1,11 \pm 0,14$ mmol/l (Gruppe B $0,95 \pm 0,10$ mmol/l). Der Unterschied zwischen den Gruppen war signifikant ($p = 0,0001$). Ein Tag nach der Kalbung sank die Mg-Konzentration bei den Tieren der Gruppe A wieder auf $1,08 \pm 0,14$ mmol/l ab (Gruppe B $0,97 \pm 0,11$ mmol/l). Die Differenz war jedoch immer noch signifikant ($p = 0,007$). Ab dem 2. Tag nach der Kalbung waren keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen den Gruppen festzustellen.

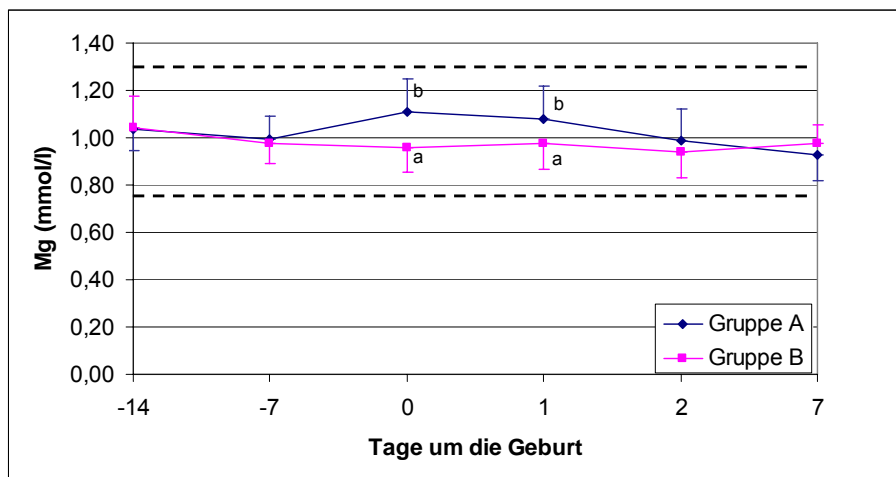


Abbildung 4: Verlauf der Magnesiumkonzentration \pm SD im Serum (mmol/l) von 23 Tieren je Gruppe. Die gestrichelten Linien stellen die obere und untere Grenze des Referenzbereiches (0,75 – 1,3 mmol/l, KRAFT et al. 1999) dar. $a < b$; $p < 0,05$

Abbildung 5 zeigt den Verlauf der Konzentration von anorganischem Phosphat (P_i) im Serum. Zu Versuchsbeginn lag die Konzentration von anorganischem Phosphat (P_i) im Serum in beiden Gruppen mit $1,73 \pm 0,40$ mmol/l (Gruppe A) bzw. $1,71 \pm 0,47$ mmol/l (Gruppe B) innerhalb des Referenzbereiches von 1,25–2,20 mmol/l (KRAFT et al. 1999). Bereits in der ersten Woche nach Zeolithzulage sank die P_i -Konzentration bei den Kühen der Gruppe B unterhalb der unteren Grenze des Referenzbereiches (1,25 mmol/l; KRAFT et al. 1999) auf $0,61 \pm 0,27$ mmol/l ab, während die Konzentration in Gruppe A dagegen zunächst auf $1,81 \pm 0,46$ mmol/l anstieg. Zum Tag der Kalbung war die P_i -Konzentration mit $0,69 \pm 0,37$ mmol/l (Gruppe B) ebenfalls signifikant niedriger als in Gruppe A ($1,17 \pm 0,50$ mmol/l) ($p = 0,0006$). Ab dem ersten Tag post partum stabilisierte sich der Phosphatstoffwechsel in beiden Gruppen und die Werte lagen wieder innerhalb des Referenzbereiches. Obwohl es in Gruppe B ante partum zu einem dramatischen

Konzentrationsabfall von P_i im Serum kam (bei einzelnen Tieren sogar $< 0,3$ mmol/l), erkrankte kein Tier an einer klinisch manifesten Hypophosphatämie.

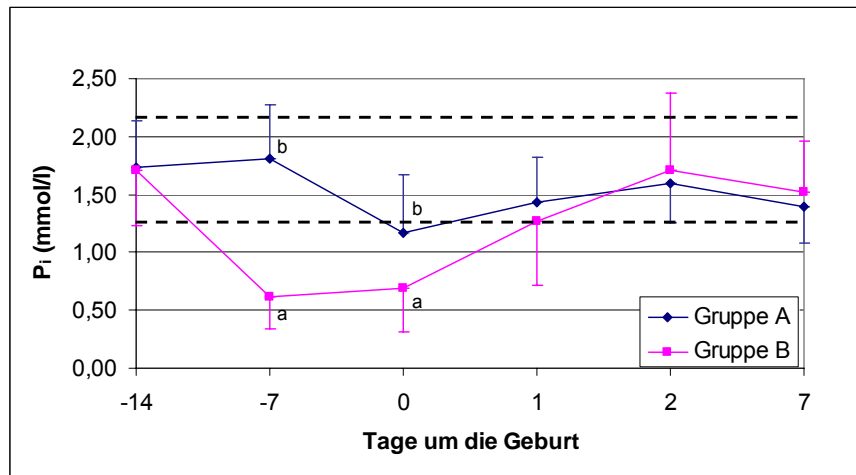


Abbildung 5: Verlauf der Phosphatkonzentration \pm SD im Serum (mmol/l) von 23 Tieren je Gruppe. Die gestrichelten Linien stellen die obere und untere Grenze des Referenzbereiches (1,25 – 2,20 mmol/l, KRAFT et al. 1999) dar. $a < b$; $p < 0,05$

Die Untersuchung der Spurenelementkonzentrationen (Cu, Zn und Mn) im Plasma zeigte keinen wesentlichen Einfluss von Zeolith A auf den Spurenelementhaushalt (Tab. 6).

Am Tag nach der Kalbung betrug die mittlere Cu-Konzentration in Gruppe A $14,9 \pm 3,0$ $\mu\text{mol/l}$ und in Gruppe B $15,5 \pm 3,5$ $\mu\text{mol/l}$. Die Werte lagen an allen Probenahmenterminen innerhalb des Referenzbereiches von 12–20 $\mu\text{mol/l}$ (DIRKSEN et al. 2002). Zwischen den Gruppen traten keine signifikanten Unterschiede auf.

Die mittlere Zn-Konzentration bei den Tieren der Gruppe A lag einen Tag nach der Kalbung mit $10,4 \pm 3,8$ $\mu\text{mol/l}$ geringgradig unterhalb der unteren Grenze des Referenzbereiches von 12,3–18,5 $\mu\text{mol/l}$ (UNDERWOOD u. SUTTLE 1999). Zu Versuchsbeginn sowie am 2. Tag post partum lagen die mittleren Zn-Konzentrationen innerhalb dieses Referenzbereichs. Die Tiere der Gruppe B wiesen einen Tag post partum eine Zn-Konzentration von $12,7 \pm 4,1$ $\mu\text{mol/l}$ auf, welche tendenziell höher lag als bei Gruppe A ($p = 0,0542$). In dieser Gruppe lagen die Zn-Konzentrationen an allen Probenahmenterminen innerhalb des Referenzbereichs (UNDERWOOD u. SUTTLE 1999). Die mittlere Mn-Konzentration lag einen Tag nach der Kalbung mit $1,37 \pm 0,97$ $\mu\text{mol/l}$ in Gruppe A bzw. $0,91 \pm 0,58$ $\mu\text{mol/l}$ in Gruppe B im physiologischen Bereich ($> 0,11$ $\mu\text{mol/l}$; UNDERWOOD u. SUTTLE 1999) und unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen. Am zweiten Tag nach der Kalbung war die mittlere Mn-Konzentration bei den Kühen der Gruppe A mit $1,61 \pm 1,17$ $\mu\text{mol/l}$ signifikant höher als bei Gruppe B, dessen mittlere Konzentration $1,02 \pm 0,51$ $\mu\text{mol/l}$ betrug ($p = 0,032$). Es bestand allerdings schon zu Versuchsbeginn sowie einen Tag nach der Kalbung bei den Tieren der Gruppe B eine tendenziell niedrigere Mn-Konzentration ($p = 0,1142$, 14 Tage ante partum; $p = 0,0656$, 1 Tag post partum).

Tabelle 6: Mittlere Konzentrationen von Cu, Zn und Mn \pm SD im Plasma der beiden Tiergruppen in $\mu\text{mol/l}$

Parameter	Probennahme	Gruppe A (n = 23)	Gruppe B (n = 23)
Cu	2 Wo a.p.	13,3 \pm 2,5	14,5 \pm 2,7
	1 Tag p.p.	14,9 \pm 3,0	15,5 \pm 3,5
	2 Tage p.p.	16,5 \pm 2,6	16,4 \pm 2,6
Zn	2 Wo a.p.	13,6 \pm 3,5	14,6 \pm 2,8
	1 Tag p.p.	10,4 \pm 3,8	12,7 \pm 4,1
	2 Tage p.p.	12,7 \pm 3,9	13,3 \pm 4,2
Mn	2 Wo a.p.	1,24 \pm 0,71	0,93 \pm 0,53
	1 Tag p.p.	1,37 \pm 0,97	0,91 \pm 0,58
	2 Tage p.p.	1,61 ^b \pm 1,17	1,02 ^a \pm 0,51

a < b; p < 0,05

Da die Bestimmung der Eisenkonzentration im Serum im Rahmen einer Routineuntersuchung mit den anderen Stoffwechselfparametern an der Medizinischen Tierklinik erfolgen konnte, wurden auch Konzentrationen 7 Tage ante partum, zum Partus und 7 Tage post partum gemessen (Tab. 7).

Tabelle 7: Mittlere Fe-Konzentration \pm SD im Serum der beiden Tiergruppen in $\mu\text{mol/l}$

Probennahme	Gruppe A (n = 23)	Gruppe B (n = 23)
14 Tage ante partum	32,5 \pm 7,1	30,9 \pm 6,9
7 Tage ante partum	39,2 \pm 13,1	35,8 \pm 8,0
Partus	23,9 \pm 6,4	21,5 \pm 8,7
1 Tag post partum	20,0 \pm 8,5	25,2 \pm 12,0
2 Tage post partum	27,7 \pm 10,7	24,8 \pm 10,7
1 Woche post partum	29,9 \pm 5,7	29,2 \pm 5,5

Bei diesem Parameter traten zwischen den beiden Tiergruppen keine signifikanten Unterschiede auf. Einen Tag nach der Kalbung betrug die mittlere Fe-Konzentration bei den Tieren der Gruppe A 20,0 \pm 8,5 $\mu\text{mol/l}$ und bei den Tieren der Gruppe B 25,2 \pm 12,0 $\mu\text{mol/l}$. Die mittleren Konzentrationen lagen bei beiden Gruppen über den gesamten Untersuchungszeitraum innerhalb des Referenzbereiches von 13 – 44 $\mu\text{mol/l}$ (DIRKSEN et al. 2002).

Ausgewählte Parameter des Energiestoffwechsels im Serum

Abbildung 6 zeigt die Serumkonzentrationen der freien Fettsäuren (FFS). Zu Versuchsbeginn zeigten die Tiere der beiden Gruppen keine wesentlichen Unterschiede in der FFS-Konzentration. Die mittleren Konzentrationen lagen mit 148 \pm 85 $\mu\text{mol/l}$ (Gruppe A) bzw. 179 \pm 181 $\mu\text{mol/l}$ (Gruppe B) innerhalb des dem Untersuchungslabor zugrunde liegenden Referenzbereiches zwischen 50 und 500 $\mu\text{mol/l}$ (MEDIZINISCHE TIERKLINIK 1996). Im Vergleich zu den Tieren der Gruppe A, deren mittlere Konzentration 7 Tage vor

dem errechneten Geburtstermin mit $192 \pm 111 \mu\text{mol/l}$ kaum verändert war, kam es bei den Tieren der Gruppe B schon zu einem Konzentrationsanstieg auf $517 \pm 405 \mu\text{mol/l}$. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war signifikant ($p = 0,008$). Zum Zeitpunkt der Kalbung stieg die mittlere Konzentration noch weiter an auf $831 \pm 388 \mu\text{mol/l}$ und überschritt die obere Grenze des Referenzbereichs. Hier erhöhte sich die FFS-Konzentration auch bei den Tieren der Gruppe A und überschritt mit $715 \pm 314 \mu\text{mol/l}$ ebenfalls die obere Grenze des Referenzbereichs. Zu diesem Zeitpunkt und an den folgenden Probennahmenterminen traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen auf. Auch einen Tag nach der Kalbung lagen die mittleren FFS-Konzentrationen oberhalb der oberen Grenze des Referenzbereichs. Ab 2 Tage post partum war in beiden Tiergruppen wieder ein Rückgang der FFS-Konzentrationen zu beobachten.

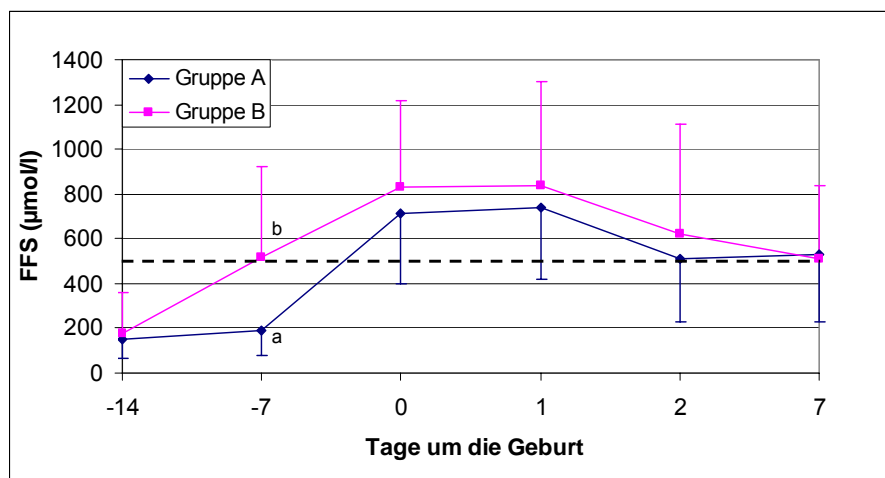


Abbildung 6: Verlauf der mittleren Konzentration \pm SD der freien Fettsäuren (FFS) im Serum ($\mu\text{mol/l}$) von 23 Tieren je Gruppe. Die gestrichelte Linie stellt die obere Grenze des Referenzbereiches ($500 \mu\text{mol}$, Medizinische Tierklinik, 1996) dar. $a < b$; $p < 0,05$

Die mittleren Konzentrationen des β -HB (Abb. 7) waren zu Versuchsbeginn sowie 7 Tage ante partum bei beiden Tiergruppen im physiologischen Bereich unter $0,6 \text{ mmol/l}$ (KRAFT et al. 1999) und unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Zum Tag der Kalbung lag die mittlere Konzentration bei den Tieren der Gruppe B mit $0,69 \pm 0,29 \text{ mmol/l}$ oberhalb der oberen Grenze des Referenzbereichs und unterschied sich signifikant zu Gruppe A, deren mittlere β -HB-Konzentration zu diesem Zeitpunkt $0,49 \pm 0,17 \text{ mmol/l}$ betrug ($p = 0,0092$). Bei den Tieren der Gruppe B stieg die β -HB-Konzentration am folgenden Tag noch weiter an und erreichte $0,94 \pm 0,34 \text{ mmol/l}$. Bei den Tieren der Gruppe A überschritt die β -HB-Konzentration einen Tag post partum mit $0,65 \pm 0,17 \text{ mmol/l}$ ebenfalls die obere Grenze des Referenzbereichs. Der Unterschied zwischen den beiden Tiergruppen war auch hier signifikant ($p = 0,0006$). In beiden Tiergruppen blieben die β -HB-Konzentrationen am 2. und am 7. Tag post partum oberhalb der oberen Grenze des Referenzbereichs, unterschieden sich aber nicht mehr signifikant zwischen den Gruppen.

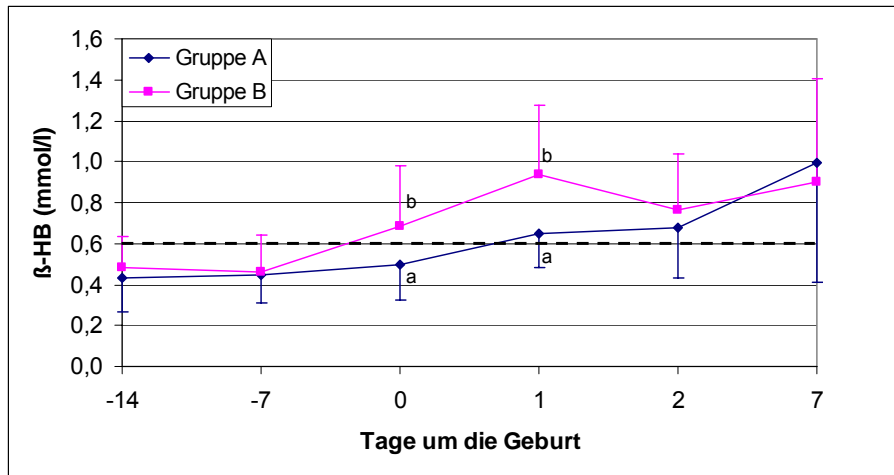


Abbildung 7: Verlauf der mittleren Konzentration ± SD des β-Hydroxybutyrats (β-HB) im Serum (mmol/l) von 23 Tieren je Gruppe. Die gestrichelte Linie stellt die obere physiologische Grenze (0,6 mmol/l, Kraft et al., 1999) dar. a < b; p < 0,05

Futteraufnahme und Milchleistung in der folgenden Laktation

Trotz der verminderten Futteraufnahme der Versuchstiere ante partum traten nach der Geburt keine signifikanten Unterschiede auf (Tab. 8, Abb. 8). Die Futteraufnahme post partum lag ab dem 2. bis 7.Tag post partum in Gruppe A im Mittel bei $13,2 \pm 2,2$ kg T/Tier/Tag und in Gruppe B bei $13,9 \pm 1,9$ kg T/Tier/Tag (Abb. 8). Im Zeitraum von 105 Tagen nahmen die Tiere in beiden Gruppen täglich rund 20 kg T auf (Tab. 8). In der Laktationsleistung war kein Einfluss durch die Zeolithzulage festzustellen. Die fettkorrigierte Milchmenge (FCM) betrug über 105 Laktationstage bei den Kühen der Gruppe A im Mittel 3633 kg und bei Gruppe B 3659 kg (Tab. 8). Der Verlauf der FCM über 15 Wochen ist in beiden Gruppen vergleichbar (Abb. 9).

Auch bezüglich der Milchinhaltsstoffe (Milchfett, Milcheiweiß, Laktose, Harnstoff) waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren beider Gruppen festzustellen (Tab. 8).

Tabelle 8: Futteraufnahme (n = 11 Tiere je Gruppe), FCM und Milchinhaltsstoffe (n = 21 Tiere in Gruppe A bzw. 22 Tiere in Gruppe B) ± SD über 105 Tage in der folgenden Laktation.

	Gruppe A	Gruppe B	p
Futteraufnahme			
(kg T/Tag)	$19,7 \pm 1,9$	$19,7 \pm 1,2$	> 0,05
FCM (kg)	3633	3659	> 0,05
Milchinhaltsstoffe			
Milchfett (%)	$4,15 \pm 0,75$	$4,18 \pm 0,46$	> 0,05
Milcheiweiß (%)	$3,15 \pm 0,19$	$3,20 \pm 0,17$	> 0,05
Laktose (%)	$4,75 \pm 0,11$	$4,80 \pm 0,13$	> 0,05
Harnstoff (mg/kg)	216 ± 50	206 ± 51	> 0,05

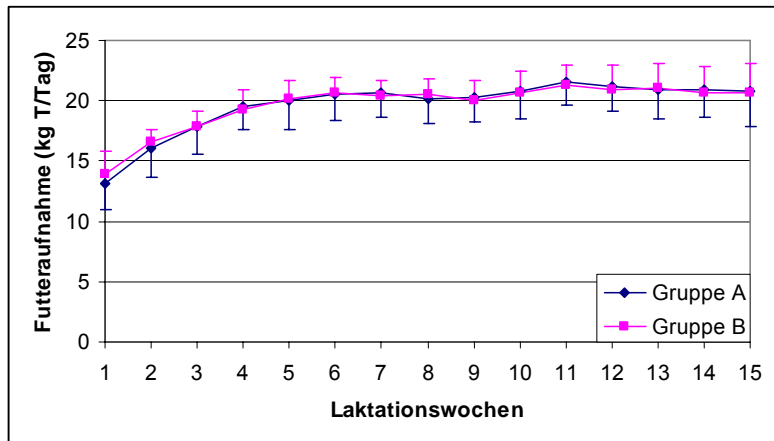


Abbildung 8: Vergleich der mittleren Futteraufnahme \pm SD (kg T/Tag) nach der Kalbung zwischen den beiden Tiergruppen (n = 11 Tiere je Gruppe)

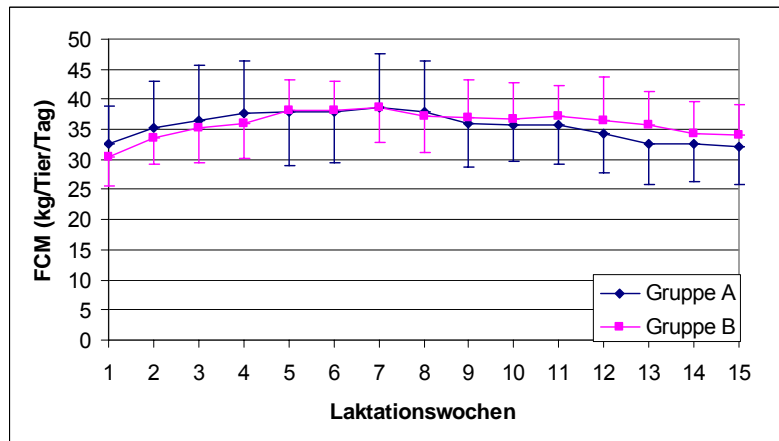


Abbildung 9: Vergleich der mittleren FCM-Leistung \pm SD (kg/Tag) zwischen den beiden Tiergruppen (n = 21 Tiere in Gruppe A bzw. 22 Tiere in Gruppe B).

Diskussion

Eine Beimischung von Zeolith A in eine TMR führte zu einem signifikanten Rückgang der Futteraufnahme, insbesondere ab dem 3. Fütterungstag. Im Vergleich zur Gruppe A, deren mittlere Futteraufnahme bei 12,0 kg T lag, war die Futteraufnahme der Tiere in Gruppe B nach Zeolithzulage mit im Mittel 6,2 kg T um 5,8 kg T (\approx 48 %) reduziert. Die Beimischung von Zeolith A in die TMR führte zu einem signifikant höheren Gehalt von Rohasche in der TMR und damit zu einem signifikant niedrigeren Gehalt an organischer Substanz, Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, ADF und NDF und folglich auch zu einer Erniedrigung des Energiegehaltes im Futter. Dieser Effekt kann wesentlich die Futterakzeptanz in Gruppe B negativ beeinflusst haben. Eine Interaktion von Zeolith A mit den einzelnen Nährstoffkomponenten bleibt nach wie vor unklar.

In der Regel ist bei Milchkühen in den letzten 21 Tagen und ganz besonders in den letzten 7 Tagen vor der Kalbung ein stufenweiser Rückgang der Futteraufnahme zu beobachten (GRUMMER 1995). Dieser ist aus Abbildung 1 der eigenen Untersuchung nicht zu erkennen, da die Darstellung der TMR-Aufnahme nach Versuchstagen im Vordergrund stand und

verdeutlichen sollte, wie massiv die Futterakzeptanz bei den Tieren der Gruppe B ab dem 3. Tag nach Zeolithzulage abnahm.

Bisherige Studien zum Einsatz von Zeolith A zeigten ebenfalls einen Rückgang in der Futteraufnahme (JOHNSON et al. 1988; THILSING-HANSEN et al. 2002). Jedoch fiel dieser Rückgang verglichen mit den Ergebnissen der eigenen Untersuchung deutlich weniger stark aus. So stellten THILSING-HANSEN et al. (2002) bei einer Futtervorlage von 31,5-33,5 kg TMR Frischmasse pro Tier und Tag nach einer Einmischung von 1,4 kg Zeolithpellets (= 700 g Zeolith A) pro Tier und Tag in der Versuchsgruppe eine Rückwaage von 12 % (Kontrollgruppe 0,4 %) fest. Der Rückgang in der eigenen Untersuchung ist mit rund 48 % wesentlich stärker ausgeprägt. Im Unterschied zur oben genannten Studie erhielten die Tiere im eigenen Versuch die Ration ad libitum vorgelegt. Dadurch steigerte sich die Differenz in der Futteraufnahme zwischen den beiden Tiergruppen und verdeutlicht die mangelnde Akzeptanz nach Zeolithzusatz im Futter. Außerdem wurde die Futteraufnahme täglich tierindividuell erfasst und auf T-Basis ausgewertet, was eine exaktere Erfassung der Futteraufnahme erlaubte. Ein weiterer Einflussfaktor für die verstärkte Inappetenz kann auch die höhere Zeolithdosierung im eigenen Versuch sein. Ausgehend von einer mittleren TMR-Aufnahme von 10 kg T und einer Einmischung von 90 g Zeolith/kg T wurde mit einer Zeolithzulage von 900 g/Tier/Tag gerechnet, welche somit um 200 g höher angesetzt war als bei THILSING-HANSEN et al. (2002), aber im Bereich der höchsten Dosierung (1000 g/Tier/Tag) in einer weiteren Studie von THILSING-HANSEN et al. (2003) lag. Da Zeolith in die TMR anteilmäßig eingemischt wurde, konnte durch die stark herabgesetzte TMR-Aufnahme von 6,2 kg T/Tier/Tag jedoch tatsächlich nur eine mittlere Zeolithaufnahme von 565 g/Tier/Tag erreicht werden. Auch JOHNSON et al. (1988) stellten eine signifikant verminderte Futteraufnahme nach Einmischung von 2 % Zeolith A in die TMR fest. Die Tiere erhielten eine so bemessene Menge an TMR, die eine 5-10 %-ige Rückwaage erlaubte. Nach Zeolithzusatz nahmen die Tiere mit 18,7 kg T/Tag 2 kg weniger Futter auf als die Kühe ohne Zeolithzusatz (20,7 kg/Tag). Auch diese Differenz ist im Vergleich zur eigenen Untersuchung, in der nach Zeolithzusatz in Gruppe B die Tiere 6 kg T weniger aufnahmen als in Gruppe A eher gering. Hier besteht indessen ein wesentlicher Unterschied im Zeolithgehalt. Während JOHNSON et al. (1988) 2 % Zeolith A ins Futter mischten, erhielten die Kühe im eigenen Versuch 90 g Zeolith/kg T TMR, also 9 %, was ein wesentlicher Faktor für diesen starken Unterschied sein kann. Außerdem handelte es sich bei JOHNSON et al. (1988) um 4 fistulierte Kühe, in einem Versuchsdesign eines lateinischen Quadrates, die sich im frühen bis mittleren Laktationsstadium, und sich somit in einer anderen Stoffwechsellage befanden. Abweichend von den oben genannten Ergebnissen zur Futteraufnahme nach Fütterung von Zeolith A, berichten ENEMARK et al. (2003) von einer unveränderten Futteraufnahme nach Zulage von 1 kg Zeolithpellets (70,9 % Zeolith A) pro Tier und Tag an 4 nicht tragende Trockensteher. In diesem Versuch wurden die Tiere jedoch mit einer Grundration (2 x 2 kg Grassilage pro Tier und Tag) restriktiv gefüttert, was somit einen Vergleich mit den eigenen Untersuchungen nicht zulässt. Darüber hinaus waren die Tiere nicht tragend und befanden sich wiederum in einer anderen Stoffwechsellage. Da bei der

Futteraufnahme starke tierindividuelle Schwankungen auftreten können, kann mit 4 Tieren keine exakte Aussage über das Futteraufnahmeverhalten gemacht werden. In der eigenen Untersuchung kam es bei 22 bzw. 23 Tieren pro Gruppe immerhin noch zu einer Standardabweichung von 1,4 kg (Gruppe A) bzw. 1,3 kg (Gruppe B).

Die Konzentrationen von Calcium, Magnesium und Phosphat im Serum (Abb. 3–5) zeigten einen ähnlichen Verlauf wie in anderen Studien zur Zeolithfütterung (THILSING-HANSEN u. JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003).

Im Unterschied zu den bisherigen Untersuchungen, deren Blutentnahmen erst 2 Wochen nach Versuchsbeginn oder noch später erfolgten (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003), wurde in der vorliegenden Studie die erste Blutprobe bereits zu Versuchsbeginn (14 Tage ante partum) genommen, um sicherzustellen, dass die Ausgangssituation in beiden Tiergruppen vergleichbar war. Nach Einmischung von Zeolith A in die TMR in den letzten Wochen der Trockenstehperiode konnte bei den Tieren der Gruppe B eine Stabilisierung des Calciumstoffwechsels peripartal beobachtet werden. Die mittlere Serumcalciumkonzentration lag oberhalb von 2 mmol/l. Eine negative Calciumbilanz ante partum führt zu einer Aktivierung der calciumregulierenden Hormone und dadurch zu einer verbesserten Bereitstellung von Calcium aus den endogenen Speichern (GOFF et al. 1991; HORST et al. 1992). Die TMR-Aufnahme war jedoch so stark reduziert, dass dies wahrscheinlich ausreichte, eine negative Calciumbilanz hervorzurufen. Immerhin lag die mittlere Calciumaufnahme in Gruppe B mit 23,5 g kaum über der oberen Grenze (20 g) zur restriktiven Calciumfütterung (MARTIG 2002; THILSING-HANSEN et al. 2002). In Vitro Studien zur Bindungskapazität von Zeolith A zeigten im Pansensaft nach Zeolithzusatz eine Abnahme von freiem Calcium (THILSING et al. 2006). In der eigenen Studie ist dieser Effekt möglicherweise durch die aus der verminderten Futteraufnahme entstandene Calciumbilanz überdeckt worden.

Die Magnesiumkonzentration im Serum zeigte bei den Tieren der Gruppe B im Vergleich zur Gruppe A einen konstanteren Verlauf. Der signifikante Unterschied am Kalbetag resultiert aus dem peripartalen Anstieg der Mg-Konzentration bei den Tieren in Gruppe A als Folgereaktion der Hypocalcämie. RIOND et al. (1995) stellten bei Kühen peripartal ebenfalls bei gleichzeitigem Abfall der Calciumkonzentration eine Erhöhung der Magnesiumkonzentration im Serum fest. Parathormon kann eines von verschiedenen, durch die peripartale Hypocalcämie ausgelösten Einflussfaktoren auf den Anstieg der Mg-Konzentration im Serum sein (RIOND et al. 1995).

Da eine Woche nach Zeolithzulage kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen auftrat, ist keine Bindung von Mg an das Zeolith zu erwarten. Es wird zwar eine Mg-Bindungskapazität von 0,067g/g Zeolith beschrieben (MUMPTON u. FISHMAN 1977; MUMPTON 1999), jedoch ist diese niedriger als zu Ca (0,11 g/g Zeolith).

Ein Mg-Mangel infolge herabgesetzter Futteraufnahme ist ebenfalls nicht aufgetreten. Ein zu niedriges nutritives Mg-Angebot würde sich in einer Serummagnesiumkonzentration peripartal von < 0,8 mmol/l widerspiegeln (GOFF 2004). In der vorliegenden Studie lag die mittlere Konzentration am Tag der Kalbung aber bei 0,95 mmol/l.

In Abbildung 5 ist zu erkennen, dass die Konzentration von anorganischem Phosphat im Serum bis zum Zeitpunkt der Kalbung in beiden Gruppen absinkt. Ähnliche Ergebnisse zeigten auch Versuche von THILSING-HANSEN et al. (2002, 2003). Das Absinken der P_i -Konzentration zum Zeitpunkt der Kalbung in Gruppe A kann ursächlich durch vermehrte Sekretion von PTH bei einer Hypocalcämie bedingt sein. PTH erhöht die Ausscheidung von Phosphat über den Speichel und der Niere (GOFF 2000). In Gruppe B kann dieser Effekt bereits ante partum durch die induzierte negative Calciumbilanz eingetreten sein. Jedoch ist die P_i -Konzentration 7 Tage ante partum bis zum Kalbetag in dieser Gruppe wesentlich stärker erniedrigt als in Gruppe A am Kalbetag, obwohl sich die Ca-Konzentration im Serum im physiologischen Bereich bewegte. Die aus der verminderten Futterraufnahme resultierende herabgesetzte Phosphorversorgung kann ebenso nicht zu einer solchen massiven Senkung der P_i -Konzentration im Serum geführt haben. Verschiedene Studien zeigten nach phosphorarmer Fütterung deutliche Effekte in der Konzentration im Serum (BARTON et al. 1987; KICHURA et al. 1982). Jedoch lag die mittlere Phosphoraufnahme im eigenen Versuch in Gruppe B trotz verminderter Futterraufnahme mit rund 23 g noch im Bereich der GfE-Versorgungsempfehlung (GFE 2001), weshalb aus dieser Perspektive nicht mit einer solchen niedrigen P_i -Konzentration im Serum zu rechnen war. Die erhebliche Senkung der P_i -Konzentration im Serum deutet vielmehr auf eine herabgesetzte Bioverfügbarkeit von alimentärem P infolge einer direkten Zeolithwirkung hin. COOK et al. (1982) stellten in ihren Untersuchungen fest, dass Zeolith A im sauren Milieu ($pH < 4$) partiell unter Freisetzung von Kieselsäure, amorphem Aluminiumsilikat und freiem Aluminium zerfällt. Es ist anzunehmen, dass Zeolith A im sauren Milieu des Labmagens ($pH \leq 3$) zerfällt und dadurch eine größere Menge an freiem Aluminium im Chymus vorliegt. Da Aluminium eine hohe Bindungsaffinität zum Phosphat besitzt, kann eine Resorption von Phosphat durch eine irreversible Komplexbildung verhindert werden (ALLEN 1984). In vitro Untersuchungen mit Pansensaft zur Bindungskapazität von Zeolith A zeigten eine irreversible Senkung der Phosphatkonzentration im mit Zeolith versetzten Pansensaft nach HCl-Zusatz (THILSING et al. 2006).

Trotz der peripartal aufgetretenen Hypophosphatämie bei den Kühen der Gruppe B, zeigte kein Tier motorische Störungen. Schon 1973 postulierten SEIDEL et al., dass einer niedrigen P_i -Konzentration im Serum allein keine Bedeutung für die Gebärparese zukommt, welches mit dem Resultat aus der eigenen Untersuchung nur unterstrichen werden kann. Immerhin lag die mittlere P_i -Konzentration bei den Tieren der Gruppe B 7 Tage vor dem errechneten Geburtstermin mit 0,61 mmol/l, bei einigen Tieren sogar unter 0,3 mmol/l weit unter der Referenzgrenze von 1,25 mmol/l (KRAFT et al. 1999). Auch RADOSTIS et al. (2000) stellten in Untersuchungen fest, dass einige Kühe trotz niedriger P_i -Konzentrationen nicht zum Festliegen kamen.

Da viele Spurenelemente ebenfalls wie Calcium und Magnesium als zweiwertige Kationen vorliegen, wäre auch ein Zeolitheffekt auf die untersuchten Parameter Cu, Zn, Mn und Fe zu erwarten gewesen. Es war nach Zeolithzulage jedoch bei keinem dieser Elemente ein Effekt hinsichtlich einer Erniedrigung der Plasma- bzw. Serumkonzentration festzustellen. Lediglich

am 2. Tag post partum lag die Mn-Konzentration bei den Tieren in Gruppe B signifikant niedriger im Vergleich zur Gruppe A. Dieser Effekt ist jedoch nicht auf eine mögliche Zeolithwirkung zurückzuführen, da sie schon zu Versuchsbeginn tendenziell niedriger lag. Ein kurzfristiger Mangel wird allerdings in der Regel durch körpereigene Regelmechanismen meist homöostatisch kompensiert (FLACHOWSKY 2004). In Studien zum Einfluss von natürlichem Zeolith auf den Spurenelementstoffwechsel wurde jedoch auch über einen längeren Zeitraum kein Effekt festgestellt (KATSOULOS et al. 2005a; POND 1989).

Die beiden ausgewählten Parameter, die den Energie- und Fettstoffwechsel widerspiegeln, zeigen das Ausmaß der verminderten Energieversorgung infolge der herabgesetzten Futteraufnahme nach Zeolithzulage bei den Tieren der Gruppe B. Die FFS-Konzentration im Serum, die die Energiebilanz widerspiegelt, stieg peripartal in beiden Tiergruppen an (Abbildung 6). Während bei den Tieren der Gruppe A eine Erhöhung der FFS-Konzentration am Kalbetag beobachtet wurde, zeigten die Tiere der Gruppe B bereits 7 Tage vor dem errechneten Geburtstermin einen Anstieg der Konzentration. Sie lag zu diesem Zeitpunkt zwar noch nicht deutlich oberhalb der oberen Grenze des Referenzbereichs von 500 $\mu\text{mol/l}$ (MEDIZINISCHE TIERKLINIK 1996), jedoch unterschied sie sich hier signifikant zu Gruppe A. Ein Anstieg der Fettsäurenkonzentration im Serum deutet auf einen akuten Energiemangel hin (FÜRLI et al. 1992). Dies spiegelt die verminderte T-Aufnahme und der verminderten Energieversorgung der Tiere in Gruppe B nach Einmischung von Zeolith A wieder. Immerhin nahmen die Tiere ante partum im Mittel nur noch 6,2 kg T/Tier/Tag auf. Durch eine verminderte Trockensubstanzaufnahme kommt es zu einer negativen Energiebilanz, welche durch Mobilisation von Körperfett kompensiert wird. Die dabei ansteigenden Fettsäurenkonzentrationen im Blut stehen der Kuh als Hauptenergiequelle zur Verfügung (DRACKLEY 2002). Im Gegensatz dazu zeigten die Tiere der Gruppe A, die im Mittel 12 kg T aufnahmen noch kein Energiedefizit. Die FFS-Konzentration lag mit 192 $\mu\text{mol/l}$ noch deutlich unterhalb der oberen Grenze des Referenzbereichs. Ein Anstieg zum Zeitpunkt der Kalbung, wie es in diesem Versuch auftrat, konnte auch in früheren Studien beobachtet werden (HARRISON et al. 1990; FÜRLI et al. 1992). Hier spielen andere Faktoren, wie Geburtsstress eine wesentliche Rolle (GERLOFF et al. 1986; GRUMMER 1995).

Auch beim β -HB, das einen weiteren Parameter für den Energie- und Fettstoffwechsel darstellt, war peripartal ein Unterschied in der Konzentrationsänderung zwischen den beiden Tiergruppen zu beobachten (Abbildung 7). Bei den Tieren der Gruppe B kam es hier nicht nur zu einer früheren, sondern auch zu einer deutlicheren Konzentrationserhöhung im Vergleich zur Gruppe A. Am Tag der Kalbung und insbesondere am darauf folgenden Tag lag die Konzentration bei den Tieren der Gruppe B mit 0,69 bzw. 0,94 mmol/l über der Grenze des Referenzbereichs ($< 0,6$ mmol/l; KRAFT et al. 1999). An diesen beiden Tagen unterschieden sich die Gruppen signifikant. Die Tiere der Gruppe A zeigten erst einen Tag nach der Kalbung eine erhöhte Konzentration von 0,76 mmol/l. Eine Erhöhung des β -HB deutet im Gegensatz zu FFS eher auf einen chronischen Energiemangel hin (FÜRLI et al. 1992). Bei Energiemangel kommt es in der Leber zur Ketogenese (DRACKLEY 2002). Die im Blut zirkulierenden FFS dienen hierbei als Substrat (SCHLERKA u. FILAR 1981). Aus der

Konzentrationserhöhung von β -HB bei den Tieren der Gruppe B ist wie bei den FFS ante partum eine negative Energiebilanz zu schließen.

Die Zeolithzulage zeigte keine nachteilige Wirkung auf die Futterraufnahme post partum. Obwohl die Futterraufnahme in den letzten 2 Wochen der Trockenstehperiode deutlich reduziert war, nahmen die Tiere nach der Kalbung im Mittel die gleiche Menge auf wie die Tiere in Gruppe A. HOLCOMB et al. (2001) stellten ebenfalls fest, dass Kühe nach restriktiver Fütterung in der Trockenstehperiode nach der Kalbung keine verminderte Futterraufnahme zeigten im Vergleich mit Kühen, die vor der Kalbung ihr Futter ad libitum erhielten.

Trotz der verminderten Futterraufnahme ante partum und der Hypophosphatämie in Gruppe B waren keine negativen Auswirkungen auf die Milchleistung und die Milchzusammensetzung festzustellen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch THILSING-HANSEN et al. (2002). Auch sie stellten keine Differenz in der Milchleistung und in der Milchzusammensetzung zwischen den Tiergruppen fest.

Die Zeolithdosierung von 90 g/kg T TMR, was bei einer geschätzten TMR-Aufnahme von 10 kg T eine Aufnahme von etwa 900 g Zeolith pro Kuh und Tag entspricht, lehnte sich den hohen Dosierungen (1000 g/Tier/Tag) in bisherigen Studien (THILSING-HANSEN et al. 2003) an. Eine Dosierung von 90 g/kg T führte in dieser Studie zu einer deutlichen Abnahme der Futterakzeptanz sowie zu drastischen Erniedrigungen der Pi-Konzentration im Serum. Es trat zwar nach der Zeolithzulage eine Stabilisierung des Calciumstoffwechsels peripartal auf, allerdings lässt sich diese Stabilisierung nicht unbedingt auf die calciumbindenden Eigenschaften des Zusatzstoffes zurückführen, sondern ist eher dem Effekt der verminderten Ca-Aufnahme durch die stark verminderte Futterraufnahme zuzuschreiben. Eine Einmischung einer solch hohen Dosis von Zeolith A in die Ration ist damit nicht vertretbar. Obwohl in diesem Versuch die Tiere in der folgenden Laktation keine Leistungsminderungen zeigten, ist die Gefahr groß, durch die verminderte Futterraufnahme Folgekrankheiten in der folgenden Laktation herauszufordern. Der vorliegenden Studie zufolge ist nicht klar, ob eine Calciumbindung an Zeolith in vivo überhaupt stattfindet. Um den Effekt der verminderten Futterraufnahme auszuschalten, sollte in weiterführenden Dosis-Wirkungsstudien mit niedrigeren Dosierungen (500/250/125 g/Tier/Tag) untersucht werden, ob und ab welcher Dosierung ein gewünschter Effekt auf die Milchfieberprophylaxe bei gleichzeitig tolerierbarer Futterakzeptanz zu erwarten ist.

Literatur

Allen VG. Influence of dietary aluminium on nutrient utilization in ruminants. *J Anim Sci.* 1984; 59: 836–46.

Barton BA, Jorgensen NA, DeLuca HF. Impact of prepartum dietary phosphorus intake on calcium homeostasis at parturition. *J Dairy Sci.* 1987; 70: 1186-91.

Cook TE, Cilley WA, Savitsky AC, Wiers BH. Zeolite A hydrolysis and degradation. *Environ Sci Technol.* 1982; 16: 344-50.

DesCoteaux L, Krainock R, Lissemore K. Evaluation of new diagnostic tests to predict hypocalcemia in mature dairy cows. *Bovine Pract.* 1997; 30: 186-7.

Dirksen G, Gründer HD, Stöber M (Hrsg). *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes.* 4. Aufl. Berlin, Wien: Parey-Verlag; 2002

Drackley JK. Transition cow management and periparturient metabolic disorders. In: *Recent developments and perspectives in bovine medicine.* Kaske M, Scholz H, Höltershinken M (Hrsg). Keynote Lectures. Hannover: 18-23.08.2002; Hildesheimer Druck- und Verlags-GmbH; pp. 224-33.

EFSA / FEEDAP. Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the request from the Commission on the use of the use of synthetic sodium aluminium silicate (zeolite) for the reduction of risk of milk fever in dairy cows. *EFSA-Journal.* 2004; 160: 1-11.

Enemark JMD, Kirketerp CN, Jørgensen RJ. Effect of prepartum zeolite A supplementation on renal calcium excretion in dairy cows around calving and evaluation of a field test kit for monitoring it. *Acta Vet Scand.* 2003; 97: 119-36.

Flachowsky G: Spurenelemente In: *Physiologie der Haustiere.* Engelhardt v W, Breves G (Hrsg). 2. Aufl. Stuttgart: Enke-Verlag; 2004. pp. 628-37.

Fleischer P, Metzner M, Beyerbach M, Hoedemaker M, Klee W. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2001; 84: 2025-35.

Fürll M, Deckert W, Schäfer M, Wehlitz A. Lipolyse und Ketogenese bei Milchkühen - Beobachtungen im Laktationsverlauf. *Monatsh Veterinärmed.* 1992; 47: 119-24.

Fukushima Y. The effect of zeolite on the general performance and blood characteristics of dairy cows. *Anim Husband.* 1979; 33: 2393.

Gerloff BJ, Herdt TH, Emery RS. Relationship of hepatic lipidosis on health and performance in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 1986; 188: 845-50.

Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. *Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder* Nr. 8 Frankfurt am Main: DLG-Verlag; 2001.

Goering HJ, Van Soest PJ. Forage fibre analysis. (Apparatus, reagents, procedure and some applications). Agr Res Service Agr. Handbook No.379, Washington; 1970.

Goff JP. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2000; 16: 319-37.

Goff JP. Macromineral disorders of the transition cow. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2004; 20: 471-94.

Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL. Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fewer cows. *J Dairy Sci.* 1991; 74: 4022–32.

Grummer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci.* 1995; 73: 2820-33.

Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J Dairy Sci.* 1990; 73: 2749-58.

Hemken RW, Harmon RJ, Mann LM. Effect of clinoptilolite on lactating dairy cows fed a diet containing urea as a source of protein. In: *Zeo-Agriculture. Use of natural zeolites in agriculture and aquaculture.* Pond WG, Mumpton FA (Hrsg). 1. Aufl. Colorado: Westview Press. Boulder; 1984. pp. 171-6.

Holcomb CS, Van Horn HH, Head HH, Hall MB, Wilcox CJ.: Effects of prepartum dry matter intake and forage percentage on postpartum performance of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2001; 84: 2051-8.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Calcium and vitamin D metabolism in dairy cows with special emphasis on parturient paresis. *Proceedings VIII. International Congress on Production Diseases, Bern; 1992, pp. 159-71.*

Houe H, Østergard S, Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Larsen T, Sørensen JT, Agger JF, Blom JY. Milk fewer and subclinical hypocalcaemia – An evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta vet Scand.* 2001; 42: 1-29.

Ivan M, Dayrell M de S, Hidiroglou M. Effects of bentonite and monensin on selected elements in the stomach and liver of fauna-free and faunated sheep. *J Dairy Sci.* 1992; 75: 201–8.

Johnson MA, Sweeney TF, Muller LD. Effects of feeding synthetic zeolite A and sodium bicarbonate on milk production nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1988; 71: 946-53.

Katsoulos PD, Roubies N, Panousis N, Karatzias H. Effects of long-term feeding dairy cows on a diet supplemented with clinoptilolite on certain serum trace elements. *Biol Trace Elem Res.* 2005a ; 108: 137-45.

Katsoulos PD, Roubies N, Panousis N, Arsenos G, Christaki E, Karatzias H. Effects of long-term dietary supplementation with clinoptilolite on incidence of parturient paresis and serum concentrations of total calcium, phosphate, magnesium, potassium, and sodium in dairy cows. *Am J Vet Res.* 2005b; 66: 2081-5.

Kichura TS, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET. Relationship between peripartal dietary calcium and phosphorus, vitamin D metabolism, and parturient paresis in dairy cows. *J Nutr.* 1982; 112: 480-7.

Kraft W, Dürr UM (Hrsg.). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.* 5. Aufl. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag; 1999.

Martig J. Hypocalcämische Gebärlähmung. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes.* Dirksen G, Gründer HD, Stöber M (Hrsg). 4. Aufl. Berlin/Wien: Paul Parey Buchverlag im Blackwell Verlag GmbH; 2002. pp. 1245-54.

Medizinische Tierklinik Leipzig. Hämatologische und klinisch-chemische Parameter (min.-max.) von Pferd, Rind, Schaf, Ziege und Schwein. *Arbeitsmaterial.* 1996.

Mumpton, FA. La Roca magica: Uses of natural zeolites in agriculture and industry. *Proceedings Natl Acad Sci. USA* 96. 1999. pp. 3463–70.

Mumpton FA, Fishman PH. The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *J Anim Sci.* 1977; 45: 1188–203.

Pond WG. Effects of dietary protein level and clinoptilolite on the weight gain and liver mineral response of growing lambs to copper supplementation. *J Anim Sci.* 1989; 67: 2772-81.

Radostits OM, Gay CG, Blood DC, Hinchcliff KW. Parturient paresis (milk fever). In: *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.* Radostits OM, Gay CG, Blood DC, Hinchcliff KW (Hrsg). 9. Aufl. London: Verlag Saunders WB; 2000. pp. 1420-35.

Richtlinie 93/74/EWG des Rates vom 13. September 1993 über Futtermittel für besondere Ernährungszwecke

Rings MB, Rings DM, Welker B. Milk fever: Seeking new solutions to an old Problem. *The Compendium* 1997; 19: 175–80.

Riond JL, Kocabagli N, Spichiger UE, Wanner M. The concentration of ionized magnesium in serum during the periparturient period of non-paretic dairy cows. *Vet Res Comm.* 1995; 19:195-203.

Schlerka G, Filar J. Der Einfluss einer experimentell ausgelösten Ketose auf das klinische Bild, den Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt, den Ketonkörpergehalt sowie auf zellige Bestandteile im Blut bei Kühen. *Wien Tierärztl Monatsschr.* 1981; 68: 436-41.

Seidel H, Pufe M, Müller I, Grün E, Kolb E, Schumacher U. Verlaufsuntersuchungen zum Verhalten einiger biochemischer und physiologischer Parameter im geburtsnahen Zeitraum der Milchkuh. *Arch Exp Vet Med.* 1973; 27: 589-600.

Sweeny TF, Cervantes A, Bull LS, Hemken RW. Effect of dietary clinoptilolite on digestion and rumen fermentation in steers. In: *Zeo-Agriculture. Use of Natural Zeolites in Agriculture and Aquaculture.* Pond WG, Mumpton FA (Hrsg). 1. Aufl. Colorado: Westview Press. Boulder; 1984. pp. 177-87

Thilsing T, Jørgensen RJ, Poulsen HD. In vitro binding capacity of zeolite A to calcium, phosphorus and magnesium in rumen fluid as influenced by changes in pH. *J Vet Med A.* 2006; 53: 57–64.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ. Hot topic: Prevention of parturient paresis and subclinical hypocalcaemia in dairy cows by zeolite A administration in the dry period. *J. Dairy Sci.* 2001; 84: 691-3.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Larsen T. The effect of zeolite A supplementation in the dry period on periparturient calcium, phosphorus and magnesium homeostasis. *J Dairy Sci.* 2002; 85: 1855-62.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Zelvyte R, Sederevicius A. The effect of zeolite A supplementation in the dry period on blood mineral status around calving. *Acta vet Scand.* 2003; 97: 87-95.

Underwood EJ, Suttle NF. The mineral nutrition of livestock. 3. Aufl. London, UK: CABI Publishing; 1999.

VDLUFA. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, Methodenbuch III Darmstadt: VDLUFA-Verlag; 2004.

Verordnung (EG) Nr. 2439/1999 der Kommission vom 17. November 1999 über die Bedingungen für die Zulassung von Zusatzstoffen der Gruppe „Bindemittel, Fließhilfsstoffe und Gerinnungshilfsstoffe“ in der Tierernährung ABl. L 297 vom 18.11.1999.

3.1.2 Effect of several doses of zeolite A on feed intake, energy metabolism and on mineral metabolism in dairy cows around calving

H. Grabherr¹, M. Spolders¹, M. Füll², G. Flachowsky¹

1 Institute of Animal Nutrition, Friedrich Loeffler Institute (FLI), Research Institute of Animal Health, Braunschweig, Germany, and

2 Faculty of Veterinary Medicine, Large Animal Clinic for Internal Medicine, University of Leipzig, Leipzig, Germany

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2009; 93: 221-36.

Summary

The object of the present study was to determine the influence of different zeolite A doses on dry matter intake (DMI) and mineral metabolism, and to evaluate an optimum dosage for preventing hypocalcaemia. Eighty pregnant dry cows were assigned to four groups (I–IV). They were fed a total mixed ration (TMR) ad libitum. Groups II, III and IV received an average daily dose of 12, 23 and 43 g zeolite A/kg DM for the last 2 weeks prepartum. Individually DMI was recorded daily. Blood and urine samples were taken before, during and after zeolite A supplementation. Serum was analysed for Ca, Mg, Pi, K, non-esterified fatty acids and b-hydroxybutyrate (BHB). Urine was analysed for Ca, Mg, Pi, K and net acid-base excretion (NABE). After calving, milk yield (fat corrected milk) and milk composition were determined. During zeolite A supplementation, mean DMI of Group IV (7.3 ± 1.3 kg/cow/ day) was significantly lower compared to Groups I–III (10.1, 10.9, 9.5 kg/cow/ day). The reduced feed intake of Group IV resulted in significantly increased BHB as well as decreased NABE after calving. Zeolite A supplementation in higher doses (III and IV) had a stabilizing effect on Ca metabolism around calving for older cows, whereas cows in Groups I and II showed a subclinical hypocalcaemia. The mean serum Mg concentration decreased significantly in older cows in Group IV at calving. The mean Pi concentration in cows of Group IV decreased into ranges of hypophosphataemia already 1 week after beginning of zeolite A feeding. The mean DMI postpartum as well as the milk yield was not affected by zeolite A supplementation. Feeding of 23 g zeolite A/kg DM TMR prepartum proved to be an adequate dosage for reducing subclinical hypocalcaemia frequency without significant effects on feed intake and P_i concentration in serum.

Keywords: zeolite A, dairy cow, subclinical hypocalcaemia, prevention, feed intake

Introduction

Subclinical hypocalcaemia is known to be a frequent problem in high-yielding dairy cows around parturition. Therefore different strategies have been established to prevent milk fever. Feeding a diet very low in Ca during the dry period is an adequate method to avoid milk fever (BODA and COLE 1954; GOINGS et al. 1974; WIGGERS et al. 1975; GREEN et al. 1981; KICHURA et al. 1982). A negative Ca balance prepartum leads to the activation of Ca-regulating hormones, preparing the cow for the massive draw on blood Ca required for colostrum production at calving. Therefore, the daily Ca intake should be below 20 g/day (HORST et al. 1997; HOUE et al. 2001). However, commonly used feedstuffs, grass and maize silage, for high-yielding dairy cows are high in Ca (6.5, 4 g/kg, respectively BEYER et al. 2003), thus a low Ca intake is not possible under practical conditions. The application of zeolite A, a synthetic sodium-aluminium silicate as a Ca binder in feed is a possibility for bringing the cow into a negative Ca balance prepartum. Several studies showed an efficient stabilization of the parturient Ca metabolism after zeolite A supplementation during the last weeks of pregnancy (THILSING-HANSEN and JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003). This effect was shown in higher serum Ca and 1,25-dihydroxyvitamin D.

In vitro studies performed with rumen fluid showed a binding of Ca by zeolite A at ruminal pH values of 7.8-8.0 (THILSING et al. 2006).

Zeolite A may bind other cations such as Mg as well (SEMMENS 1984). In previous studies, the Mg concentration in serum or plasma decreased in cows when zeolite A was added to the ration (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; ENEMARK et al. 2003b). No effects were found on trace elements (Cu, Zn, Fe, Mn) in an earlier study with zeolite A in a high dosage (GRABHERR et al. 2008). In addition, it was investigated that zeolite A supplementation leads to a significant decrease of inorganic phosphate (P_i) in the blood. Doses of 700 g zeolite A and more led to a marked hypophosphataemia (THILSING-HANSEN et al. 2002; GRABHERR et al. 2008). In vitro studies with zeolite A addition to rumen fluid showed a marked decrease of unbound phosphate after acid exposure (THILSING et al. 2006). Furthermore, zeolite A supplementation leads to a variation in mineral excretion in urine and also changes in urine pH (ENEMARK et al. 2003a, b). ENEMARK et al. (2003b) observed a significantly lowered phosphate excretion in dry, non-pregnant cows during a daily zeolite A supplementation of 1 kg pellets (70.9 % zeolite A) when compared with the control cows.

The influence of zeolite A on feed intake was rarely evaluated in the past. A preceding study with a high dosage of zeolite A [90 g/kg DM total mixed ration (TMR)] showed a rapid reduction of feed intake during zeolite A supplementation prepartum, which was as high as 50% (GRABHERR et al. 2008). This effect can negatively influence animal health. A negative energy balance as a consequence of less DM intake (DMI) prepartum leads to an increased lipolysis around calving which enhances the risk of lipomobilization syndrome postpartum (FÜRLI 2000). Because of this fact, application of zeolite A in high doses to the ration of dairy cows in late pregnancy could be harmful.

Because previous studies only examined the effect of zeolite A on minerals in blood and feed intake prepartum in higher doses (> 500 g), the aim of the present study was to examine the effects of zeolite A in a dose-response study in lower doses on feed intake and on mineral metabolism, and to evaluate a maximum or optimum dosage of zeolite A for preventing hypocalcaemia without any negative side effects. Furthermore it was to investigate if there exist any influence of zeolite A in dependency on the lactation number. Because of the fact that the acid-base status plays an important role for the mineral status in the cow, the net acid-base excretion (NABE) also was determined. The advantage of the measurement of NABE when compared with the urine pH is the determination of both free and buffered H^+ ions describing acidotic and alkalotic stress (LACHMANN 1981). Furthermore, it was evaluated whether zeolite A supplementation in several doses during dry period has an effect on DMI and milk yield in the subsequent lactation.

Material and methods

Cows and housing

The experimental study was conducted from September 2005 to March 2006 with 80 dry, pregnant German Holstein cows (mean live weight: 609 ± 63 kg) from the cattle herd of the FAL in Braunschweig, Germany. The mean of 305-day milk production was 7606 ± 1500 kg

fat corrected milk (FCM). The lactation number after zeolite A supplementation of all cows varied between one and seven. The expected date of calving was 29 ± 4 days. They were evenly distributed according to lactation number into four groups (Group I, II, III and IV) of 20 cows each (Table 1), 4 weeks before expected date of calving.

Table 1: Number of cows in the four groups and the distribution to their lactation numbers

lactation number	n			
	Group I	Group II	Group III	Group IV
1	7	8	7	7
2	5	4	4	5
4	5	6	6	5
5	2	2	2	2
6	1	0	0	1
7	0	0	1	0
Σ 1 st and 2 nd	12	12	11	12
$\Sigma > 3$	8	8	9	8
Σ total	20	20	20	20

To determine a possible relationship between the concentration of minerals in blood serum and the lactation number, the cows in each group were divided into two sub-groups: cows in first and second lactation (referred to as younger cows in the following) and cows with a lactation number higher than three (referred to as older cows in following). The cows were kept in a loose-housing system on a slatted floor with separate feeding and lying areas. They were moved to a single calving pen 1 week before the expected date of calving. Roughage and water were offered in computerized weighed troughs. The daily consumption was recorded individually with an electronic registration system. All cows were milked twice daily in the subsequent lactation. After calving, the dataset was collected from a total of only 26 cows (nine in Group I, seven in Group II and five each in Groups III and IV).

Zeolite A

For this experiment, a synthetic sodium-aluminium silicate ($\text{Na}_{12}\text{Al}_2\text{Si}_{12}\text{O}_{48} \times 27\text{H}_2\text{O}$) powder, type A4 (IMPAG GmbH, Offenbach, Germany) was used. According to the producer, the water content of this product was $20 \pm 1\%$ and its Ca-binding capacity was > 160 mg CaO/g zeolite A (anhydrous basis) at pH 11.

Feeding

The cows were fed a TMR with 48 % maize silage, 32 % grass silage and 20 % concentrate on DM basis ad libitum starting 4 weeks before expected date of calving. The composition of the concentrate is shown in Table 2. During the last 2 weeks of pregnancy, the four groups were fed different doses of zeolite A added to the TMR (0, 12, 23 and 43 g/kg DM). The nutrient composition of the diets is shown in Table 3. Table 3 also shows the zeolite-Ca ratio,

which is calculated as g zeolite A per kg DM TMR/g Ca per kg DM TMR. At calving, the zeolite A supplementation was stopped. After calving, the cows received a mixture of 60 % maize silage and 40 % grass silage on DM basis ad libitum. Additionally, they received concentrates depending on milk yield offered by a self-feeding station.

Table 2: Composition of the concentrate for dry, pregnant dairy cows

Components	Content (%)
Soy bean meal	20.0
Barley	31.0
Wheat	31.0
Dried suger beet pulp	10.0
Soy bean oil	1.5
Premix ¹	6.5

¹Composition of premix (per kg): 60 g Ca, 80 g P, 85 g Na, 50 g Mg, 800.000 IE vitamin A, 100.000 IE vitamin D₃, 1500 mg vitamin E, 4800 mg Mn, 7000 mg Zn, 1000 mg Cu, 100 mg I, 30 mg Co, 40 mg Se

Table 3: Composition of the TMR (g/kg DM)

	TMR I	TMR II	TMR III	TMR IV
Analysed components				
Dry matter	36.1	36.8	37.4	37.7
Organic substance	929.4 ^a	922.6 ^a	914.9 ^{ab}	902.1 ^b
Crude ash	70.6 ^a	77.4 ^a	85.1 ^{ab}	97.9 ^b
Crude protein	107.6	106.8	104.6	101.4
Crude fat	24.5	24.8	25.8	24.6
Crude fibre	224.2	217.9	221.2	221.8
N-free-extractives	573.2	573.0	563.2	554.2
ADF	245.3	243.6	238.3	236.9
NDF	456.8	452.1	440.7	435.0
ME (MJ/kg DM)	10.1	10.1	10.0	10.0
NEL (MJ/kg DM)	6.1	6.0	6.0	6.0
Calcium	4.2	4.3	4.1	4.1
Magnesium	2.4	2.4	2.3	2.3
Phosphorus	3.8	3.8	3.7	3.7
Zeolite	-	12	23	43
Zeolite/Calcium Ratio	-	2.8	5.6	10.5

TMR, total mixed ration; ADF, acid detergent fibre; NDF, neutral detergent fibre; ME, metabolizable energy; NEL, net energy for lactation; DM, dry matter. a < b (in lines); p < 0.05

Samples

Samples of maize and grass silage were collected twice weekly and daily for the TMR. The samples were pooled and dried every 2 weeks. Until drying, the pooled samples were frozen at -19°C . Four samples were collected from the concentrate. Blood samples were taken from the vena jugularis externa in serum tubes seven times: 28, 14 (before the first zeolite A supplementation) and 7 days before the expected date of calving, at calving, 1, 2 and 7 days after calving. The serum was separated at 3000 g at 15°C for 10 min and frozen at -19°C until analysis. Urine samples were collected as spontaneous urine after manual stimulation of the urogenital region 14 days before expected date of calving as well as 1 and 7 days after calving. For the analysis of Mg, K and creatinine, one part of the urine was centrifuged at 1500 g at 15°C for 5 min and frozen at -19°C until analysis. For the analysis of Ca and P_i , one part of the urine was frozen without centrifugation. For the measurements of the acid-base excretion on the same day, the rest of the urine was refrigerated.

Body condition score (BCS) was determined approximately 3 weeks prepartum as well as 1 and 14 weeks after calving. A five grade scale with 0.25-unit increments, where '1' represents a very thin and '5' an obese animal was used (Edmonson et al., 1989). Milk yield was recorded each milking time. Samples were taken twice per week to analyze the milk composition.

Analysis and calculations

The feedstuffs were analysed for DM, crude ash (XA), crude protein (XP), crude fat (XL) and crude fibre (XF) according to the directive of the VDLUFA (2004) in the laboratory of the Institute of Animal Nutrition, Federal Agricultural Research Centre (FAL), Braunschweig. The analysis of the acid and neutral detergent fibre was conducted according to GOERING and VAN SOEST (1970). The digestibility of the TMR with or without different zeolite A doses was examined in a balance experiment using four adult wethers at four time periods according to the standard procedures as defined by the German Society of Nutrition Physiology (GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE 1991). The energy [metabolizable energy (ME), net energy for lactation (NEL)], nutritional protein (nXP) and the ruminal N-balance was calculated with the results of the wether balance experiment, using the formulas described by the GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE (2001). The content of Ca, Mg and P_i was measured in the maize silage, grass silage and concentrate according to the directive of the VDLUFA (No 10.6.1, modified, 2004). Afterwards, the contents were calculated to the adequate components in the TMR for the four groups.

Serum and urine samples were analysed for Ca, Mg, P_i and K, as well as for creatinine, a necessary parameter to estimate the fractional excretion of the elements. Based on previous investigations with zeolite A (THILSING-HANSEN et al., 2002, 2003), measurement of the total Ca and Mg in serum was opted. Serum samples were also analysed for non-esterified fatty acids (NEFA) and β -hydroxybutyrate (BHB). These analyses were conducted with the Roche/ Hitachi 912 Automatic Analyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) in

the laboratory of the Large Animal Clinic for Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, Leipzig, Germany.

The fractional NABE was determined at the day of sampling in the laboratory of the Institute of Animal Nutrition, Federal Agricultural Research Centre (FAL), Braunschweig. Net acid-base excretion was analysed according to the method of KUTAS (1965). The concentration of base, acid and NH_4^+ was determined via titration with HCl, NaOH and after fixation of the NH_4^+ with formaldehyde and titrating with NaOH (LACHMANN 1981) respectively. Afterwards, NABE was calculated with the formula: $\text{NABE} = \text{Base} - \text{Acid} - \text{NH}_4^+$. The fractional urinary excretion was decided upon to assess mineral excretion. This is calculated by the formula $\text{FE}_x = (\text{U}_x/\text{S}_x) \cdot (\text{S}_{\text{Crea}}/\text{U}_{\text{Crea}}) \cdot 100$. U_x and S_x represent the concentration of the element (Ca, Mg, P_i and K) in urine and serum, respectively, and U_{Crea} and S_{Crea} , the concentration of creatinine in urine and serum. This formula is independent from the urinary flow rate (HARTMANN et al. 2001).

Statistical analysis

The statistical analysis was conducted using the software package sas (SAS Institute, Version 9.1, 2003).

Feed intake, composition of the feedstuffs, BCS and milk data were analysed using the general linear model procedure of sas. A one-way factorial design of anova was used, which had the following model:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

where y_{ij} = tested parameter of the cow 'j' fed diet type 'i', μ = overall mean, α_i = effect of the group (I, II, III and IV), e_{ij} = error term. Mean value differences were tested with a multiple t-test (Tukey).

Serum samples were analysed according to the restricted maximum likelihood method for random effect variances and the Kenward–Roger method for calculation of degrees of freedom implemented using the mixed procedure of sas with the following model:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + L_j + S_k + \text{TLS}_{ijk} + C_l + e_{ijkl} \text{ for Ca, Mg and } P_i$$

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + L_j + S_k + \text{TS}_{ik} + C_l + e_{ijkl} \text{ for K, NEFA and BHB}$$

where: Y_{ijkl} = tested parameter of the cow 'l' at the sample number 'k', fed diet type 'i', with the lactation number 'j', μ = overall mean, T_i = effect of the experimental treatment (i.e. Group I, II, III and IV), L_j = effect of the lactation number (i.e. first and second lactation and higher than third lactation), S_k = effect of the sample number, TLS_{ijk} = interaction between experimental treatment, lactation number and sample number, TS_{ik} = interaction between experimental treatment and sample number, C_l = random cow effect to account for repeated measurements within the same individual, e_{ijkl} = error term.

Urine samples were analysed using the Wilcoxon's signed rank sum test with the univariate procedure of sas. Furthermore there was calculated the relationship between zeolite A intake

and serum P_i concentration with the method according to Pearson. The correlations between NABE and DMI and between NABE and fractional urinary K excretion were calculated according to Spearman using the proc corr procedure of sas. The differences were considered statistically significant if $p < 0.05$ and a trend if $p < 0.1$. Values of nutrition, serum, BCS and milk yield, as well as the milk compositions are shown as means \pm SD. Urine values are shown as median.

Results

One cow (in Group II, first lactation) was excluded from the study, because it was not pregnant. Therefore only 19 cows were evaluated in this group. Because the exact date of calving could not be predicted, the mean (\pm SD) duration of experimental period in Groups I to IV was 15 ± 4 days, 15 ± 4 days, 17 ± 7 days and 17 ± 6 days respectively. One older cow in Group I developed a complicated milk fever (the day of parturition serum Ca was 1.42 mmol/l) and died one day after calving in spite of therapeutic treatment.

Feeding and energy metabolism

The zeolite A added in the TMR changed the nutrient composition (Table 3). The diet with the highest dosage (43 g zeolite A/kg DM) was significantly higher in XA (97.9 g/kg DM) than the diet without zeolite A (70.6 g/kg DM) and with the lowest zeolite A dosage (77.4 g/kg DM) respectively.

The mean DM and energy intake before and during zeolite A supplementation is listed in Table 4. Before zeolite A was added (28 to 14 days before expected date of calving), the cows consumed daily 11.5 ± 1.9 kg DM. There were no significant differences between groups. During the experimental period (14 to 1 days before expected date of calving), a reduction of feed intake was observed in all four groups. However, the reduction in Group IV (-4.0 kg) was significantly greater than in Groups I–III (-1.4, -1.1 and -1.7 kg, respectively). This resulted in a significantly lowered intake of TMR (7.3 kg/day) compared to the other groups (10.1, 10.9 and 9.5 kg/day, respectively). The total DMI of the cows in Group III was also lower, but it was only significantly reduced compared to Group II. The DMI of the cows in Group IV was significantly decreased from the beginning of the zeolite A supplementation (day 15) throughout the entire experimental period (Fig. 1). On the first day, the zeolite A addition also had a significant effect on DMI for the cows in Group III, but this was not consistent during the entire experimental period. As a result of the decreased DMI, the cows in Group IV had a suboptimal energy supply of 43.9 MJ NEL, the protein intake was 928 g nXP/day (Table 4). This was below the recommendations of 53.5 MJ NEL and 1230 g XP for cows in the last three weeks of pregnancy (GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE, 2001). The mineral intake differed significantly between the groups as a consequence of the different DM intakes (Table 4). The mean daily zeolite A intake of the cows in Groups II–IV was 131, 215 and 310 g respectively.

Table 4: Mean intake of dry matter (DM), nutritional protein (nXP), energy (ME, NEL), zeolite A and minerals and ruminal N-balance (RNB)

	Group			
	I	II	III	IV
Before zeolite supplementation				
DM (kg /cow/day)	11.5	12.0	11.2	11.3
nXP (g /cow/day)	1523	1579	1480	1498
RNB (g/MJ ME)	-0.39	-0.39	-0.39	-0.39
ME (MJ/cow/day)	116.6	120.9	113.3	114.6
NEL (MJ/cow/day)	69.8	72.3	67.8	68.6
During zeolite supplementation				
DM (kg / cow and day)	10.1 ^{bc}	10.9 ^c	9.5 ^b	7.3 ^a
Reduction of DM intake (kg/day)	1.4 ^a	1.1 ^a	1.7 ^a	4.0 ^b
nXP (g /cow and day)	1339 ^{bc}	1429 ^c	1224 ^b	928 ^a
RNB (g/MJ ME)	-0.39	-0.39	-0.40	-0.41
ME (MJ/cow and day)	102.5 ^{bc}	109.8 ^c	94.4 ^b	73.0 ^a
NEL (MJ/cow and day)	61.4 ^{bc}	65.7 ^c	56.5 ^b	43.9 ^a
Zeolite (g/cow and day)	-	131 ^a	215 ^b	310 ^c
Mineral Elements (g/cow and day)				
Ca	44.4 ^{bc}	46.9 ^c	40.4 ^b	30.5 ^a
Mg	25.0 ^{bc}	26.5 ^c	23.1 ^b	17.4 ^a
P	39.6 ^{bc}	42.9 ^c	36.7 ^b	27.7 ^a

ME, metabolizable energy; NEL, net energy for lactation. a, b and c between groups (in lines); < 0.05

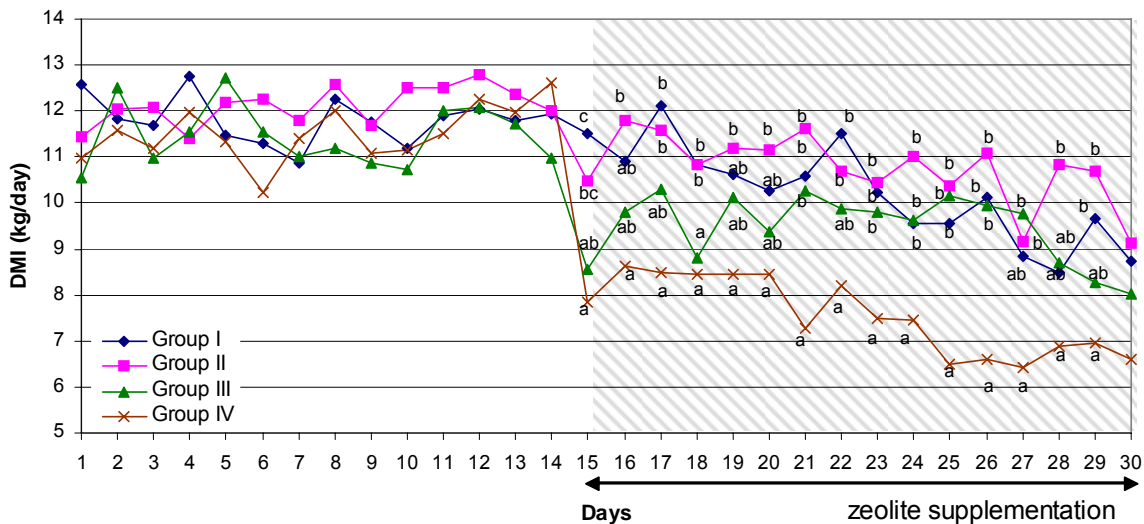


Fig. 1: Mean daily dry matter intake (DMI) of the cows before (day 1–14) and during zeolite supplementation (day 15–30). a, b and c between groups; p < 0.05

The mean serum NEFA and BHB concentrations around calving as parameters reflecting the energy metabolism are shown in Figs 2 and 3. The mean NEFA concentration increased significantly on the day of calving in all four groups. The cows in Group IV already showed a

higher serum NEFA concentration ($428 \pm 256 \mu\text{mol/l}$) 7 days before expected date of calving when compared with Groups I ($165 \pm 123 \mu\text{mol/l}$) and II ($162 \pm 67 \mu\text{mol/l}$). However, the differences were not significant because of the great variation between the cows.

The mean serum BHB concentration increased significantly in Groups I, III and IV after calving. While the elevation of BHB of cows in Groups I and III was significant only on day 7 postpartum, it was also significant on days 1 and 2 after calving in Group IV. The mean serum BHB concentration in cows of Group IV increased from 0.57 mmol/l (14 days before the expected date of calving) to 1.17 mmol/l (1 day post partum). On days 2 and 7 postpartum, the mean serum BHB continued to increase to 2.42 mmol/l (day 7) and differed significantly from Groups I (1.04 mmol/l), II (0.92 mmol/l) and III (1.08 mmol/l), 7 days postpartum.

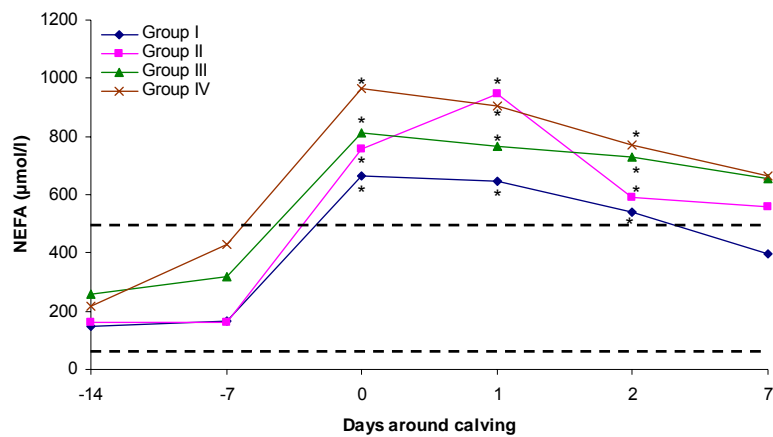


Fig. 2: Mean periparturient non-esterified fatty acid (NEFA) concentration in serum ($\mu\text{mol/l}$) of the cows. The broken lines show the lower and upper limits of the reference range ($50\text{--}500 \mu\text{mol/l}$; large animal clinic for internal medicine, University Leipzig). *Differences compared to 14 days ante partum; $p < 0.05$

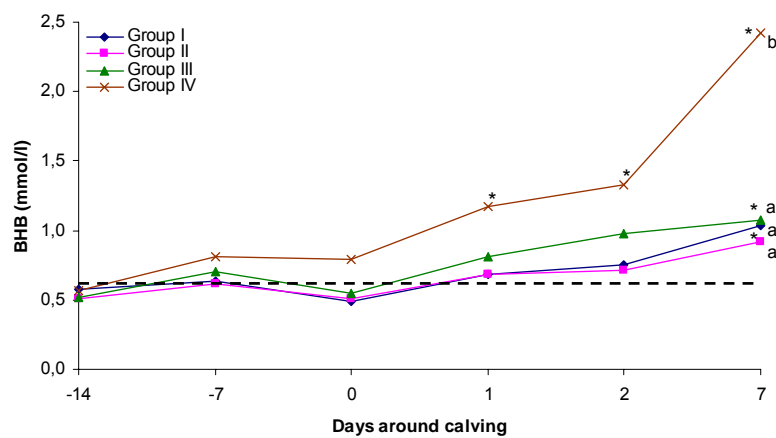


Fig. 3: Mean periparturient β -hydroxybutyrate (BHB) concentration in serum (mmol/l). The broken line shows the upper physiological limit (0.6 mmol/l ; KRAFT and DÜRR, 1999). *Differences compared to 14 days ante partum; $p < 0.05$, $a < b$ between groups; $p < 0.05$

Serum analysis of Ca, Mg, P_i and K

Results of serum total Ca, Mg and P_i are shown in Figs 4–6. Different zeolite A doses did not have any effect on serum Ca in younger cows (first and second lactation, Fig. 4a). In all four groups, the mean Ca concentration around calving stayed above the limit of hypocalcaemia (2 mmol/l, DESCOTEAUX et al. 1997). However, the mean serum Ca of older cows (lactation number higher than three) was significantly affected by zeolite A doses of 23 and 43 g/kg DM (Group III and IV, Fig. 4b). The mean serum Ca around calving was above the hypocalcaemia limit as well (2.27 ± 0.49 mmol/l in Group III and 2.31 ± 0.20 mmol/l in Group IV). The cows without zeolite A supplementation (Group I) and with the lowest zeolite A dose (Group II) showed a decreased Ca concentration below 2 mmol/l on the day of calving and one day after calving. On the day of calving, the mean Ca concentration was 1.85 ± 0.26 mmol/l for Group I and 1.94 ± 0.21 mmol/l for Group II. Compared to the values observed before the beginning of the experimental period (14 days before expected date of calving), decreases in serum Ca concentration have been significant for groups I and II. On the day of calving, older cows showed a hypocalcaemia incidence (< 2 mmol/l) of 75 % (six of eight cows) in Groups I and II, 22 % (two of nine cows) in Group III and 0 % (0 of 8 cows) in Group IV. The reduction rate of hypocalcaemia by zeolite A supplementation was 71 % for Group III and 100 % for Group IV.

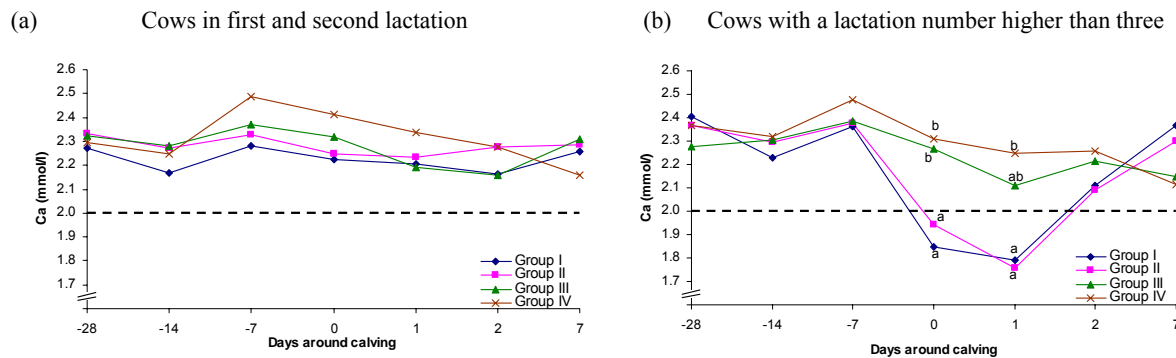


Fig. 4: Mean periparturient Ca concentration in serum (mmol/l) of the cows. The broken line shows the limit for subclinical hypocalcaemia (2 mmol/l; DESCOTEAUX et al. 1997). a < b between groups; p < 0.05

Serum Mg concentration was also significantly affected by zeolite A supplementation in the older cows, but only by the highest dose (Group IV; Fig. 5b).

The mean Mg concentration of the older cows in Group IV (0.94 ± 0.08 mmol/l) was significantly lower on the day of calving compared to Group I (1.30 ± 0.12 mmol/l) and Group III (1.21 ± 0.28 mmol/l). One day after calving, the mean serum Mg concentration of the cows in Group IV (0.90 ± 0.15 mmol/l) differed significantly from that of cows in Group I (1.22 ± 0.20 mmol/l). Despite the differences, the mean serum Mg concentration stayed within the reference range (0.75 to 1.30 mmol/l) in all four groups (Kraft and Dürr 1999). No significant differences were observed for the younger cows (Fig. 5a).

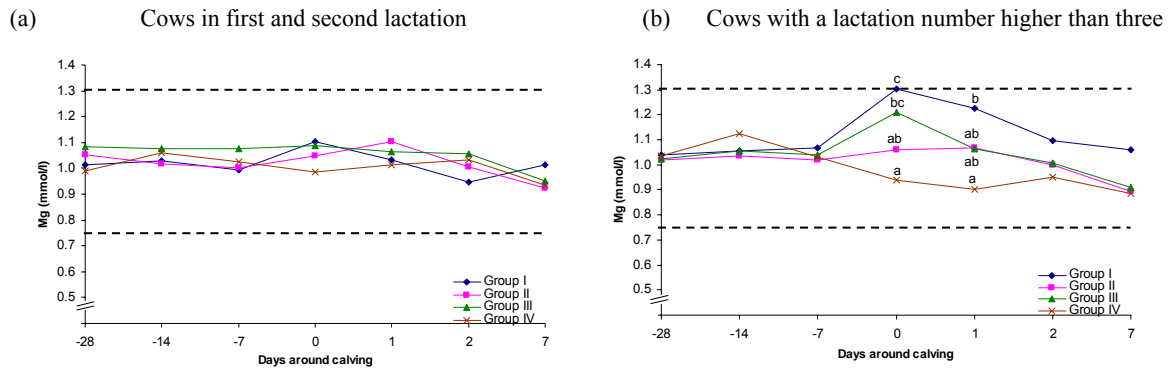


Fig. 5: Mean periparturient Mg concentration in serum (mmol/l) of the cows. The broken lines show the lower and upper limits of the reference range (0.75–1.30 mmol/l; KRAFT and DÜRR 1999). a, b and c between groups; $p < 0.05$

The mean serum P_i concentration around calving was significantly affected by zeolite A supplementation. A dosage of 43 g/kg DM (Group IV) led to a significant decrease 7 days before the expected date of calving in both lactation groups (Fig. 6a and b).

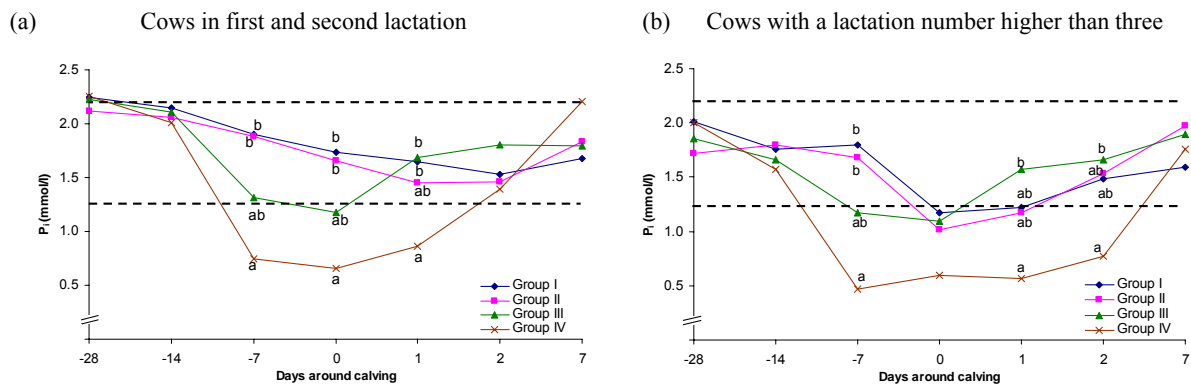


Fig. 6: Mean periparturient P_i concentration in serum (mmol/l) of the cows. The broken lines show the lower and upper limits of the reference range (1.25–2.20 mmol/l; KRAFT and DÜRR 1999). a < b between groups; $p < 0.05$

These cows had a mean P_i concentration of 0.75 ± 0.22 mmol/l (younger cows) and 0.47 ± 0.11 mmol/l (older cows) respectively. The mean concentration was considerably below the lower limit of the reference range of 1.25 mmol/l (KRAFT and DÜRR 1999) and significantly lower compared to Groups I (1.90 ± 0.23 mmol/l, 1.80 ± 0.33 mmol/l) and II (1.88 ± 0.25 mmol/l, 1.68 ± 0.16 mmol/l). The cows of Group III had a mean serum P_i -concentration of 1.32 ± 0.42 mmol/l (younger cows) and 1.17 ± 0.30 mmol/l (older cows). The concentration was lower when compared with Groups I and II, but the difference was not significant. On the day of calving and one day after calving, the cows in group IV also showed a hypophosphataemia. The mean concentration was 0.66 ± 0.14 mmol/l (younger cows) and 0.60 ± 0.15 mmol/l (older cows) on the day of calving. The mean serum P_i -concentration decreased for older cows in Groups I and II (1.17 ± 0.28 mmol/l, 1.02 ± 0.43

mmol/l) on the day of calving. However, these concentrations still remained around the lower limit of the reference range of 1.25 mmol/l (KRAFT and DÜRR 1999). While the mean serum P_i concentration of the younger cows increased from day 2 postpartum back into a physiological range, an increase of these values for the older cows was observed only 7 days postpartum.

The serum P_i concentration correlated negatively with the mean zeolite A intake prepartum (Fig. 7). Seven days before the expected date of calving, the Pearson's coefficient of correlation was $r = -0.86$ and on the day of calving $r = -0.62$. The correlation was significant ($p < 0.0001$).

The serum K stayed within the reference range (3.5 to 4.5 mmol/l; KRAFT and DÜRR 1999) in all four groups. No influence of the different zeolite A doses on serum K doses was observed (data not shown).

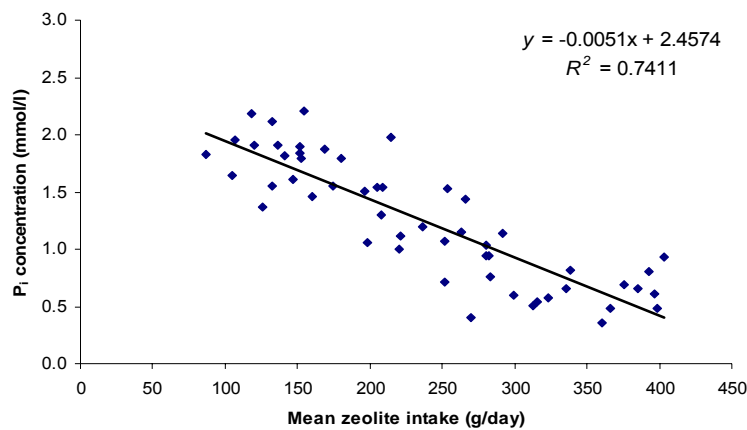


Fig. 7: Correlation between the mean zeolite intake (g/day) and the inorganic phosphate (P_i) concentration in serum 7 days before expected date of calving (Pearson: $r = -0.86$; $p < 0.0001$)

Acid-base status and urinary excretion of Ca, Mg, P_i and K

The lactation number was not considered for the evaluation of these parameters because no influence of age was observed. Urine parameters are issued as median. Figure 8 shows the NABE as box-and-whisker plots.

On the first day of sampling (14 days before expected date of calving) and one day after calving, no significant differences of NABE between the four groups were observed. Seven days postpartum, the NABE of cows in Group IV was significantly lower (78 mmol/l) than in Group II (149 mmol/l) and tended to be lower than for cows in Group I (131 mmol/l). Seven days postpartum, the NABE correlated significantly ($p = 0.0058$) with the mean DMI during the last 2 weeks ante partum ($r = 0.35$).

Zeolite A supplementation in the highest dosage led to significantly higher urinary Ca excretion (Fig. 9).

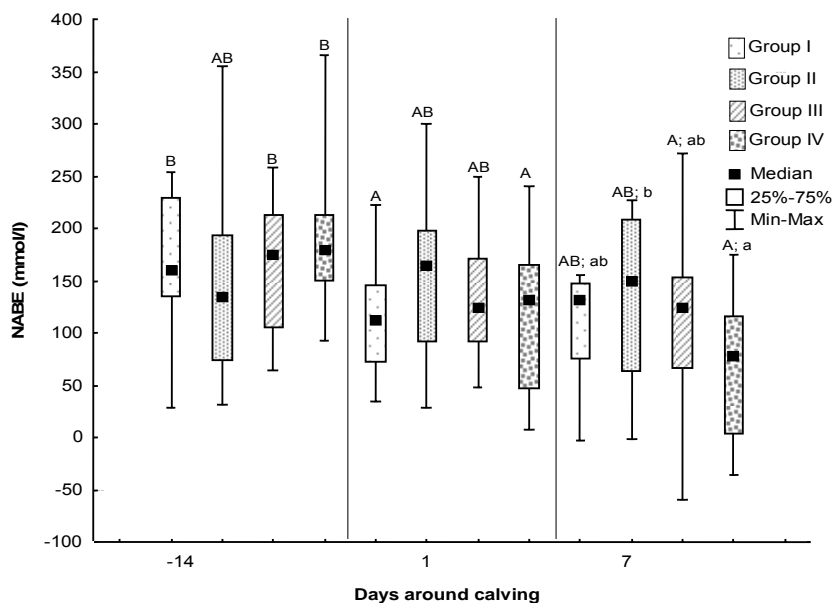


Fig. 8: Periparturient net acid-base excretion (mmol/l) of the cows. A < B between samples, a < b between groups; p < 0.05

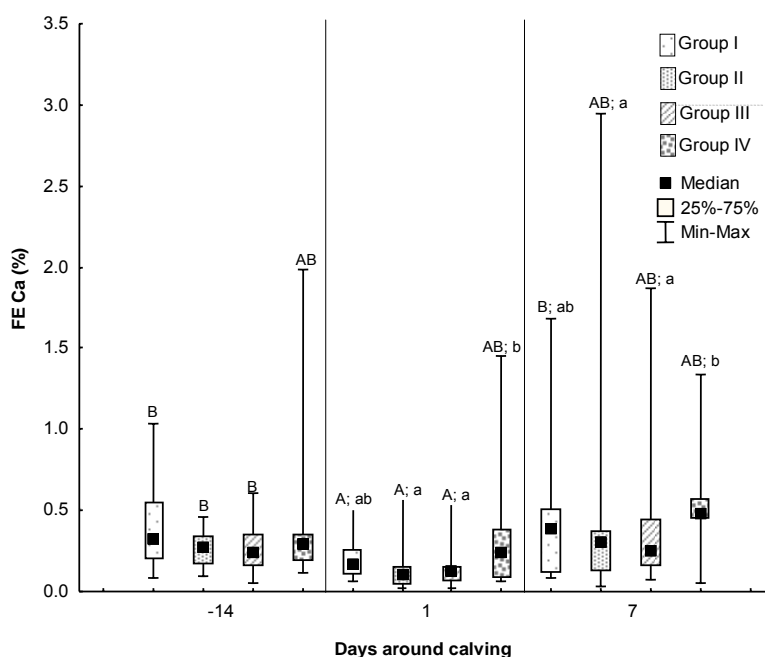


Fig. 9: Periparturient fractional excretion of Ca (FE, %) of the cows. A < B between samples, a < b between groups; p < 0.05

While the Ca excretion was comparable in all four groups before beginning of zeolite A supplementation (0.32, 0.27, 0.24 and 0.29 %), it was significantly lower one day after parturition (p < 0.05) for cows in Groups I (0.17 %), II (0.11 %) and III (0.12 %), respectively, but not for cows in Group IV (0.24 %). Therefore, Group IV differed here significantly from Groups II and III. The Ca excretion of cows in Groups I to III was below the physiological range of 0.2 to 0.9 % (FÜRL 2005). Seven days postpartum, the

Ca excretion of cows in Group IV (0.48 %) was still significantly higher when compared with the Ca excretion of cows in Groups II (0.30 %) and III (0.25 %). Urinary Mg excretion varied also between the four experimental groups (Table 5).

Table 5: Fractional excretion (FE %) of Mg, Pi and K (median)

	I	II	III	IV
Days around calving	FE Mg			
-14	12.01 ^B	8.89 ^B	8.65 ^B	9.13 ^B
1	8.70 ^{A,b}	7.07 ^{A,ab}	4.96 ^{A,a}	5.91 ^{AB,ab}
7	11.96 ^{A,b}	9.39 ^{B,b}	8.40 ^{B,ab}	4.29 ^{A,a}
	FE P _i			
-14	0.02	0.04 ^{AB}	0.05	0.03
1	0.06 ^b	0.05 ^{B,ab}	0.05 ^b	< 0.01 ^a
7	0.01 ^{ab}	< 0.01 ^{A,a}	0.04 ^b	0.02 ^{ab}
	FE K			
-14	55.43 ^B	63.31 ^B	64.14	62.18 ^B
1	39.87 ^{A,a}	45.97 ^{A,ab}	53.63 ^b	42.86 ^{A,ab}
7	53.91 ^{AB}	46.26 ^{AB}	56.73	43.25 ^A

A < B between samples (in columns), p < 0.05; a < b between groups (in lines); p < 0.05

Cows in Group III had a significantly lower Mg excretion one day after calving (4.96 %) as compared to Group I (8.70 %). Seven days postpartum, the Mg excretion of the cows in Group IV (4.29%) decreased significantly compared to Groups I (11.96 %) and II (9.39 %).

Urinary P_i excretion was influenced by zeolite A supplementation as well (Table 5). The cows in Group IV had a P_i excretion < 0.01% one day postpartum. The excretion was significantly lower compared to Groups I (0.06 %) and III (0.05 %), and tended to be lower than Group II (0.05 %). Seven days postpartum, the cows in Group III had a significantly higher P_i excretion (0.04 %) compared to cows of Group II (< 0.01 %), and there was a tendency towards higher P_i excretion compared to cows of Group I (0.01 %).

Fractional urinary excretion of K decreased significantly in Groups I, II and IV one day postpartum (Table 5). In Group IV, the decrease was also significant 7 days postpartum. On this day, the urinary excretion of K correlated significantly with NABE (r = 0.61; p < 0.0001).

Body condition score

Body condition scores are shown in Table 6. No significant effects of zeolite A supplementation were observed on body condition for the four groups. The BCS 14 weeks postpartum was reduced in all four groups, i.e. being approximately 0.41 (I), 0.40 (II) and 0.48 (III and IV) points less than that in the dry period.

Table 6: Mean body condition score (BCS \pm SD) before zeolite supplementation (3 weeks ante partum), 1 and 14 weeks after calving and BCS loss (3 weeks ante partum to 14 weeks postpartum). Scale ranged from 1 = thin to 5 = obese

Weeks around parturition	Groups			
	I	II	III	IV
-3	3.20 \pm 0.25	3,20 \pm 0,22	3,27 \pm 0,25	3,20 \pm 0,25
1	2.80 \pm 0.26	2,80 \pm 0,22	2,79 \pm 0,17	2,72 \pm 0,24
14	3.05 \pm 0.25	2.97 \pm 0.21	3.05 \pm 0.24	2.90 \pm 0.31
^a BCS loss	-0.41 \pm 0.24	-0,40 \pm 0,26	-0,48 \pm 0,29	-0,48 \pm 0,23

^aLoss of body condition scores from 3 weeks ante partum to 14 weeks postpartum

Feed intake and milk yield in the subsequent lactation

Despite reduced feed intake, the cows in Group IV ante partum had neither a significant influence on feed intake nor on milk yield and milk composition in the subsequent lactation (Table 7). The mean feed intake for the first 105 days of lactation was 17.1 \pm 2.2, 18.9 \pm 2.5, 17.7 \pm 1.2 and 18.4 \pm 2.2 kg DM/day. The mean milk yield for the first 105 days of lactation was 2550 \pm 337, 3216 \pm 881, 2603 \pm 318 and 2906 \pm 611 kg FCM.

Table 7: Mean feed intake postpartum, milk yield and milk composition (\pm SD) around 105 days

	Groups			
	I	II	III	IV
Feed intake (kg dry matter/cow/day)				
around 28 days	15.4 \pm 2.8	17.3 \pm 2.4	15.6 \pm 1.3	15.8 \pm 2.1
around 105 days	17.1 \pm 2.2	18.9 \pm 2.5	17.7 \pm 1.2	18.4 \pm 2.2
Fat corrected milk 3.5 % (kg)	2550 \pm 337	3216 \pm 881	2603 \pm 318	2906 \pm 611
Milk fat (%)	3.9 \pm 0.8	4.2 \pm 0.3	3.9 \pm 0.4	4.0 \pm 0.5
Milk protein (%)	3.1 \pm 0.1	3.1 \pm 0.2	3.0 \pm 0.1	3.0 \pm 0.1
Lactose (%)	4.8 \pm 0.1	4.8 \pm 0.1	4.8 \pm 0.1	4.7 \pm 0.1

Discussion

Supplementation of zeolite A for preventing hypocalcaemia was previously proven only in high doses (\geq 500 g per cow daily; ENEMARK et al. 2003a, b; GRABHERR et al. 2008; THILSING-HANSEN and JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003). Besides stabilizing effects on Ca metabolism, negative side effects on feed intake and P metabolism were also observed (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; GRABHERR et al. 2008). In the present study, the mean daily intake of zeolite A was lower (131, 215 and 310 g) compared to previous studies. Zeolite A supplementation of 43 g/kg DM (Group IV) led to a significantly decreased DMI (Table 4). The reduction of feed intake was observed immediately after beginning of zeolite A supplementation (day 15) (Fig. 1). A previous study

with a zeolite A supplementation in a dosage of 90 g zeolite A/kg DM in the last 14 days of pregnancy also showed a dramatically reduced DMI. While the mean DMI of unsupplemented cows was 12 kg/day, the zeolite A treated cows had a mean DMI of 6.2 kg/day (decrease of 5.8 kg; GRABHERR et al. 2008). In a study with lactating cows, a significantly reduced feed intake was investigated already by zeolite A supplementation of 2 % (JOHNSON et al. 1988). The reason for the influence on feed intake is still not exactly clear. The reduction in feed intake immediately after zeolite A supplementation is probably a consequence of the poor palatability of zeolite A. An addition of 43 g zeolite A/kg DM (4.3 %) as a clay mineral led to a significantly higher content of XA in the TMR (Table 3).

The reduction of feed intake could also be a result of the observed hypophosphataemia of the cows in Group IV. Several studies detected a reduction in feed intake induced by diets low in P (KINCAID et al. 1981; GARTNER et al. 1982). In a study by THILSING et al. (2007), cows received 600 g zeolite A/cow/day with high and low levels of dietary Ca and P_i. A significantly reduced feed intake was observed in cows receiving low dietary P compared with high dietary P content.

A consequence of the reduced feed intake of cows in Group IV was an insufficient supply of nutrients and energy (Table 4). However, a significant increase of NEFA as a response of negative energy balance ante partum (DRACKLEY 2002) was not observed. The significant increase on the day of calving of cows in all four groups may be because of the stress of calving (GRUMMER 1995). In contrast to the investigations in the present study, an earlier study with zeolite A supplementation at a high dosage (90 g/kg DM) showed a significantly higher NEFA concentration of zeolite A treated cows 7 days before expected date of calving when compared with the control group (GRABHERR et al. 2008).

Otherwise the negative energy balance of the cows in Group IV was reflected with a remarkable increase of BHB. In an earlier study with high zeolite A dosage, the zeolite A treated cows also showed a significantly higher BHB concentration around parturition compared to the untreated cows. An increase of BHB concentration in serum develops because of synthesis in the liver after aggregation of NEFA in blood (SCHLERKA and FILAR 1981).

While negative effects on feed intake were mainly recorded by a zeolite A dosage of 43 g/kg DM, a stabilizing effect on Ca metabolism around calving was observed already by a dosage of 23 g zeolite A/kg DM for cows with a lactation number higher than three (Fig. 4b). No effect was detected by a zeolite A dosage of 12 g/kg DM. Although ionized Ca in serum allow generally better information about the actual Ca status, in the present study, only total Ca was measured. This decision based on apparent effects of zeolite A on total Ca in serum in previous studies with zeolite A supplementation in dairy cows (THILSING-HANSEN and JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003).

The exact mechanism of zeolite A supplementation on Ca metabolism is still not clear. Supplementation of 43 g zeolite A/kg DM led to a significantly lower Ca intake (30.5 g/day) as a response of reduced DMI. It is possible that the low Ca intake sufficiently activated the Ca metabolism. However, the older cows in Group III also showed stabilized serum Ca

without significantly lower Ca intake ante partum (40.4 g/day) compared to the Groups I and II. This amount was considerably above the recommended limit (20 g/day) to keep the Ca intake low (HORST et al. 1997; HOUE et al. 2001). The result for Group IV was in accordance with previous studies with high zeolite A doses (THILSING-HANSEN et al. 2002; GRABHERR et al. 2008), where the cows showed a stabilized Ca metabolism as a response of negative Ca balance because of the decreased feed intake. As a consequence of the reduced feed intake of zeolite A treated cows, the mean Ca intake was 22 g/day in the last 2 weeks of pregnancy (GRABHERR et al. 2008) which resulted in significantly higher Ca concentrations around parturition compared to the control group. In the present study, it is difficult to deduce whether the stabilized Ca metabolism of cows in Group IV was because of an effect of zeolite A mechanism or as a result of reduced Ca intake.

Besides stabilized Ca concentration of the older cows in Group IV, also a remarkable hypophosphataemia was observed 7 days before expected date of calving as well as around parturition (Fig. 6a and b). The simultaneous appearance of the stabilized Ca metabolism around calving and the lower serum P_i could lead to the hypothesis that the increased Ca concentration in serum of the older cows in Group IV was induced by P_i depression in serum. However, the older cows in Group III also showed a stabilization of Ca metabolism around calving, although the P_i concentration at parturition was not significantly lower when compared with Groups I and II. Other studies with diets low in P showed also an increase in Ca in blood (KICHURA et al. 1982; WAN ZAHARI et al. 1990; PETERSON et al. 2005). THILSING et al. (2007) examined the effect of zeolite A with different supplementations of Ca and P in the diet. Cows which received no additional P showed a higher Ca concentration in blood plasma than cows receiving P in the diet. On the other hand, BARTON et al. (1987) found no effect on parturient plasma Ca after feeding a diet with various P contents.

The younger cows showed a higher serum Ca concentration around parturition than older cows in all four groups. This result agrees with previous studies (SHAPPELL et al. 1987; MOORE et al. 2000; CHAN et al. 2006). Because young cows are able to readily mobilize Ca stores, no influence of zeolite A supplementation on Ca metabolism may be expected.

Feeding high doses of zeolite A (Group IV) resulted in the same renal Ca excretion one day after calving as compared to the beginning of the experimental period (14 days before expected date of calving), whereas the Ca excretion in Groups I, II and III was significantly reduced (Fig. 9). The reduced Ca excretion around parturition of the cows in Groups I to III may be explained in the activation of parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D at initiation of lactation (HORST et al. 1994; GOFF 2000), whereas in Group IV this activation probably occurred earlier because of negative Ca balance ante partum. This effect may have caused a ready Ca mobilization in the bone, which resulted in a higher renal Ca excretion around calving. THILSING-HANSEN et al. (2002) determined a significantly higher activation of 1,25-dihydroxyvitamin D in zeolite A treated cows 1 week ante partum. Based on the fact that in the present study the NABE of the cows in Group IV did not differ significantly from the other groups 1 day after parturition (Fig. 8), the higher Ca excretion was not caused by metabolic acidosis. This result is in accordance with a previous study from

ENEMARK et al. (2003a). They also observed higher renal Ca excretion with absence of acidification in cows consuming 800 g zeolite A/day. In contrast to these results, a study with dry, non-pregnant cows (ENEMARK et al. 2003b) showed only a significant elevation of renal Ca excretion after withdrawal of zeolite A. During zeolite A supplementation, they observed a significant alkalization of urine in the zeolite A treated cows. By comparison with the own study, these cows were fed restricted diets (2 kg grass silage twice daily), thus the daily amount of Ca (12 g) was considerably below the maintenance requirement. This fact could explain the different results compared to the own study. Seven days postpartum, however, the higher renal Ca excretion of cows in Group IV may be because of the significantly lower NABE at the same time (Fig. 8). Several studies with Dietary Cation Anion Difference-based control concepts showed an increase in Ca excretion because of metabolic acidification (TAKAGI and BLOCK 1991; BLOCK 1994; SCHONEVILLE et al. 1994; WON et al. 1996).

The reason for the reduction in NABE of the cows in Group IV in the present study may be caused by the reduced feed intake ante partum. The NABE correlated significantly with the mean DMI ante partum as well as with the fractional excretion of K. Reduced K excretion (Table 5) may be explained as a result of negative energy balance ante partum (FÜRLI et al. 1994; HÖRÜGEL and FÜRLI 1998). Furthermore, these cows showed a considerably increased BHB in serum 7 days postpartum, which may influence the acid-base status. Ketone bodies in very high concentrations lead to an acidification of the urine (SCHLERKA and FILAR 1981).

The zeolite-Ca ratio, calculated as a quotient of the content of zeolite A and Ca in the ration is an important factor to attain a stabilizing effect on Ca metabolism. In the present study, a preventing effect of 71% was observed for the older cows which received a TMR with a zeolite-Ca ratio of 5.6 (Group III). However, different results were found compared to a previous investigation from THILSING-HANSEN et al. (2003). They investigated an effect of doses from 500 to 1000 g zeolite A/day, respectively, on a zeolite-Ca ratio from 5 to 26. In the experimental group with a zeolite-Ca ratio of 5, they found no sufficient effects for reduction of hypocalcaemia (3%). The reason for this difference may be that in the study of THILSING-HANSEN et al. (2003), these cows were kept on pasture and thus the real zeolite-Ca ratio was lower than 5. However, they detected a preventing effect of 62% by a zeolite-Ca ratio of six in cows kept exclusively in the stable, which nearly corresponds with the present study.

Serum Mg was also affected by zeolite A supplementation for older cows (Fig. 5b). This result is in accordance with previous studies with zeolite A supplementation in high doses (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; GRABHERR et al. 2008). The mean serum Mg of cows without zeolite A supplementation increased on the day of calving to the upper limit of the reference range (1.30 mmol/l; KRAFT and DÜRR 1999). RIOND et al. (1995) also observed increased serum Mg in hypocalcaemic cows. It is possible that this effect results from the observed hypocalcaemia. Parathyroid hormone, activated through the hypocalcaemia around calving could be one factor which leads to an increase of Mg in blood (RIOND et al.

1995). The decreased Mg concentration of cows in Group IV on the day of calving could be explained in the significantly reduced Mg intake ante partum (Table 4). The younger cows in Group IV (Fig. 5a) also showed a slight decrease of the mean serum Mg on the day of parturition. Furthermore, the decreased Mg concentration in serum of cows in Group IV could lead to the hypothesis that Mg in gastrointestinal tract was bound on zeolite A to unabsorbable complex in the rumen. One gram zeolite A has a Mg binding capacity of 0.067 g (MUMPTON and FISHMAN 1977; MUMPTON 1999). However, 1 week before the expected date of calving, no differences between the groups were observed. Because the Mg metabolism is less well controlled than Ca (ROSOL and CAPEN 1997), a binding effect would reflect in an earlier decrease in serum Mg. Furthermore, the variation in urinary Mg excretion (Table 5) did not conform to different zeolite A doses. The mean serum Mg as well as the urine Mg stayed within the reference range of 0.75–1.30 mmol/l (KRAFT and DÜRR 1999) and 3–27 % for urinary excretion, respectively, (FÜRL 2005) in all four groups during the entire period. Thus, a negative consequence for the Mg status around calving is not expected by supplementation of zeolite A in the chosen doses.

Phosphorus metabolism was significantly affected by a zeolite A dosage of 43 g/kg DM (Fig. 6a and b). Previous investigations with high zeolite A doses also showed a decreased serum P_i during zeolite A supplementation (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; GRABHERR et al. 2008). ENEMARK et al. (2003b) also found a decreased serum as well as urine P_i for cows receiving zeolite A in high doses in the diet. One factor for reducing serum P_i is a lower intake of dietary P (KICHURA et al. 1982; BARTON et al. 1987). The cows in Group IV had a mean daily P intake of 27.7 g in the last 2 weeks ante partum, which was significantly lower than the P intake of cows in Groups I, II and III (Table 4). However, the supply was in accordance with the recommendations (GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE; GfE, 2001) of a daily requirement of 22 g P in the last 3 weeks of pregnancy. The absorption of P mainly occurs in the small intestine (CARE 1994; GOFF 2000). Several factors like aluminium can influence the absorption negatively because of the formation of non-absorbable complexes with PO_4 (REINHARDT et al. 1988; ROSOL and CAPEN 1997). Zeolite A, which is an aluminium silicate is instable in an acid milieu of pH below 4 (comparable with abomasal pH) and the crystal structure is partially destroyed thus releasing silicic acid, amorphous aluminium silicates and freely available aluminium (COOK et al. 1982). Aluminium has a high-binding affinity to phosphate, which may inhibit an intestinal resorption of phosphate (ALLEN 1984). Although the mean P_i for cows in Group IV was considerably below the lower limit of the reference range (1.25 mmol/l; KRAFT and DÜRR 1999) around parturition, no clinical signs of paresis were observed. In earlier studies with a high zeolite A dosage, the cows also showed hypophosphataemia without clinical symptoms (ENEMARK et al. 2003b; GRABHERR et al. 2008). This result verifies the fact that hypophosphataemia primarily cannot cause clinically apparent symptoms of downer cow syndrome (RADOSTIS et al. 2000; STAUFENBIEL 2002).

Although depressing influences on phosphate metabolism and DMI ante partum in cows were

found in Group IV, feed intake and milk yield in the subsequent lactation were not significantly affected (Table 7). This observation is in accordance with HOLCOMB et al. (2001). They determined that different DMI (8.0 kg vs. 12.4 kg) in the last 3 weeks ante partum did not have an impact on feed intake postpartum. The fact that different zeolite A doses did not affect the FCM and milk composition is in accordance with the previous studies with high zeolite A doses (THILSING-HANSEN et al. 2002; GRABHERR et al. 2008). There also was observed no influence on the milk yield and milk composition in the subsequent lactation, although the cows showed a reduced feed intake and hypophosphataemia ante partum.

Conclusions

In conclusion, a daily amount of 23 g zeolite A/kg DM of TMR and a zeolite-Ca ratio of 5.6 feeding for 2 weeks before calving seems to be an adequate dosage for reducing subclinical hypocalcaemia in older cows. According to the present study, this dosage provided an evidence of a stabilizing effect on Ca metabolism around calving with tolerable decrease of feed intake and a moderate decrease of P_i in serum for cows with a lactation number higher than 3. The preventive effect was 71 %. Zeolite A in very low dosage (12 g/kg DM) and low zeolite-Ca ratio (2.8) did not have any effects on mineral metabolism or on feed intake. An amount of 43 g of zeolite A/kg DM and a zeolite-Ca ratio of 10.5 proved to be an inappropriate dosage, because cows receiving this dosage showed a remarkably reduced feed intake resulting in negative energy balance and a hypophosphataemia.

Acknowledgement

The authors thank the co-workers of the Institute of Animal Nutrition and the Experimental Station of the Federal Agricultural Research Centre in Braunschweig, Germany as well as the laboratory of Faculty of Veterinary Medicine, Large Animal Clinic for Internal Medicine, University of Leipzig for animal care and performance of laboratory analyses.

References

- Allen VG. Influence of dietary aluminium on nutrient utilization in ruminants. *J Anim Sci.* 1984; 59: 836–46.
- Barton BA, Jorgensen NA, DeLuca HF. Impact of prepartum dietary phosphorus intake on calcium homeostasis at parturition. *J Dairy Sci.* 1987; 70: 1186-91.
- Beyer M, Chudy A, Hoffmann L, Jentsch W, Laube W, Nehring K, Schiemann R (ed.). Rostock feed evaluation system. Reference numbers of feed value and requirement on the base of net energy. Frankfurt: Plexus Verlag; 2003.
- Block E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 1437-50.

Boda JM, Cole HH. The influence of dietary calcium and phosphorus on the incidence of milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 1954; 37: 360-71.

Care AD. The absorption of phosphate from the digestive tract of ruminant animals. *Br Vet J.* 1994; 150: 197-205.

Chan PS, West JW, Bernard JK. Effekt of prepartum dietary calcium on intake and serum and urinary mineral concentration of cows. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 704-13.

Cook TE, Cilley WA, Savitsky AC, Wiers BH. Zeolite A hydrolysis and degradation. *Environ Sci Technol.* 1982; 16: 344-50.

DesCoteaux L, Krainock R, Lissemore K. Evaluation of new diagnostic tests to predict hypocalcemia in mature dairy cows. *Bovine Pract.* 1997; 30: 186-7.

Drackley JK. Transition cow management and periparturient metabolic disorders. In: Recent developments and perspectives in bovine medicine. Kaske M, Scholz H, Höltershinken M (Hrsg). Keynote Lectures. Hannover: 18-23.08.2002; Hildesheimer Druck- und Verlags-GmbH; pp. 224-33.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Wiebster G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 1989; 72: 68-78.

Enemark JMD, Kirketerp CN, Jørgensen RJ. Effect of prepartum zeolite A supplementation on renal calcium excretion in dairy cows around calving and evaluation of a field test kit for monitoring it. *Acta Vet Scand.* 2003a; 97: 119-36.

Enemark JMD, Spangaard Frandsen AM, Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ. Aspects of physiological effects of sodium zeolite A supplementation in dry, non-pregnant dairy cows fed grass silage. *Acta Vet Scand.* 2003b; 97: 97-117.

Fürll M. Eine Herausforderung für den Tierarzt: Das Fettmobilisationssyndrom. *Großtierpraxis.* 2000; 11: 24-34.

Fürll M. Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Kraft W, Dürr UM (eds.). 6. edn. Stuttgart, New York: Schattauer-Verlag; 2005. pp. 444-71.

Fürll M, Eckermann W, Amin M. Säure-Basen- und Mineralstoff-Haushalt bei gesunden Kühen im geburtsnahen Zeitraum. *Tierärztl Umschau.* 1994; 49: 107-15.

Gartner RJW, Murphy GM, Hoey WA. Effects of induced, subclinical phosphorus deficiency on feed intake and growth in heifers. *J Agric Sci.* 1982; 98: 23–9.

Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Roh Nährstoffen an Wiederkäuern. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 1991; 65: 229–34.

Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder Nr. 8 Frankfurt am Main: DLG-Verlag; 2001.

Goering HJ, Van Soest PJ. Forage fibre analysis. (Apparatus, reagents, procedure and some applications). *Agr Res Service Agr. Handbook No.379*, Washington; 1970.

Goff JP. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2000; 16: 319-37.

Goings RL, Jacobson NL, Beitz DC, Littledike ET, Wiggers KD. Prevention of parturient paresis by a prepartum, calcium-deficient diet. *J Dairy Sci.* 1974; 57: 1184-8.

Grabherr H, Spolders M, Flachowsky G, Fürll M. Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme von trockenstehenden Milchkühen, auf den Mengen- und Spurenelementstoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie auf die Milchleistung in der folgenden Laktation. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.* 2008; 121: 41–52.

Green HB, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET. Vitamin D metabolites in plasma of cows fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. *J Dairy Sci.* 1981; 64: 217-26.

Grummer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci.* 1995; 73: 2820-33.

Hartmann H, Bandt C, Glatzel PS. Einfluss wechselnder oraler Mineralstoffzufuhr auf Nierenfunktionen einschließlich renaler fraktioneller Exkretion von Ca, Mg und Phosphat bei Kühen. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.* 2001; 77: 73–76.

Holcomb CS, Van Horn HH, Head HH, Hall MB, Wilcox CJ.: Effects of prepartum dry matter intake and forage percentage on postpartum performance of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2001; 84: 2051–8.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 1936-51.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 1997; 80: 1269-80.

Hörügel U, Fürll M. Untersuchungen zur Früherkennung der Gebärparesegefährdung bei Kühen. *Prakt Tierarzt. Coll Vet XXVIII*; 1998; 86–92.

Houe H, Østergard S, Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Larsen T, Sørensen JT, Agger JF, Blom JY. Milk fever and subclinical hypocalcaemia – An evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta vet Scand.* 2001; 42: 1-29.

Johnson MA, Sweeney TF, Muller LD. Effects of feeding synthetic zeolite A and sodium bicarbonate on milk production nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1988; 71: 946-53.

Kichura TS, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET. Relationship between Peripartal Dietary Calcium and Phosphorus, Vitamin D Metabolism, and Parturient Paresis in Dairy Cows. *J Nutr.* 1982; 112: 480-7.

Kincaid RL, Hillers JK, Cronrath JD. Calcium and phosphorus supplementation of rations for lactating cows. *J Dairy Sci.* 1981; 64: 754-8.

Kraft W, Dürr UM (eds.). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.* 5. edn. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag; 1999.

Kutas F. Determination of Net Acid-Base Excretion in the Urine of Cattle. *Acta Vet Acad Sci Hung.* 1965; 15: 147-53.

Lachmann G. Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der alimentären metabolischen Azidose des Rindes. [Habilschr. med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig, Sektion Tierprod u Veterinärmed. 1981.

Moore SJ, Vandehaar MJ, Sharma BK, Pilbeam TE, Beede DK, Bulcholtz HF, Liesman JS, Horst RL, Goff JP. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. *J Dairy Sci.* 2000; 83: 2095–104.

Mumpton, FA. La Roca magica: Uses of natural zeolites in agriculture and industry. *Proceedings Natl Acad Sci. USA* 96. 1999. pp. 3463–70.

Mumpton FA, Fishman PH. The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *J Anim. Sci.* 1977; 45: 1188–203.

Peterson AB, Orth MW, Goff JP, Beede DK. Periparturient responses of multiparous holstein cows fed different dietary phosphorus concentrations prepartum. *J Dairy Sci.* 2005; 88: 3582-94.

Radostits OM, Gay CG, Blood DC, Hinchcliff KW. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.* 9. Aufl. London: Verlag Saunders WB; 2000. 1420-35.

Reinhardt TA, Horst RL, Goff JP. Calcium, Phosphorus and Magnesium Homeostasis in Ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1988; 4: 331-50.

Riond JL, Kocabagli N, Spichiger UE, Wanner M. The concentration of ionized magnesium in serum during the periparturient period of non-paretic dairy cows. *Vet Res Comm.* 1995; 19:195-203.

Rosol TJ, Capen CC. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism In: *Clinical biochemistry of domestic animals*, Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (Hrg.), 5. Aufl. San Diego: Academic Press; 1997 pp. 619-702.

Schlerka G, Filar J. Der Einfluss einer experimentell ausgelösten Ketose auf das klinische Bild, den Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt, den Ketonkörpergehalt sowie auf zellige Bestandteile im Blut bei Kühen. *Wien Tierärztl Monatsschr.* 1981; 68: 436-41.

Schoneville JT, Van't Klooster AT, Dirkzwager A, Beynen AC. Stimulatory effect of an anion (chloride) – rich on apparent calcium absorption in dairy cows. *Livest Prod Sci.* 1994; 40: 233-40.

Semmens MJ. Cation-exchange properties of natural zeolites. In: *Zeo-Agriculture. Use of Natural Zeolites in Agriculture and Aquaculture.* Pond WG, Mumpton FA (eds). 1. ed. Colorado: Westview Press. Boulder; 1984; pp. 45–53.

Shappell NW, Herbein JH, Deftos LJ, Aiello RJ. Effects of dietary calcium and age on parathyroid hormone, calcitonin, and serum and milk minerals in the periparturient dairy cow. *J Nutr.* 1987; 117: 201–7.

Staufenbiel R. Gebärparese des Rindes. Neue Aspekte zum klinischen Bild und zur Therapie. *Vet-Med Report* 26, Sonderausg. 2002; V6: 12.

Takagi H, Block E. Effects of reducing dietary cation-anion balance on calcium kinetics in sheep. *J Dairy Sci.* 1991; 74: 4225–37.

Thilsing T, Jørgensen RJ, Poulsen HD. In vitro binding capacity of zeolite A to calcium, phosphorus and magnesium in rumen fluid as influenced by changes in pH. *J Vet Med A.* 2006; 53: 57-64.

Thilsing T, Larsen T, Jørgensen RJ, Houe H. The effect of dietary calcium and phosphorus supplementation in zeolite A treated cows on periparturient calcium and phosphorus homeostasis. *J Vet Med A.* 2007; 54: 82-91.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ. Hot topic: Prevention of parturient paresis and subclinical hypocalcaemia in dairy cows by zeolite A administration in the dry period. *J Dairy Sci.* 2001; 84: 691-3.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Larsen T. The effect of zeolite A supplementation in the dry period on periparturient calcium, phosphorus and magnesium homeostasis. *J Dairy Sci.* 2002; 85: 1855-62.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Zelvyte R, Sederevicius A. The effect of zeolite A supplementation in the dry period on blood mineral status around calving. *Acta vet Scand.* 2003; 97: 87-95.

VDLUFA. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, Methodenbuch III Darmstadt: VDLUFA-Verlag; 2004.

Wan Zahari M, Thompson JK, Scott D, Buchan W. The dietary Requirements of calcium and phosphorus for growing lambs. *Anim Prod.* 1990; 50: 301-7.

Wiggers KD, Nelson DK, Jacobsen NL. Prevention of parturient paresis by a low-calcium diet prepartum: A field study. *J Dairy Sci.* 1975; 58: 430-1.

Won JH, Oishi N, Kawamura T, Sugiwaka T, Fukuda S, Sato R, Naito Y. Mineral metabolism in plasma, urine and bone of periparturient cows fed anionic diets with different calcium and phosphorus content. *J Vet Med Sci.* 1996; 58: 1187–92.

3.1.3 Effect of several doses of zeolite A on rumen fermentation and phosphorus metabolism in dairy cows

Hilde Grabherr¹, Markus Spolders¹, Peter Lebzien¹, Liane Hüther¹, Gerhard Flachowsky¹, Manfred Fürll² and Manfred Grün³

¹ Institute of Animal Nutrition, Friedrich Loeffler Institute (FLI), Research Institute of Animal Health, Braunschweig, Germany, and

² Faculty of Veterinary Medicine, Large Animal Clinic for Internal Medicine, University of Leipzig, Leipzig, Germany

³ Food GmbH Jena Analytic-Consulting, Orlaweg 2, 07743 Jena, Germany

Archives of Animal Nutrition: in press

Abstract

The aim of the present study was to determine the effect of zeolite A on several physiological parameters and on mineral metabolism in the rumino-intestinal-tract of cows. Eight double fistulated (rumen and proximal duodenum) cows were fed maize silage, grass silage and concentrate. Several doses of zeolite A (0, 10 and 20 g/kg dry matter) were added to the ration over a period of three weeks. The daily feed amounts were adjusted to the current performance and varied between 3.9 and 15.9 kg/day. Rumen fluid, duodenal chyme and faeces were sampled to characterise the digestibility of several nutrients, especially mineral elements. Blood samples were taken to analyse the concentration of inorganic phosphate. Zeolite A supplementation led to a significantly reduced ruminal digestibility of dry matter (DM) and fermentation of organic matter. The molar proportions of acetate in the rumen increased and propionate as well as valerate decreased significantly after zeolite A supplementation. The concentration of the total fatty acids was not affected by zeolite A supplementation. Rumen pH did not change by zeolite A feeding. No effect on faecal digestion of DM and OM was observed. Calcium and magnesium digestion was not influenced. Otherwise the phosphorus concentration in rumen fluid correlated negatively with the mean zeolite A intake ($r^2 = 0.75$; $p = 0.0003$). Further the faecal excretion of phosphorus increased significantly for cows with the highest zeolite A dosage (36.9 g/day) compared to the control group (29.9 g/day). The lower digestibility of phosphorus resulted in a significantly decreased concentration of inorganic phosphorus (P_i) in serum from a basal value of 2.05 mmol/l to 1.16 mmol/l six days after starting zeolite A supplementation. The zeolite A treated cows showed a significantly higher aluminium (Al) concentration already in rumen fluid (14.31 and 13.84 mmol/l) compared to the control cows (6.33 mmol/l). The Al flow in the duodenum was also higher for zeolite A treated cows. Further a numerically higher Al concentration in the serum was observed for zeolite A supplemented cows on Day 7, which correlated negatively with the mean P_i -concentration in the serum.

Keywords: Zeolite A, dairy cow, rumen fermentation, digestion, phosphorus metabolism

1. Introduction

Feeding zeolite A as a calcium binder in the last weeks of pregnancy is a new strategy in preventing parturient hypocalcemia. Several studies have shown a positive effect on calcium metabolism around parturition (THILSING-HANSEN and JØRGENSEN 2001, THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; GRABHERR et al. 2008, 2009), while phosphorus metabolism may be negatively affected. Cows with a zeolite A supplementation in doses higher than 300 g/day showed a hypophosphatemia (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; ENEMARK et al. 2003; PALLESEN et al. 2007; GRABHERR et al. 2008, 2009). An addition of zeolite A to rumen fluid *in vitro* led to a decrease of supernatant phosphorus concentration after acidification with hydrochloric acid (THILSING et al. 2006). At acid pH, zeolite A may be destroyed releasing silicic acid, amorphous aluminium silicate and aluminium (COOK et al. 1982). The released aluminium (Al) is able to bind intestinal inorganic phosphate (P_i) to a non

absorbable compound (ALLEN 1984). According to the mentioned *in vitro* studies (COOK et al. 1982; THILSING et al. 2006) it was assumed that this mechanism occurs in the intestine after degradation of zeolite A in the abomasum at low pH. However, no information exists about the exact mechanism under *in vivo* conditions. The effect of zeolite A supplementation on nutrient digestibility was researched in an earlier study by JOHNSON et al. (1988). They observed a decreased digestibility of the forage after feeding a total mixed ration containing 2 % zeolite A. Another study with an addition of 5 % clinoptilolite, a natural zeolite, to the ration for Holstein steers and heifers, also showed a reduced dry matter (DM) digestibility (SWEENEY et al. 1984). The aim of this study was to investigate the mechanism of zeolite A in the gastrointestinal tract focused on release of Al and on the influence of mineral metabolism. Further, an influence of zeolite A on the digestibility of the forage was investigated. The chosen doses were based on a recent study with dry pregnant cows (GRABHERR et al. 2009) in which a dose of 23 g/kg DM was found to prevent parturient hypocalcemia with tolerable side effects such as reduced feed intake and decrease of P_i in serum.

2. Materials and methods

2.1. Cows and experimental design

The experimental study was conducted from October to December 2005 with a total of 8 German Holstein cows. The cows were prepared with large rubber cannulas (inner diameter: 10 cm) in the dorsal sac of rumen and simple T-shaped plastic cannulas (inner diameter: 2 cm) in the proximal duodenum. The cows were in the second and third lactation and they had a mean body weight of 612 ± 108 kg. The mean milk yield of the lactating cows was 19.8 ± 1.8 kg/d. The experiment involved an incomplete 3 x 3 Latin square design in three periods with 2 dry non pregnant and 4 lactating cows in each period. The experimental design was arranged by several zeolite A doses (0 g/kg DM = group C, 10 g/kg DM = group Z1 and 20 g/kg DM = group Z2). On the one hand the influence of zeolite A as fixed concentration on the other hand a great variation of zeolite A intake was to observe on several parameters. Therefore cows in several lactation stages with different DM requirements and additionally two dry cows with very low DM requirements were chosen. Two cows were dried off after the second period and were substituted by two cows in early lactation in the third period. Because zeolite A has a calcium binding effect and a negative influence on P metabolism and further in previous studies (Grabherr et al. 2008, 2009) a reduced DMI was observed after zeolite A supplementation, the risk for developing milk fever and ketosis was too high for the cows in early lactation. Thus these cows were used as control cows. Therefore two cows in the mid (group Z1) and late lactation (group Z2) had to be used twice at the same treatment. The cows were kept in a tethered-stall with neck straps. The lactating cows were milked twice daily. Roughage and concentrate were offered in an individual trough for each cow. They had free access to water and to a salt block containing sodium chloride. The cows were fed a mixture of 60 % maize silage and 40 % grass silage on dry matter basis and concentrate. The daily amount of roughage was adjusted to the individual total dry matter intake of each cow in

the previous two weeks before experimental start in order to avoid refusals. The concentrate portion was 0.5 kg per additional kg of milk for the lactating cows. The dry cows received concentrate according to their maintenance. Roughage was offered twice daily at 5:30 and 15:00 h. The concentrate was given in four meals at 6:00, 7:30, 15:30 and 17:30 h. The composition of the concentrate is shown in Table 1 and the chemical composition of the feedstuffs in Table 2.

Table 1: Composition of the concentrate

Components	Content (%)
Soy bean meal	19.0
Barley	37.4
Wheat	37.4
Soy bean oil	2.0
Dicalciumphosphate	1,5
Salt for cattle	0.7
Premix ¹	2

¹Composition of premix (per kg): 250 g Ca, 50 g P, 90 g Na, 25 g Mg, 1.000.000 IU vitamin A, 100.000 IU vitamin D₃, 4000 mg vitamin E, 1250 mg β-Carotene, 4500 mg Zn, 2000 mg Mn, 700 mg Cu, 60 mg I, 10 mg Se, 20 mg Co

Table 2: Chemical composition of the feedstuffs

Feedstuff	Content	
	concentrate	maize/grass silage
Dry matter (%)	87.4	32.2
Nutrients (g/kg DM)		
Organic matter	929.4	927.2
Crude ash	70.6	72.8
Crude protein	183.3	101.7
Crude fat	50.0	29.1
Crude fibre	55.4	262.5
N-free-extract	640.7	533.8
ADF	58.2	277.9
NDF	155.7	516.8
Energy (MJ/kg DM)		
ME	13.0	10.3
NEL	8.2	6.2
Mineral components (g/kg DM)		
Calcium	11.5	3.6
Magnesium	2.3	1.8
Phosphorus	5.3	2.6
Aluminium (mg/kg DM)	210	250

The used zeolite A was a powdered synthetic sodium-aluminium silicate ($\text{Na}_{12}\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48} \times 27 \text{H}_2\text{O}$), type A4 (IMPAG GmbH, D-63071 Offenbach, Germany). Chemical and physical properties of this substance are listed in Table 3.

Table 3: Chemical and physical properties of zeolite A

Chemical formula: $\text{Na}_{12}\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48} \times 27 \text{H}_2\text{O}$	
Na_2O	$18 \pm 1 \%$
Al_2O_3	$28 \pm 1 \%$
Si O_3	$32 \pm 1 \%$
H_2O	$20 \pm 1 \%$
Solids content:	$80 \pm 2 \%$
pH (5 % suspension)	11.5 ± 0.5
Capability for Ca-binding (CaO-waterfree)	$> 160 \text{ mg/g}$

2.2. Sampling and measurements

Each period consisted of three weeks, divided into two weeks for adaptation to the diet and one week for duodenal (5 days) and ruminal (1 day) sample collection. Samples of the offered feedstuffs and feed refusals during the week of ingesta sampling were collected daily, weighted, pooled, dried at 60°C and ground to 1 mm for chemical analysis. Blood samples were taken from the jugular vein in serum tubes daily at 11:30 h on the first 7 days of experimental feeding. Serum was separated by centrifugation at 3000 g and 15°C for 10 min and afterwards frozen at -19°C until analysis.

To estimate the duodenal flow of nutrients and minerals, 100 g chromium oxide (Cr_2O_3) marker were given into the rumen per day. Ten days before the beginning of duodenal sample collection, the marker was given in two portions of 50 g each every 12 hours, and one day before and during the sample collection period in four portions of 25 g every six hours. Ingesta samples were taken through the duodenal cannula every two hours over five days. Four bottles of 100 ml duodenal ingesta each were taken per sampling time. In all ingesta samples pH was measured immediately after the collection using a glass electrode (digital pH measurement device, pH 525, WTW). The sample with the lowest pH was pooled daily as described by ROHR et al. (1984) and frozen at -19°C . Rumen fluid for $\text{NH}_3\text{-N}$ and short chain fatty acid analyses was sampled at 7 times on the last day of the period via the rumen fistula (before feeding at 5:30, and again 30, 60, 90, 120, 180 and 300 minutes after start of feeding), using a hand vacuum pump and pH was measured immediately after the collection in the same way as duodenal ingesta. One hundred ml of rumen fluid from each sampling time were pooled for measurement of minerals and frozen at -19°C until analyses. Spot samples of faeces were taken on the last day of each period. Samples of duodenal ingesta were freeze-dried and ground to 1 mm for chemical analysis, except 250 ml of each sampling day, which were kept for analyses for soluble mineral elements. Faeces were also dried and ground to 1 mm for chemical analyses.

2.3. Analyses

The feedstuffs were analysed for dry matter (DM), crude ash (XA), crude protein (XP), crude fat (XL) and crude fibre (XF) according to the directive of the VDLUFA (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, 2004, Methodenbuch III) in the laboratory of the Institute of Animal Nutrition, Federal Research Institute for Animal Health (FLI) in Braunschweig. The analyses of the acid and neutral detergent fiber (ADF, NDF) were conducted according to GOERING and VAN SOEST (1970). For calculation of energy (ME, NEL), the digestibility of the feedstuffs was determined in a standardized balance experiment with four adult wethers as defined by the German Society of Nutrition Physiology (GfE 1991). The content of calcium, magnesium, and phosphorus was measured in the maize silage, grass silage, and concentrate according to the directive of the VDLUFA (No 10.6.1, modified, 2004). Furthermore, the feedstuffs, zeolite A, and the Cr₂O₃ marker were determined for Al content in the laboratory of the Analytic Consulting Food GmbH in Jena. The material was incubated in a microwave oven according to the directive L00.00-19-1 (§ 35 LMBG: 2003-12). Afterwards the Al was measured by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) according to the directive DIN 17294-2. To estimate the daily ingesta flow, Cr₂O₃ was determined in markers and in duodenal chyme using Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) according to WILLIAMS et al. (1962). Microbial protein was determined using Near Infrared Spectroscopy (NIRS) according to LEBZIEN and PAUL (1997). Nitrogen (N) was determined via the Kjeldahl method. For ADF and NDF analyses, aliquots were pooled from each day. The analyses were performed with the same method as used in feedstuffs.

Rumen fluid was analysed for ammonia-N according to DIN 38406-E5-2 (1998) and short chain fatty acids (SCFA) using a gas chromatograph (Hewlett Packard 5580, Avondale, PA, USA) with a flame ionisation detector according to GEISSLER et al. (1976).

Soluble Al, Ca, Mg and P were analysed in the liquid phase of duodenal ingesta as well as in rumen fluid. For this purpose the chyme was centrifugated at 14000 g for 30 min at 15°C. The supernatant medium was measured by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES; GBC Integra XM, Australia).

For estimation of the faecal excretion of total Ca, Mg and P, and the total apparent digestibility, the dried faeces were analysed for crude ash, crude protein and mineral content in the same way as the feedstuffs.

Serum inorganic phosphate (P_i) was analysed with the Roche/Hitachi 912 Automatic Analyser (Roche Diagnostics GmbH Mannheim) in the laboratory of the Large Animal Clinic for Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig. Serum aluminium concentration was determined by ICP-MS according to the directive DIN 17294-2 in the laboratory of Analytic Consulting Food GmbH, Jena.

2.4. Calculations and statistics

ME [MJ] in the feedstuffs was calculated using the results of the wether balance experiment as described by the GfE (2001):

ME [MJ] = 0.0312 * g DXL + 0.0136 * g DXF + 0.0147 * g (DOM – DXL – DXF) + 0.00234 * g XP.

The dry matter flow (DMF) was calculated using the following formula:

$$\text{DMF [kg/day]} = \frac{\text{chromium application (mg/d)}}{\text{duodenal chromium concentration (mg/g DM)}} / 1000$$

The daily flow of organic matter (OM), nutrients and mineral elements was calculated by the multiplication of the concentration in chyme and the DMF.

The proportion of microbial N of non-ammonia N (NAN) at the duodenum was estimated with NIRS. It was multiplied by the NAN flow to get the flow of microbial N and microbial protein (N x 6.25). A total of 5 % of the duodenal total N was supposed to be ammonia N (RIEMEIER 2004). The NAN was calculated by subtracting ammonia N from total N at the duodenum. The ruminally fermented organic matter (FOM) was estimated by the formula:

FOM (kg/d) = kg OM intake/d – (kg duodenal OM flow/d – kg microbial OM/d), where microbial OM = 11.8 x microbial N (SCHAFFT 1983).

The utilizable crude protein (uCP) at the duodenum was calculated as described by LEBZIEN and VOIGT (1999):

uCP (g/d) = g crude protein flow at the duodenum/d – g endogenous protein (EP)/d, where EP (g/d) = g endogenous N (EN) x 6.25 and EN = 3.6 x kg DM flow at the duodenum (BRANDT and ROHR 1981).

The ruminally undegradable crude protein (UDP) was calculated by the following formula:

$$\text{UDP} = 6.25 \times [\text{g NAN at the duodenum} - (\text{g microbial N} + \text{g EN})].$$

Because an additional sampling of faeces was decided after stopping marker input, the excretion of dry matter and minerals were calculated by evaluating the digestibility of organic matter according to LUKAS et al. (2005) with the formula:

$Y = a - 107.7e^{(-0.01515 * x)}$, where Y is the digestibility (%) of organic matter, a is a constant factor for pooled data from Hohenheim and Braunschweig, and x is crude protein (g/kg organic matter).

Afterwards the dry matter and organic matter (OM) excretion (excr.) were calculated as follows:

$$\text{OM excr. (kg/d)} = \text{kg OM intake/d} - (\text{kg OM intake/d} \times Y/100)$$

$$\text{DM excr. (kg/d)} = \text{kg OM excr./d} / (\% \text{ OM in faecal dry matter}/100).$$

The faecal excretion of Ca, Mg and P was calculated by multiplication the concentrations in faeces with the DM excretion.

The statistical analyses were conducted using the software package SAS (SAS Institute Inc. 2003, Version 9.1; procedure mixed). Fixed effects were “ZEOLITE” (for C, Z1 and Z2). The effect of repeated measurements within the same cow was considered as the random effect. Data were analysed according to the restricted maximum likelihood (REML) method for random effect variances and the Kenward-Roger-method for calculation of degrees of freedom implemented, using the mixed procedure. For the analyses of pH, NH₃-N, and SCFA the time after feeding was considered as an additional fixed effect. For mineral elements the

model was used without DMI as covariable. For the estimation of serum parameters P₁ and Al the day of sampling was considered as a fixed effect.

Significant differences between the groups were tested by “PDIFF e ADJUST=Tukey”.

3. Results

3.1. Animals and feeding

No mentionable influence of zeolite addition on animal health was observed during the experimental periods. The mean intake of dry matter and zeolite A, as well as of calcium, magnesium, phosphorus and aluminium for the week of ingesta sampling is shown in Table 4. The cows had a wide range in feed intake because of different performances of the individual cows. The daily feed intake ranged between 3.9 and 14.7 kg DM for cows of group C, 3.9 and 15.5 kg DM for cows of group Z1, and 3.9 and 15.3 kg DM for cows of group Z2. Due to the different zeolite A supplementation for the three groups, the mean total Al intake increased significantly for group Z1 and Z2. The measured Al content in 100 g zeolite A was 13.7 g.

Table 4: Intake of dry matter, zeolite A, mineral elements and aluminium during experimental feeding

	Cow number	Dry matter (kg/day)	Zeolite A (g/day)	Calcium (g/day)	Magnesium (g/day)	Phosphorus (g/day)	Aluminium ¹ (g/day)
Group C	1	3.9	-	23.8	7.6	14.4	1.6
	2	7.3	-	44.2	13.7	26.2	1.0
	6	13.6	-	83.2	26.6	50.5	5.4
	7	13.8	-	108.9	31.4	50.8	2.7
	8	14.7	-	114.3	33.2	53.5	2.8
	4	14.7	-	89.3	27.5	52.8	2.0
Lsmeans		12.0	-	76.6	23.1	41.0	2.4^a
Group Z1	1	3.9	38	30.3	8.7	14.1	6.0
	2	7.6	72	46.2	14.7	28.0	12.9
	3	13.0	126	77.0	23.9	45.6	19.0
	4'	13.7	132	107.0	30.8	50.0	20.8
	5	14.7	144	87.8	27.2	52.0	21.7
	4	15.5	148	94.3	30.1	57.2	26.4
Lsmeans		12.0	107^a	72.7	22.3	40.6	17.6^b
Group Z2	1	3.9	74	22.8	7.1	13.5	10.7
	2	7.6	144	58.9	17.0	27.5	21.3
	3'	12.7	240	98.0	28.2	45.7	35.4
	3	13.0	240	79.2	25.1	47.9	38.0
	6	13.4	260	79.3	24.5	46.9	37.4
	5	15.3	288	91.9	29.3	55.7	45.4
Lsmeans		12.0	211^b	73.4	22.4	40.5	31.8^c

¹Total Al from feedstuffs, zeolite A (13.7 g Al /100 g) and chromium oxide marker (0.09 g/100 g).

a, b, c; p < 0.05. 3' and 4' are repetitions with the same cows for the same group in different periods

3.2. Rumen parameters

No significant influence of zeolite A supplementation was observed for ruminal pH (Figure 1). The mean pH decreased for all three groups by increased SCFA concentration from a mean value of 7 to about 6 until 180 minutes after feeding.

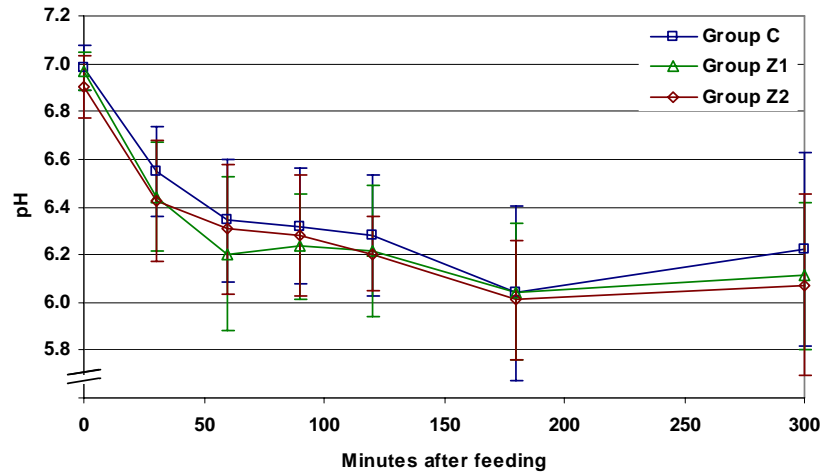


Figure 1: Mean pH in rumen fluid (\pm standard derivation) at different time after feeding

The total SCFA concentration was also not significantly affected by zeolite A supplementation. The mean concentration increased until 180 minutes after feeding from 61.4 (group C), 65.5 (group Z2) and 71.9 mmol/l (group Z1) up to 97.9, 102.7 and 104.0 mmol/l respectively and stayed on this level until 300 minutes.

Table 5 shows the molar proportion of short chain fatty acids. Acetate, propionate and valerate in rumen fluid were significantly affected by zeolite A supplementation. The molar proportion of acetate was significantly higher for cows in group Z1 as well as in group Z2 compared to group C ($p = 0.0003$). On the other hand the molar proportions of propionate were significantly lower for group Z1 and Z2 compared to cows without zeolite A supplementation ($p = 0.0006$). Hence the Acetate:Propionate ratio of cows with zeolite addition (Z1 and Z2) was significantly higher compared to the unsupplemented cows of group C. The ratios over all sampling times (lsmeans) were 3.5 (C), 3.9 (Z1) and 4.1 (Z2). The molar proportion of valerate was also influenced by zeolite A supplementation ($p = 0.0233$), however only for cows of group Z2. The proportions over all sampling times were significantly lower for these cows compared to the control group. No significant influences of zeolite A supplementation were observed for the molar proportions of butyrate and iso-fatty acids (Table 5).

The cows of group Z2 numerically showed the highest mean (lsmeans) ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration over all sampling times, followed by cows of group Z1, whereas the cows of the control group had the lowest $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration (Table 5). However this observation was not significant.

Table 5: Molar proportions (Mol %) of short chain fatty acids and NH₃-N concentrations (mmol/l) in rumen fluid and duodenal flow and faecal excretion of several nutrients in relation to the dry matter intake (lsmeans \pm standard error): C = 0 g zeolite A/kg DM; Z1 = 10 g zeolite A/kg DM; Z2 = 20 g zeolite A/kg DM

	Groups			¹ Fixed effects (p)	
	C	Z1	Z2	zeolite	DMI
Rumen					
Acetate	63.0 ^a \pm 0.9	65.5 ^b \pm 1.0	66.5 ^b \pm 1.0	0.0003	0.0203
Propionate	18.8 ^b \pm 0.5	17.4 ^a \pm 0.5	16.4 ^a \pm 0.5	0.0006	0.0237
Butyrate	14.0 \pm 0.6	13.3 \pm 0.6	13.5 \pm 0.6	> 0.1	0.0462
Valerate	1.9 ^b \pm 0.3	1.6 ^{ab} \pm 0.3	1.3 ^a \pm 0.3	0.0233	> 0.1
Isofatty acids	1.2 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	> 0.1	> 0.1
NH ₃ -N	6.9 \pm 0.8	7.8 \pm 0.8	8.1 \pm	> 0.1	> 0.1
Duodenum					
DM (kg/d)	6.3 ^a \pm 0.2	6.7 ^{ab} \pm 0.2	6.8 ^b \pm 0.2	0.0177	< 0.0001
Ruminal digested DM (% of intake)	45.4 ^b \pm 1.5	41.3 ^a \pm 1.5	39.6 ^a \pm 1.5	0.008	0.063
FOM (% of intake)	66.2 ^b \pm 1.1	63.2 ^a \pm 1.1	61.4 ^a \pm 1.1	0.001	0.0166
ADF (% of intake)	51.52 \pm 3.9	54.4 \pm 4.1	55.1 \pm 4.1	> 0.1	> 0.1
NDF (% of intake)	44.8 \pm 2.9	46.5 \pm 3.0	48.4 \pm 3.0	> 0.1	0.0714
Non-ammonia-N (NAN; g/d)	189.0 \pm 12.1	177.5 \pm 12.8	174.7 \pm 12.8	> 0.1	0.0004
Microbial protein (g/d)	785.4 \pm 60.9	752.1 \pm 64.2	713.2 \pm 64.0	> 0.1	0.0009
Degraded feed protein (% of intake)	85.8 \pm 1.6	86.5 \pm 1.7	85.1 \pm 1.7	> 0.1	0.0466
Efficiency of microbial protein synthesis (g/kg FOM)	110.0 \pm 7.5	112.6 \pm 7.9	112.6 \pm 7.9	> 0.1	> 0.1
Faeces					
DM (kg/d)	3.7 \pm 0.1	3.6 \pm 0.1	3.6 \pm 0.1	> 0.1	0.0003
% DM-Digestion	67.5 \pm 0.9	67.9 \pm 1.0	67.4 \pm 1.0	> 0.1	> 0.1
OM (kg /d)	3.2 \pm 0.1	3.0 \pm 0.1	2.9 \pm 0.1	> 0.1	0.0001
% OM-Digestion	70.0 \pm 0.9	71.3 \pm 1.0	71.4 \pm 1.0	> 0.1	> 0.1
CP (g/d)	488.8 \pm 10.6	478.4 \pm 10.6	479.2 \pm 10.6	> 0.1	< 0.0001
% CP-Digestion	66.6 \pm 0.7	67.1 \pm 0.7	66.9 \pm 0.7	> 0.1	0.0149

¹Probability under H₀ that a F-distributed random variable exceeds observed F. for zeolite and for dry matter intake (DMI). a < b between groups; p < 0.05

3.3. Passage of nutrients at the duodenum and the faecal excretion

The flow and apparent ruminal digestibility of DM and OM as well as the ruminal fermented OM (FOM) in the duodenum are listed in Table 5. Zeolite A supplementation caused a significantly reduced ruminal digestibility of the dry matter for cows of group Z2 as well as for group Z1 compared to the control group (p = 0.0028), which resulted in a significantly increased DM flow at the duodenum for cows of group Z2 (p = 0.0177). Whereas the mean

(LSmeans) apparent ruminal DM digestibility was 45.4 % for cows without zeolite A supplementation, it was 40.7 and 38.5 % for cows of groups Z1 and Z2. Furthermore, the apparent rumen digestibility of the DM tended to be affected by DMI ($p = 0.0635$). The DM flow at the duodenum correlated significantly with the DMI ($r^2 = 0.96$; $p < 0.0001$). The FOM was also influenced by zeolite A supplementation ($p = 0.001$). The FOM in cows of groups Z1 (63.2 %) and Z2 (61.4 %) was significantly lower compared to the FOM in cows of the control group (66.2 %). The flow of NAN and microbial protein at the duodenum were numerically lower for zeolite A supplemented cows, especially for group Z2 (174.7 g NAN/day and 713.2 g MP/day) compared to the control cows (189.0 g NAN/day and 785.4 g MP/day; Table 5). However these differences were not significant. The other parameters were not affected by zeolite A supplementation. NDF flow tended to be reduced ($p < 0.1$) and NAN, microbial protein and degraded feed protein were significantly ($p < 0.05$) reduced by increased DMI. Faecal excretion of DM, OM and XP were not influenced by zeolite A supplementation (Table 5).

3.4. Ruminal and intestinal metabolism of calcium, magnesium, phosphorus and aluminium

Cows with a zeolite A supplementation of 20 g/kg DM (group Z2) showed the lowest concentration for soluble Ca, Mg, and P in rumen fluid (Table 6). However the differences between the groups are not significant. Otherwise the soluble P in the rumen fluid correlated negatively with the zeolite A intake of cows in the experimental groups ($r^2 = 0.75$; $p = 0.0003$). The concentration of soluble Al in rumen fluid increased significantly by Zeolite A supplementation ($p = 0.0041$). Whereas the mean Al concentration for the control cows was only 6.3 $\mu\text{mol/l}$, the mean concentration for zeolite A treated cows was considerably higher (Z1 14.3 $\mu\text{mol/l}$, Z2 13.8 $\mu\text{mol/l}$).

Zeolite A supplementation did not significantly affect the flow of soluble Ca and Mg at the duodenum (Table 6). According to the rumen concentration the cows with a zeolite A supplementation of 20 g/kg DM (group Z2) showed a numerically lower flow of soluble P at the duodenum (Table 6). No significant relation between the flow of soluble P at the duodenum and the mean zeolite A intake was observed. In contrast to the rumen results, the flow of soluble P at the duodenum did not correlate with the mean zeolite A intake. Otherwise the flow of soluble Al was significantly higher for groups Z1 and Z2 compared to the control group ($p = 0.0011$; Table 6). While group C had a mean flow of soluble Al of 0.3 g/d at the duodenum, the mean flow for group Z1 was 7.3 g/d and for group Z2 11.5 g/d. Further, a significant relationship between the flow of soluble Al and the mean total Al intake ($r^2 = 0.80$; $p < 0.0001$), as well as the mean zeolite A intake ($r^2 = 0.60$; $p = 0.0033$), was observed.

The faecal excretion as well as the digestibility of total Ca and Mg was not affected by zeolite A supplementation. However, the apparent digestion of total P was significantly reduced by zeolite A treatment ($p = 0.0083$). The cows of group Z2 had P digestibility of only 5.7 % which tended to be lower than for cows of group Z1 with a digestibility of 18.6 % and significantly lower compared to control cows with a digestibility of 26.9 % (LSmeans).

Table 6: Concentrations of soluble calcium, magnesium, phosphorus and aluminium in rumen fluid and the flow at the duodenum as well as the faecal excretion of the total Ca, Mg and P (Last square means \pm standard error); C = 0 g zeolite/kg T; Z1 = 10 g zeolite/kg T; Z2 = 20 g zeolite/kg T

	C	Groups Z1	Z2	¹ Fixed effects for zeolite
Rumen				
Ca (mmol/l)	2,01 \pm 0.32	1.80 \pm 0.34	1.72 \pm 0.34	> 0.1
Mg (mmol/l)	2.09 \pm 0.46	2.08 \pm 0.46	1.72 \pm 0.46	> 0.1
P (mmol/l)	9.54 \pm 1.52	8,54 \pm 1.61	6.74 \pm 1.61	> 0.1
Al (mmol/l)	6.33 ^a \pm 1.57	14.31 ^b \pm 1.57	13.84 ^b \pm 1.57	0.0041
Duodenum				
Ca (g/d)	44.6 \pm 7.5	46.4 \pm 7.6	47.8 \pm 7.6	> 0.1
Mg (g/d)	13.5 \pm 2.3	13.9 \pm 2.3	14.9 \pm 2.3	> 0.1
P (g/d)	59.2 \pm 7.4	57.7 \pm 7.7	49.1 \pm 7.7	> 0.1
Al (g/d)	0.3 ^a \pm 1.7	7.3 ^b \pm 1.8	11.5 ^b \pm 1.8	0.0011
Faeces				
Ca (g/d)	74.7 \pm 11.8	75.6 \pm 12.2	84.9 \pm 12.2	> 0.1
Mg (g/d)	18.3 \pm 2.3	17.9 \pm 2.4	18.8 \pm 2.4	> 0.1
P (g/d)	29.9 ^a \pm 3.4	32.3 ^{ab} \pm 3.5	36.9 ^b \pm 3.5	0.0383

¹Probability under H_0 that a F-distributed random variable exceeds observed F. for zeolite. a < b between groups; $p < 0.05$

3.5. Serum analyses of inorganic phosphate and aluminium

A significant decrease of serum inorganic phosphate (P_i) was observed for cows supplemented by a zeolite A dosage of 20 g/day (Figure 2). The mean P_i concentration decreased significantly after three days of zeolite A supplementation from 2.05 mmol/l on day 1 (before beginning of zeolite A supplementation), to 1.51 mmol/l, and achieved on day 6 the lowest value of 1.16 mmol/l, which was below the lower limit of the reference range (1.55 - 2.29 mmol/l; FÜRLL 2005), and significantly lower compared to group C (1.96 mmol/l; $p = 0.0052$). The cows with a supplementation of 10 g zeolite A/kg DM (group Z1) also showed a significant decrease of P_i in serum from 2.03 mmol/l to 1.40 mmol/l on day 5. However on day 7 the mean P_i concentration was 1.64 which stayed again within the reference range (1.55 - 2.29 mmol/l; FÜRLL 2005).

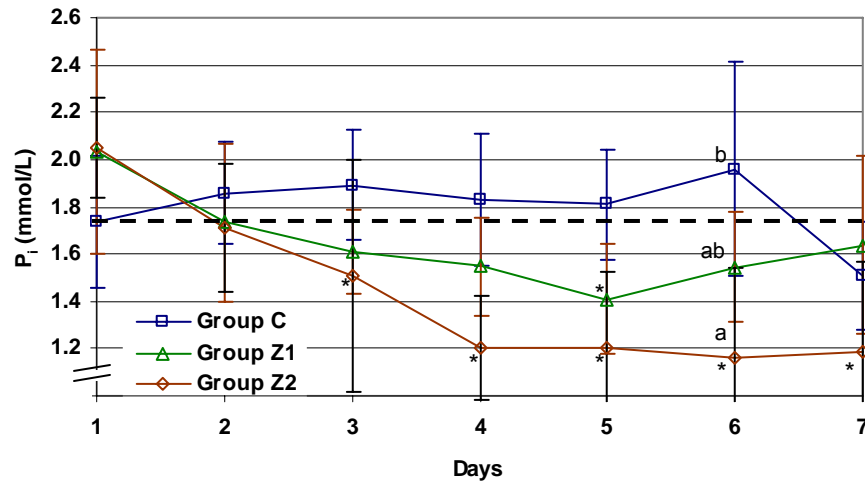


Figure 2: Mean inorganic phosphate (P_i) concentration in serum (mmol/l) of the cows over seven days .The broken line shows the lower limit of the physiological value for lactating cows (1.55 mmol/l; Fürll, 2005). a < b between groups; p < 0.05. * The mean concentration is significant lower compared to the value at the first sampling day

The P_i concentration correlated negatively with zeolite A intake on days 4 ($r^2 = 0.62$; $p = 0.0023$) to 7 ($r^2 = 0.51$; $p = 0.0088$). The closest relationship was on day 6 with $r^2 = 0.87$ ($p < 0.0001$). The Al concentration in blood serum was significantly higher for all three groups on day 7 compared to the mean concentration on day 1 (Table 7). On day 7 the cows of group Z2 showed the highest Al concentration (129 $\mu\text{g/l}$), whereas cows in group C had a mean concentration of 85 $\mu\text{g/l}$. This difference was not significant because the individual variation was great. However the Al concentration correlated negatively with the P_i concentration on Day 7 ($r^2 = 0.48$; $p = 0.0015$).

Table 7: Mean aluminium concentration \pm SD in serum before (Day 1) and after 7 days of zeolite A supplementation

	Aluminium concentration in serum ($\mu\text{g/L}$)	
	Day 1	Day 7
Group C	28 ^a \pm 21	85 ^b \pm 45
Group Z1	22 ^a \pm 15	92 ^b \pm 33
Group Z2	17 ^a \pm 12	129 ^b \pm 49

4. Discussion

Measurements of the nutrient flow at the duodenum in relation to the DM intake revealed an influence of zeolite A supplementation on DM and OM digestibility in the rumen (Table 5). The apparent ruminal DM digestibility was significantly reduced for cows of both groups Z1

and Z2. This effect is in part due to indigestibility of zeolite A. Further the ruminally fermented OM was significantly lower for zeolite A treated cows as well. Because P is an important factor for ruminal microbial growth (SMITH 1979), it can be assumed that the reduced available P in the rumen led to a depression of microbial activity. However a marked depression does not occur until very low rumen P_i -concentration are reached (≤ 4 g/l; KOMISARCZUK et al. 1987). Further no effect was found for the faecal excretion of DM, OM and XP (Table 6). The apparent digestibility of DM was 67.5 % for control cows and 67.9 % as well as 67.4 % for the supplemented cows. In a previous study, where 2 % zeolite A was added to the diet a significantly reduced apparent digestibility of dry matter (JOHNSON et al. 1988) was shown. The authors observed an apparent DM digestibility of only 61 %, whereas the control cows had an apparent DM digestion of 65 %. However the cows in the mentioned study had a higher dry matter intake (> 18 kg DM/day) compared to the present investigation (12 kg DM/day, Table 4), which could be a reason for the different results. In rumen parameters only the molar proportions of fatty acids were significantly affected by zeolite A supplementation (Table 5). The increased acetate:propionate ratio is partially in agreement with a previous study adding 2 % zeolite A to the diet (JOHNSON et al. 1988). They observed an increased acetate:propionate ratio (2.47) compared to untreated cows (1.95). In contrast to the current study the shift was only due to decreased propionate concentration. An earlier study using natural zeolite (clinoptilolite) for Holstein heifers and steers also showed a shift of acetate:propionate (2.75 to 2.96, SWEENEY et al. 1984). In spite of the differences, the mentioned parameters stayed within the physiological ranges (VON ENGELHARDT and BREVES 2004). Thus no remarkable consequences for the digestion of nutrients were to be expected for the chosen zeolite A doses.

According to previous studies (THILSING-HANSEN et al. 2002; ENEMARK et al. 2003; THILSING-HANSEN et al. 2003; THILSING et al. 2006; GRABHERR et al. 2008, 2009) the supplementation of zeolite A had a negative effect on P metabolism which was reflected in low serum P_i concentration (Figure 2). Contrary to previous expectations a destruction of zeolite A in the present study occurred readily in rumen, where the lowest pH was 6 (180 minutes after feeding). This resulted in a significant increase of soluble Al concentration (Table 6) and a negative relationship between soluble P in rumen and zeolite A intake. This result indicates an ionic binding of P_i and Al, which is not soluble in solution with a pH range between 6 and 7. These results disagree with previous *in vitro* studies. COOK et al. (1982) estimated a degradation of zeolite A at pH 4 and lower, whereas at pH 5, 6 and 7 they found only a simple cation exchange. THILSING et al. (2006) observed that zeolite A induced a reduced P content after HCl addition to rumen fluid (pH < 4), whereas at higher pH levels (> 7) they even found increased P concentrations after zeolite A addition. The difference between the results in the *in vitro* studies, and the present *in vivo* results, can be seen as a consequence of the different conditions (*in vivo* versus *in vitro*). The reason for the differences can not be explained and needs further investigations.

A part of the P_i absorption occurs already in rumen (BREVES et al. 1988; BEARDWORTH et al. 1989; CARE 1994). In a study with sheep, Breves et al. (1988) estimated a positive

linear relationship between the ruminal P_i concentration and the P_i net flux. However, Breves and Schröder (1991) postulated that it is not ascertained if the ruminal P_i absorption has a quantitative importance for overall gastrointestinal P_i absorption. It is thus not certain that the reduced availability of P with increased zeolite A intake has an influence on the total P metabolism. The small intestine is rather a major site for the gastrointestinal P_i absorption (BERTONI et al. 1976; CARE 1994; GOFF 2000). In contrast to rumen fluid no correlation between the soluble P flow at the duodenum and the mean zeolite A intake was observed. The location of the duodenal cannula was at the proximal duodenum close to the pylorus where the pH was comparable with the abomasal pH (< 4). The mineral elements were present as soluble ions in this medium. Due to the fact that $AlPO_4$ is easily soluble as Al^{3+} and PO_4^{3-} in the presence of diluted mineral acids such as HCl the soluble P was not influenced by the zeolite A supplementation in this part of the digestive tract. However, it is not clear what happens with the P further down in the digestive tract. The intestinal absorption rate of P_i decreases along the intestinal tract due to the increase in pH (BEN-GHEDALIA et al. 1975). According to PLAYNE (1976) P may be unavailable at pH above 6. In addition, a binding of the P_i to a non-absorbable Al-phosphate due to zeolite A supplementation may enhance the reduced P absorption. The significantly higher faecal P excretion of the cows in group Z2 as a consequence of reduced P absorption confirms this assumption (Table 6).

A further indication for zeolite A destruction in the gastro-intestinal tract is the numerically higher serum Al concentration on day 7 for the zeolite A treated cows (groups Z1 and Z2) compared to the control group (Table 7). The reason for the increased serum Al concentration for the untreated cows is not explainable. This observation partly may be due to the chromium oxide marker containing 0.09 g Al per 100 g marker, which was given into the rumen of all cows after the first day of serum sampling. In a recent study, 600 g zeolite A was given to dry pregnant cows and resulted in a significant increase of serum Al from 13.2 to 85.3 $\mu\text{g/l}$ (THILSING et al. 2007). However, the major undesirable effect of Al is the negative influence on P absorption in the digestive tract, reflected in decreased serum P_i concentration (Figure 2). Earlier studies with Al supplementation also showed negative effects on P metabolism in ruminants (ALLEN et al. 1986; ROSA et al. 1982; VALDIVIA et al. 1982).

In previous studies with zeolite A supplementation for dry pregnant cows (THILSING-HANSEN et al. 2002; GRABHERR et al. 2008, 2009) blood samples were taken only once a week, while in the present study a frequent blood sampling allowed the dynamic of decrease of serum P_i concentration during the first week of zeolite A supplementation to be followed (Figure 2). The mean serum P_i concentration of cows in group Z2 decreased at the third day of zeolite A supplementation and remained below the lower limit of the reference value of 1.55 for lactating cows (FÜRLLL 2005; Figure 2). This result is in accordance with an earlier study where Al-citrate was added to a ration for lactating beef cows and the P_i concentration at the third experimental day was also significantly decreased (ALLEN et al. 1986). The negative correlation of the P_i concentration in cows of the groups Z1 and Z2 with the mean zeolite A intake confirms the negative impact on P availability. This observation agrees with a previous study with dry pregnant cows, where the P_i concentration correlated negatively with the mean

zeolite A intake 7 days after beginning of zeolite A supplementation (GRABHERR et al. 2009).

The decreased serum P_i concentration for cows supplemented by 10 g zeolite A/kg DM (Z1), which was significant on Day 5, is not in agreement with a recent study, where several zeolite A doses were tested on mineral metabolism in dry pregnant cows (GRABHERR et al. 2009). There was no significant effect on serum P_i concentration with a supplementation of 12 g zeolite A/kg DM ante partum compared to cows where 23 and 43 g zeolite A/kg DM, respectively, had been added. The reason for this variation may be due to differences in the metabolism and generally a higher P requirement for lactating cows. However, the present study where fistulated dry non pregnant and lactating cows were used is only as a model for investigating the zeolite A metabolism in the gastro-intestinal tract. Thus the result in serum P is not applicable to dry pregnant cows, the actual target group for zeolite A supplementation for preventing milk fever.

5. Conclusions

In conclusion, zeolite A seems to be destroyed through the gastrointestinal passage resulting in a release of Al. The main consequence is a reduced bioavailability of P_i due to the formation of a non absorbable compound formed with Al. The exact reason for the destruction of the zeolite compound in the rumen is still not clear. According to the present study, in addition to low pH, further factors seem to destabilise the zeolite structure in rumen fluid, which needs further investigation.

Although there is an influence on ruminal digestion (lower apparent DM and OM digestibility) a remarkable influence on the total tract digestion of nutrients could not be measured for the chosen doses. However negative influences of higher zeolite A doses on digestion can not be excluded.

Acknowledgement

The authors thank the co-workers of the Institute of Animal Nutrition and the Experimental Station of the Friedrich Loeffler Institute in Braunschweig, Germany, as well of the laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, Large Animal Clinic for Internal Medicine, University of Leipzig, and the laboratory of Analytic Consulting Food GmbH, Jena, for animal care and performance of laboratory analyses.

References

Allen VG. Influence of dietary aluminium on nutrient utilization in ruminants. *J Anim Sci.* 1984; 59: 836–46.

Allen VG, Horn FP Fontenot JP. Influence of ingestion of aluminium, citric acid and soil on mineral metabolism of lactating beef cows. *J Anim Sci.* 1986; 62: 1396-403.

Beardsworth LJ, Beardsworth PM, Care AD. The effect of ruminal phosphate concentration on the the absorption of calcium, phosphorus and magnesium from the reticulo-rumen of the sheep. *Brit J Nutr.* 1989; 61: 715-23.

Ben-Ghedalia D, Tagari H, Zamwel S, Bondi A. Solubility and net exchange of calcium, magnesium and phosphorus in digesta flowing along the gut of the sheep. *Br J Nutr.* 1975; 33: 87-94.

Bertoni G, Watson MJ, Savage GD, Armstrong DG. The movement of minerals in the digestive tract of dry and lactating Jersey dairy cows. 1. Net movements of Ca, P, Mg, Na, K and Cl. *Zoot Nutr Anim.* 1976; 2: 107-18.

Brandt M, Rohr K. Beiträge zur Quantifizierung der N-Umsetzung in den Vormägen von Milchkühen. 1. Bestimmung des Mikrobenstickstoffs im Duodenalchymus mit Hilfe von N¹⁵. *Z Tierphysiol, Tierernährg Futtermittelkde.* 1981; 46: 39-59.

Breves G, Holler H, Packheiser P, Gäbel G, Martens H. Flux of inorganic phosphate across the sheep rumen wall in vivo and in vitro. *Q J Exp Physiol.* 1988; 73: 343-51.

Breves G, Schröder B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. *Nutr Res Rev.* 1991; 4: 125-40.

Care AD. The absorption of phosphate from the digestive tract of ruminant animals. *Br Vet J.* 1994; 150: 197-205.

Cook TE, Cilley WA, Savitsky AC, Wiers BH. Zeolite A hydrolysis and degradation. *Environ Sci Technol.* 1982; 16: 344-50.

DIN 38406-E5-2. Fachgruppe Wasserchemie in der GDCh in Gemeinschaft mit dem Normenausschuß Wasserwesen im deutschen Institut für Normung e.V. (eds.). Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. 40. Lieferung. Wien: Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim und Beuth Verlag; 1998.

Enemark JMD, Spangaard Frandsen AM, Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ. Aspects of physiological effects of sodium zeolite A supplementation in dry, non-pregnant dairy cows fed grass silage. *Acta Vet Scand.* 2003; 97: 97-117.

Engelhardt v W, Breves G. *Physiologie der Haustiere.* 2 ed. Stuttgart: Enke-Verlag; 2004.

Fürll M. Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Kraft W, Dürr UM (eds.). 6. edn. Stuttgart, New York: Schattauer-Verlag; 2005. pp. 444–71.

Geissler C, Hoffmann M, Hickel B. Ein Beitrag zur gaschromatischen Bestimmung flüchtiger Fettsäuren. Arch Anim Nutr. 1976; 26: 123-29.

Gesellschaft für Ernährungsphysiologie; GfE. Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Roh Nährstoffen an Wiederkäuern. J Anim Physiol Anim Nutr. 1991; 65: 229-34.

Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder Nr. 8 Frankfurt am Main: DLG-Verlag; 2001.

Goering HJ, Van Soest PJ. Forage fibre analysis. (Apparatus, reagents, procedure and some applications). Agr Res Service Agr. Handbook No.379, Washington; 1970.

Goff JP. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2000; 16: 319-37.

Grabherr H, Spolders M, Flachowsky G, Fürll M. Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme von trockenstehenden Milchkühen, auf den Mengen- und Spurenelementstoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie auf die Milchleistung in der folgenden Laktation. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2008; 121: 41-52.

Grabherr H, Spolders M, Fürll M, Flachowsky G. The effect of several doses of zeolite A on feed intake, energy metabolism and on mineral metabolism in dairy cows around calving. J Anim Physiol Anim Nutr. 2009; 93: 221-36.

Hemken RW, Harmon RJ, Mann LM. Effect of clinoptilolite on lactating dairy cows fed a diet containing urea as a source of protein. In: Zeo-Agriculture. Use of Natural Zeolites in Agriculture and Aquaculture. Pond WG, Mumpton FA (eds.). 1. edn. Colorado: Westview Press Boulder; 1984. pp. 171-176.

Johnson MA, Sweeney TF, Muller LD. Effects of feeding synthetic zeolite A and sodium bicarbonate on milk production nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. J Dairy Sci. 1988; 71: 946-53.

Komisarczuk S, Merry RJ, McAllan AB. Effect of different levels of phosphorus on rumen microbial fermentation and synthesis determined using a continuous culture technique Brit J Nutr. 1987; 51: 279-90.

Lebzien P, Paul C. 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 Technol.* 1997; 68:225-33.

Lebzien P, Voigt J. Calculation of utilizable crude protein at the duodenum of cattle by two different approaches. *Arch Anim Nutr.* 1999; 52: 363-9.

Lukas M, Südekum KH, Rave G, Friedel K, Susenbeth A. Relationship between faecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in dairy cattle. *J Anim Sci.* 2005; 83:1332-44.

Pallesen A, Pallesen F, Jørgensen RJ, Thilising T. 2007. Effect of pre-calving zeolite, magnesium and phosphorus supplementation on periparturient serum mineral concentrations. *Vet J.* 2007; doi; 10.1016/j.tvjl. 2007.01.007.

Playne MJ. Availability of phosphorus in feedstuffs for utilisation by ruminants. In: *Reviews in Rural Sciences 3, Prospects for improving efficiency of phosphorus utilization.* Blair GJ (ed). Armidale: University of New England Publishing Unit; 1976. pp. 115-64.

Riemeier A. Einfluß der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB) auf die Pansenfermentation, mikrobielle Proteinsynthese, Menge des am Dünndarm anflutenden nutzbaren Proteins (nXP) sowie die Stickstoffausscheidung [dissertation]. Institut für Tierernährung der Tierärztlichen Hochschule Hannover. 2004.

Rohr K, Brandt M, Lebzien P, Schafft H. Measurement of duodenal flow in dairy cows by either total collection or spot sampling, using a special cannula. *Can J Anim Sci.* 1984; 64:116.

Rosa IV, Henry PR, Ammermann CB. Interrelationship of dietary phosphorus , aluminium and iron on performance and tissue mineral composition in lambs. *J Anim Sci.* 1982; 55: 1231-40.

Schafft H. Untersuchungen zur Quantifizierung des Abbaus von Futterprotein in den Vormägen von Milchkühen [dissertation]. Göttingen: Univ. Göttingen; 1983.

Smith RH. Synthesis of microbial nitrogen compounds in the rumen and their subsequent digestion. *J Anim Sci.* 1979; 49: 1604-14.

Sweeny TF, Cervantes A, Bull LS, Hemken RW. Effect of dietary clinoptilolite on digestion and rumen fermentation in steers. In: *Zeo-Agriculture. Use of Natural Zeolites in Agriculture*

and Aquaculture. Pond WG, Mumpton FA (ed). 1. ed. Colorado: Westview Press. Boulder; 1984. pp. 177-87.

Thilsing T, Jørgensen RJ, Poulsen HD. In vitro binding capacity of zeolite A to calcium, phosphorus and magnesium in rumen fluid as influenced by changes in pH. *J Vet Med A*. 2006; 53: 57-64.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ. Hot topic: Prevention of parturient paresis and subclinical hypocalcaemia in dairy cows by zeolite A administration in the dry period. *J Dairy Sci*. 2001; 84: 691-3.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Larsen T. The effect of zeolite A supplementation in the dry period on periparturient calcium, phosphorus and magnesium homeostasis. *J Dairy Sci*. 2002; 85: 1855-62.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Zelvyte R, Sederevicius A. The effect of zeolite A supplementation in the dry period on blood mineral status around calving. *Acta vet Scand*. 2003; 97: 87-95.

Valdivia R, Ammerman CB, Henry PR, Feaster JP, Wilcox CJ. Effect of aluminium and phosphorus on performance, phosphorus utilization and tissue mineral composition in sheep. *J Anim Sci*. 1982; 55: 402-10.

VDLUFA. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, Methodenbuch III Darmstadt: VDLUFA-Verlag; 2004.

Williams CH, David DJ, Iismaa O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J Agric Sci*. 1962; 59: 381-85.

4 Übergreifende Diskussion

Ein stabilisierender Effekt von Zeolith A auf den Ca-Stoffwechsel im peripartalen Zeitraum wurde in den eigenen Untersuchungen bestätigt. Da allerdings bisher in der Literatur neben den erwünschten Effekten von Zeolith A zum einen auch über nachteilige Effekte auf den Phosphatstoffwechsel berichtet wird und zum anderen wenig bzw. keine Informationen zum Einfluss auf das Futteraufnahmeverhalten und den Energiestoffwechsel sowie auf den Spurenelementstoffwechsel vorliegen, wurden diese Aspekte in den eigenen Untersuchungen genauer beleuchtet.

4.1 Effekte durch die Zulage von Zeolith A in Bezug auf die Gebärpareseprophylaxe

4.1.1 Einfluss auf den Calciumstoffwechsel

Für die Untersuchung des Mineralstoffwechsels wurden die Tiere in der zweiten Studie in zwei Altersgruppen (Kühe in erster und zweiter Laktation und Kühe mit drei und mehr Laktationen) unterteilt. In der ersten Studie hatten alle Kühe mindestens ihre zweite Laktation abgeschlossen.

Wie schon in einigen Studien zuvor beschrieben (THILSING-HANSEN u. JØRGENSEN 2001; THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003) zeigte der Einsatz von Zeolith A in der Fütterung am Ende der Trockenstehperiode auch in den eigenen Untersuchungen einen stabilisierenden Effekt auf den peripartalen Ca-Stoffwechsel (**Publikationen 1 und 2**). Diese erwünschte Wirkung wurde bei einer Zeolith A-Dosierung ab 23 g/kg T und einem Zeolith A/Ca-Verhältnis in der Ration von 5,6:1 festgestellt. Bei diesen Tieren lag die mittlere Ca-Konzentration im Serum peripartal konstant oberhalb von 2 mmol/l. Eine Ca-Konzentration oberhalb von 2 mmol/l war auch bei den Kühen der ersten und zweiten Laktation in der Kontrollgruppe bzw. mit einer Zeolith A-Dosierung von 12 g/kg T TMR zu beobachten. Dagegen lag die mittlere Ca-Konzentration bei den älteren Tieren (≥ 3 . Laktation) aus den Kontrollgruppen bzw. mit der niedrigsten Zeolith A-Dosierung am Tag der Kalbung im Mittel unterhalb von 2 mmol/l. Daraus ergibt sich einerseits, dass eine Hypocalcämie bei jüngeren Tieren keine Bedeutung hat und daher der Einsatz von Zeolith A nicht nötig ist; andererseits haben geringe Zeolith A-Dosierungen keinen prophylaktischen Effekt auf die Hypocalcämiehäufigkeit bei älteren Kühen. Die lactationsabhängige Unterschiede der peripartalen Ca-Konzentration sind in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen zum peripartalen Ca-Stoffwechsel bei Kühen in unterschiedlichen Laktationen (SHAPPELL et al. 1987; MOORE et al. 2000; CHAN et al. 2006), die ebenfalls zeigten, dass der Organismus bei jüngeren Tieren schneller in der Lage ist, bei Einsetzen der Laktation ausreichend Ca aus den endogenen Speichern zu mobilisieren. Der genaue Wirkmechanismus von Zeolith A konnte allerdings noch nicht geklärt werden. Es wird angenommen, dass Zeolith A als Kationenaustauscher die Fähigkeit aufweist, Ca im Futter zu binden, so dass es nicht resorbiert werden kann. *In vitro* Studien bestätigten diese These (THILSING et al. 2006). Nach Zusatz von Zeolith A zum Pansensaft bei einem pH-Wert von 7,9 war der Gehalt von löslichem Ca signifikant erniedrigt. Die daraus resultierende negative

Ca-Bilanz führt zur Aktivierung der Ca-regulierenden Hormone und dadurch zu einer ausreichenden Bereitstellung von Ca aus den endogenen Speichern (GOFF et al. 1991a; HORST et al. 1992).

In der Dosis-Wirkungsstudie zeigte sich bei den Tieren mit einer Zeolith A-Zulage von 43 g/kg T TMR ein signifikanter Effekt auf die fraktionelle renale Ca-Exkretion (**Publikation 2**). Diese Tiere hatten einen Tag post partum eine signifikant höhere Ca-Exkretion über die Niere im Vergleich zu den Tieren mit niedrigerer Zeolith A-Zulage. In einer früheren Studie mit einer Zeolith A-Zulage von 800 g/Tier/Tag ante partum wurde ebenfalls eine erhöhte Ca-Exkretion gemessen (Enemark et al. 2003a). Dieser Effekt ist sehr wahrscheinlich der zeitlich unterschiedlichen Aktivität von PTH und 1,25-(OH)₂-D (HORST et al. 1994; GOFF 2000) zuzuschreiben. Aufgrund der ausgeprägten negativen Ca-Bilanz ante partum bei hoher Zeolith A-Zulage war das Maximum der PTH- und 1,25-(OH)₂-D-Aktivität wahrscheinlich bereits vor der Kalbung erreicht, so dass eine höhere Ca-Rückresorption in der Niere einsetzte. Dies erklärt auch den geringgradigen Anstieg von Ca im Serum eine Woche ante partum bei den Kühen mit hoher Zeolith A-Dosierung in beiden Altersgruppen. In einer Studie mit einer Zeolith A-Zulage von 700 g/Tier/Tag wurde eine Woche ante partum auch eine erhöhte 1,25-(OH)₂-D-Aktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen (THILSING-HANSEN et al. 2002). Ein weiterer Einflussfaktor, der zu einer gesteigerten renalen Ca-Exkretion führt, könnte auch die signifikante Erniedrigung der NSBA sein (FÜRL 1993). Allerdings war sie nicht wesentlich verschieden zwischen den Fütterungsgruppen ($p > 0,1$). Auch die Tiere ohne Zeolith A-Zulage hatten einen Tag nach der Kalbung eine signifikant geringere NSBA im Vergleich zum Versuchsbeginn ohne Auswirkung auf die Ca-Exkretion. Dagegen ist die signifikant höhere fraktionelle renale Ca-Exkretion sieben Tage post partum bei den Kühen mit hoher Zeolith A-Zulage ante partum als Folge der gleichzeitig stärkeren azidotischen Belastung zu betrachten. Hier war die NSBA signifikant niedriger im Vergleich zu den Tieren mit der niedrigsten Zeolith A-Zulage und tendenziell niedriger im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Bei den Tieren mit hohen Zeolith A-Dosierungen (≥ 43 g/kg T TMR) ist die peripartale Stabilisierung des Ca-Stoffwechsels allerdings eher der verminderten Futteraufnahme mit der daraus resultierenden negativen Ca-Bilanz ante partum zuzuschreiben (**Publikationen 1 und 2**). Die mittlere Ca-Aufnahme lag bei diesen Tieren in den letzten 14 Tagen vor der Kalbung bei 23,5 (**Publikation 1**) bzw. 30,5 g/Tier/Tag (**Publikation 2**) und damit unterhalb der GfE-Empfehlungen (2001) von 34 g Ca/Tier/Tag in den letzten 3 Wochen der Trächtigkeit. Es ist anzunehmen, dass dieser Effekt bereits für eine Stabilisierung des Ca-Stoffwechsels zum Zeitpunkt der Kalbung ausreichte, so dass der gewünschte prophylaktische Effekt bei diesen Tiergruppen nicht eindeutig dem Zeolith A-Einfluss zu verbuchen ist, sondern auch als Folge der verminderten Futteraufnahme ante partum zu betrachten ist. Bei den mit 23 g Zeolith A/kg T supplementierten Tieren hingegen kann die Stabilisierung des Ca-Stoffwechsels weniger einer verminderten Ca-Aufnahme durch verminderte Futteraufnahme zugeschrieben werden. Diese Tiere hatten eine mittlere Ca-Aufnahme von 40,4 g/Tier/Tag, welche deutlich höher lag im Vergleich zu den Tieren mit

höheren Zeolith A-Zulagen, so dass hier von einer direkten Zeolith A-Wirkung ausgegangen werden kann. Daraus wird ersichtlich, dass bei einer Dosierung von 23 g Zeolith A/kg T TMR der gewünschte prophylaktische Effekt einer negativen Ca-Bilanz durch die Bindung von Ca aus dem Futter an das Zeolith A entsteht, ohne dass die Futterraufnahme ante partum und der Energiestoffwechsel dabei empfindlich gestört werden.

In der Stoffwechseluntersuchung trat kein signifikanter Effekt der Zeolith A-Zulage auf den Ca-Metabolismus in den verschiedenen Verdauungsabschnitten (**Publikation 3**) auf. Sehr wahrscheinlich ist dieser Befund darauf zurückzuführen, dass Zeolith A im Vergleich zu den Fütterungsversuchen mit trockenstehenden Milchkühen in sehr niedrigen Dosierungen (10 bzw. 20 g/kg T) bei Kühen in verschiedenen Laktationsstadien eingesetzt wurde. In dieser Studie stand die Fragestellung der Wirkung von Zeolith A auf den Ca-Stoffwechsel eher im Hintergrund.

4.1.2 Bedeutung des Zeolith/Calcium- Verhältnisses beim Einsatz von Zeolith A

Bei der Wahl der Dosierung von Zeolith A spielt neben der absoluten Zeolith A-Dosierung das Zeolith A/Ca-Verhältnis im Futter eine wichtige Rolle (THILSING-HANSEN et al. 2003). Anhand des Rückgangs der Hypocalcämie am Tag der Kalbung und des Zeolith/Ca-Verhältnisses kann die mindestens erforderliche Zeolith A-Dosierung bei bestimmten Ca-Gehalten in der Ration ermittelt werden (**Publikation 2**). In Tabelle 3 sind die Ergebnisse aus früheren Studien mit den eigenen Untersuchungen gegenübergestellt.

Tabelle 3: Auswirkung von Zeolith A in verschiedenen Dosierungen auf das Auftreten der Häufigkeit der Hypocalcämie

	THILSING-HANSEN et al. 2003						Eigene Untersuchungen (Publikationen 1 und 2)				
Zeolith A (g/kg T TMR)	¹ 50	¹ 50	¹ 50	¹ 50	¹ 70	¹ 100	12	23	43	90	
(g/Tag)	500	500	500	500	700	1000	¹ 120	¹ 230	¹ 430	¹ 900	
Tierzahl	² K	18	11	4	4	9	8	8	8	23	
(≥ 3. Laktation)	³ Z	17	14	4	6	13	9	8	9	8	23
Dauer (Tage)		14	14	28	28	14	28	14	14	14	14
Zeolith A/Ca- Verhältnis		5:1	6:1	7:1	12,5:1	20:1	24:1	2,8:1	5,6:1	10,5:1	23,7:1
Hypocalcämie- Häufigkeit (%)	² K	78	55	75	100	78	63	75	75	75	70
	³ Z	76	21	25	0	15	0	75	22	0	17
Rückgang der Hypocalcämie- Häufigkeit (%)		3	62	67	100	81	100	0	71	100	76

¹geschätzter Wert bezogen auf eine T-Vorlage von 10 kg/Tag

²Kontrolltiere (ohne Zeolith A-Zulage)

³Zeolith A-supplementierte Kühe

Bei einer Einmischung von 23 g Zeolith A/kg T TMR in die Ration mit einem mittleren Ca-Gehalt von 4,1 g/kg T errechnete sich ein Zeolith/Ca-Verhältnis von 5,6:1. Im Vergleich zu den Kontrolltieren ging die Häufigkeit der Hypocalcämie bei den Kühen mit mindestens drei Laktationen in dieser Gruppe um 71 % zurück. Dieses Ergebnis stimmt mit einer früheren Studie von THILSING-HANSEN et al. (2003) teilweise überein. Bei dieser Studie lag der Rückgang des Milchfiebersrisikos bei den im Stall gehaltenen Tieren bei einem Zeolith/Ca-Verhältnis von 6:1 bei 62 %. Dagegen lag dieser in der gleichen Studie bei Kühen, die tagsüber auf der Weide gehalten wurden bei einem Zeolith/Ca-Verhältnis von 5:1 nur noch bei 3 %. Allerdings bezog sich das Verhältnis nur auf das Futter, das den Tieren im Stall vorgelegt wurde, was vermuten lässt, dass das tatsächliche Zeolith/Ca-Verhältnis noch niedriger gewesen ist. Bei den Kühen, die in der eigenen Studie 43 g Zeolith A/kg T TMR erhielten, erkrankte keine Kuh an einer subklinischen Hypocalcämie, woraus ein Rückgang der Häufigkeit der Hypocalcämie um 100 % zu verzeichnen war (Tabelle 3). Dagegen betrug der Rückgang des Gebärpareresisikos bei den Tieren im Versuch 1 nach einer Zeolith A-Zulage von 90 g/kg T bei einem Zeolith A/Ca-Verhältnis von 23,7:1 lediglich 76 %. Um eine gewünschte Wirkung zu erzielen und die unerwünschten Effekte durch Zeolith A-Zulage so gering wie möglich zu halten, sollte anhand der eigenen Untersuchungen das Zeolith A/Ca-Verhältnis zwischen 6:1 und 10:1 betragen. Das liegt deutlich unterhalb den Empfehlungen von THILSING-HANSEN et al. (2003), die eine gute Wirksamkeit bei einem Verhältnis zwischen 10:1 und 20:1 schlussfolgerten. Während in der genannten Studie die Futteraufnahme nicht berücksichtigt wurde, zeigte sich in den eigenen Untersuchungen bereits bei einem Zeolith A/Ca-Verhältnis von 10,5:1 (43 g Zeolith A/kg T) eine deutliche Beeinträchtigung der Futteraufnahme, woraus der Unterschied in den Empfehlungen resultiert. Obwohl eine ausreichende Wirkung zur Aktivierung der Ca-regulierenden Hormone bereits eine Woche nach Zeolith A-Zulage erwartet werden kann, erwies sich bei den Fütterungsversuchen eine Dauer der Zeolith A-Supplementierung von zwei Wochen als angemessen (**Publikationen 1 und 2**). Eine Zeolith A-Supplementierung in dieser Zeitspanne gewährleistet auch eine ausreichende Wirkung bei Abweichungen des Kalbetermins. THILSING-HANSEN et al. (2003) konnten keine verbesserte prophylaktische Wirkung bei einer Zeolith A-Zulage über einen Zeitraum von 4 Wochen ante partum im Vergleich zu 2 Wochen ante partum feststellen.

4.2 Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme und den Energiestoffwechsel

4.2.1 Futteraufnahme

Die Einmischung von Zeolith A in den Dosierungen von 43 und 90 g/kg T führte zu einer signifikant niedrigeren TMR-Aufnahme im Vergleich zur Kontrollgruppe (**Publikationen 1 und 2**). Dagegen blieb die TMR-Aufnahme bei einer Einmischung von 23 bzw. 12 g Zeolith A/kg T kaum beeinflusst (**Publikation 2**). In Tabelle 4 sind die T-Aufnahmen ante partum der einzelnen Gruppen zusammengefasst.

Tabelle 4: Mittlere TMR- Aufnahme ante partum

	Zeolithdosierungen (g/kg T TMR)					
	Publikation 1		Publikation 2			
	0	90	0	12	23	43
Ohne Zeolith A-Zulage (kg/Tag)	-	-	11,5	12,0	11,2	11,3
Mit Zeolith A-Zulage (kg/Tag)	12,0 ^b	6,2 ^a	10,1 ^{bc}	10,9 ^c	9,5 ^b	7,3 ^a
Differenz zur Vorperiode (kg/Tag)	-	-	-1,4 ^a	-1,1 ^a	-1,7 ^a	-4,0 ^b
Differenz im Vergleich zur Kontrollgruppe (kg/Tag)	-	-5,8	-	+ 0,8	-0,6	-2,8

a < b; p < 0,05

Der Rückgang der Futteraufnahme war bei einer Zeolith A-Zulage von 43 bzw. 90 g/kg T TMR bereits nach wenigen Tagen (1-3) signifikant niedriger. Im Gegensatz zu den eigenen Untersuchungen zeigten JOHNSON et al. (1988) eine Reduktion der Futteraufnahme bereits bei einer Zeolith A-Zulage von 20 g/kg T bei laktierenden Kühen. Es ist allerdings möglich, dass der Einfluss auf die Futteraufnahme bei laktierenden Kühen mit einer allgemein höheren Futteraufnahme (18 kg T/Tier/Tag) deutlicher ausgeprägt ist als bei trockenstehenden Kühen. THILSING-HANSEN et al. (2002) berichten dagegen nur von einem moderaten Rückgang der Futteraufnahme (12 %) nach einer Einmischung von 700 g Zeolith A/Tier/Tag. Im Gegensatz zu der Studie von THILSING-HANSEN et al. (2002) wurden die Tiere in den eigenen Experimenten ad libitum gefüttert; die exakte Trockensubstanzaufnahme wurde täglich erfasst (**Publikationen 1 und 2**), wodurch der hemmende Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme stärker ausgeprägt sein kann. Die Ursache ist allerdings nicht eindeutig erklärbar. Eine mögliche Ursache ist die Beeinträchtigung der Futterqualität durch einen erhöhten Aschegehalt nach Einmischung von Zeolith A in die Ration. Nach einer Einmischung von 43 bzw. 90 g Zeolith A/kg T TMR war der Rohaschegehalt mit 97,9 bzw. 121,6 g/kg T TMR signifikant höher im Vergleich zur Kontrollration, deren Rohaschegehalt zwischen 70,6 und 68,9 g/kg T TMR lag (**Publikationen 1 und 2**). Für diesen Einflussfaktor spricht das rasche Auftreten der verminderten T-Aufnahme ab dem ersten Tag der Zeolith A-Zulage im Dosis-Wirkungsversuch (**Publikation 2**) bzw. ab dem dritten Tag (**Publikation 1**). Andere Versuche zeigen unterdessen auch einen möglichen Einfluss der P-Versorgung auf die T-Aufnahme von Wiederkäuern (GARTNER et al. 1982; CALL et al. 1986, 1987). Im Gegensatz zu den eigenen Untersuchungen (**Publikationen 1 und 2**) trat ein signifikanter Rückgang der T-Aufnahme in den genannten Studien allerdings erst nach einer längeren P-armen Fütterung auf. CALL et al. (1987) stellten z.B. in einer Langzeitstudie mit Milchkühen erst nach mehr als drei Monaten P-armen Fütterung einen Rückgang der Futteraufnahme fest. Bei einer Studie von GARTNER et al. (1982) wiesen Kühe erst nach einer über 19 Wochen andauernden phosphorarmen Fütterung einen signifikanten Rückgang der Futteraufnahme (bezogen auf die metabolische Körpermasse) auf. Andererseits zeigten

THILSING et al. (2007) nach Vorlage von Rationen mit unterschiedlicher Ca- und P-Zulage bei Kühen ohne zusätzliche P-Zulage eine verminderte Akzeptanz des Futters nach Einmischung von 600 g Zeolith A in die Ration in den letzten zwei Wochen vor dem errechneten Kalbetermin.

Des Weiteren senkte die Einmischung von Zeolith A in die Ration die ruminale Verdaulichkeit (**Publikation 3**). Im Stoffwechselforschung (**Publikation 3**) war nach Einmischung von 10 bzw. 20 g Zeolith A/kg T die scheinbare ruminale Verdaulichkeit der T sowie der ruminal fermentierbaren organischen Masse (FOM) signifikant erniedrigt. Da ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Konzentration des löslichen Phosphors im Pansen und der FOM besteht ($r^2 = 0,61$; $p = 0,0001$, Abbildung 2) kann eine herabgesetzte Mikrobenaktivität aufgrund verminderter Bioverfügbarkeit des Phosphors im Pansen nach der Zeolith A-Zulage als eine Ursache für die verminderte Verdaulichkeit des Futters in Betracht gezogen werden (SMITH 1979; KOMISARCZUK et al. 1987), woraus eine verminderte Futteraufnahme resultieren kann.

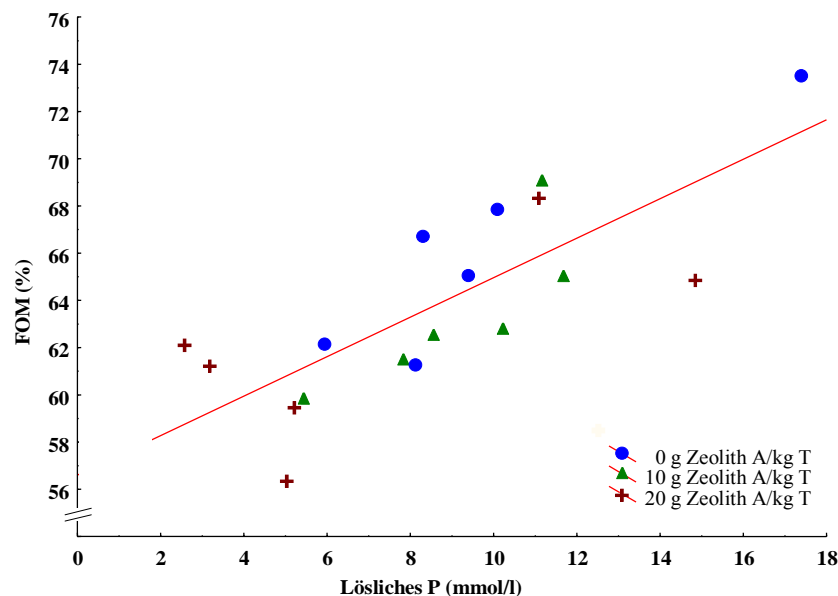


Abbildung 2: Linearer Zusammenhang zwischen dem löslichen Phosphor im Pansensaft und der fermentierbaren organischen Masse (FOM). $Y = 56,6 + 0,83 \cdot x$; $r^2 = 0,61$; $p = 0,0001$

Während die Gesamtkonzentration der flüchtigen Fettsäuren im Pansen durch die Zeolith A-Zulage nicht beeinflusst war, veränderten sich zum Teil deren molaren Anteile (**Publikation 3**). So war vermehrt Acetat und weniger Propionat und damit ein höheres Acetat:Propionat-Verhältnis nachweisbar. Der molare Anteil von Valeriansäure war bei den Tieren mit einer Zeolith A-Zulage von 20 g/kg T signifikant erniedrigt. JOHNSON et al. (1988) stellten ebenfalls eine Erhöhung des Acetat:Propionat-Verhältnisses fest. Allerdings war in dieser Studie nur der Propionatanteil erniedrigt. Der dahinter stehende Mechanismus, welcher zu diesem Effekt führt, ist nicht geklärt und bedarf weiterer Untersuchungen.

Bei der fäkalen Ausscheidung wurde kein signifikanter Einfluss einer Zeolith A-Zulage auf die Nährstoffverdauung festgestellt. Die Verdaulichkeit der T lag zwischen 67 und 68 % und

die der OM zwischen 70 und 71 %. In einer früheren Studie zeigten JOHNSON et al. (1988) hingegen eine verminderte scheinbare Gesamtverdaulichkeit der T nach einer Zeolithzulage von 20 g/kg T. Während die scheinbare Verdaulichkeit der T bei den Kontrolltieren 65 % betrug, lag sie bei den mit 20 g Zeolith A/kg T-supplementierten Tieren nur noch bei 61 %. Diese unterschiedlichen Ergebnisse können u.a. auf die Unterschiede der verzehrten Futtermenge (18 kg T versus 12 kg T in der eigenen Studie, **Publikation 3**) beruhen.

4.2.2 Energiestoffwechsel

Durch die verminderte Futteraufnahme ante partum waren die Kühe mit einer Zeolithzulage von 43 bzw. 90 g/kg T TMR in einer negativen Energiebilanz (**Publikationen 1 und 2**), welche sich in einer erhöhten freien Fettsäuren- (FFS) und Beta-Hydroxybutyrat- (BHB) Konzentration widerspiegelte (**Publikationen 1 und 2**). Die FFS-Konzentration war bei den Kühen mit einer Zeolith A-Zulage von 90 g/kg T bereits eine Woche ante partum signifikant höher im Vergleich zur Kontrollgruppe (**Publikation 1**). Der Anstieg bei den Kühen mit einer Zulage von 43 g/kg T war weniger prägnant. Aber auch hier lag die Konzentration eine Woche ante partum mit 428 $\mu\text{mol/l}$ numerisch höher im Vergleich zu den Tieren mit niedrigeren Zeolith A-Zulagen, deren mittlere FFS-Konzentrationen zwischen 162 und 318 $\mu\text{mol/l}$ lagen (**Publikation 2**). Am Tag der Kalbung stieg die mittlere FFS-Konzentration bei allen Tieren signifikant an ($p < 0,01$) und überschritt die obere Grenze des Referenzbereichs von 500 $\mu\text{mol/l}$ (MEDIZINISCHE TIERKLINIK 1996). Der Konzentrationsanstieg zum Kalbetag kann auf den Geburtsstress zurückgeführt werden (GERLOFF et al. 1986; GRUMMER 1995) und stimmt mit einigen früheren Untersuchungen zum Energie-stoffwechsel überein (HARRISON et al. 1990; FÜRLL et al. 1992). Dagegen beruht die antepartale Konzentrationserhöhung der FFS bei den Tieren mit hoher Zeolithdosierung (≥ 43 g/kg T) auf die verminderte Futteraufnahme und damit verbundenen negativen Energiebilanz. Insbesondere die Tiere mit der höchsten Zeolith A-Dosierung lagen mit einer mittleren Energieaufnahme von 31,2 MJ NEL pro Tier und Tag in den letzten 14 Tagen ante partum deutlich unterhalb der Versorgungsempfehlungen der GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE (GfE 2001) (**Publikation 1**). Die Tiere mit der zweithöchsten Zeolith A-Zulage waren mit 43,9 MJ NEL/Tier/Tag ebenfalls energetisch unterversorgt (**Publikation 2**). Empfohlen wird eine Energieversorgung von 53,5 MJ NEL pro Tag in den letzten drei Wochen ante partum für eine Kuh mit einer mittleren Lebendmasse von 600 kg.

Die freien Fettsäuren, die in den Leberzellen nicht vollständig oxidiert werden, werden zu Ketonkörpern (Azetazetat, Azeton und BHB) umgewandelt, welche im Gewebe als Energiequelle dienen (SCHLERKA u. FILAR 1981; KRAFT u. DÜRR 1999). Dieser Effekt resultierte in einem signifikanten Anstieg der BHB-Konzentration im Serum der Kühe mit einer Zeolith A-Dosierung von 90 g/kg T TMR von 0,48 auf 0,69 mmol/l am Kalbetag ($p = 0,0009$) bzw. von 0,57 mmol auf 1,17 mmol/l einen Tag post partum bei den Kühen mit einer Zeolith A-Zulage von 43 g/kg T TMR ($p = 0,0152$) im Vergleich zu Versuchsbeginn. In beiden Studien überschritt die mittlere BHB-Konzentration post partum die physiologische

Grenze von 0,6 mmol/l (KRAFT u. DÜRR 1999). Allerdings war die mittlere BHB-Konzentration bei den Kühen mit der höchsten Zeolith A-Dosierung am zweiten Tag nach der Kalbung wieder niedriger, während bei den Kühen mit 43 g Zeolith A/kg T die BHB-Konzentration bis zum siebten Tag post partum noch weiter auf 2,42 mmol/l anstieg und diese Tiere damit in einem kritischen metabolischen Zustand gerieten. Einzelne Kühe zeigten BHB-Konzentrationen von über 4 mmol/l. Es musste allerdings keine Kuh aufgrund einer Ketose behandelt werden. Nach STAUFENBIEL et al. (2008) ist die obere physiologische Grenze nach der Kalbung bei 1 mmol/l anzusetzen. FILAR (1979) beschrieb eine BHB-Konzentration > 1 mmol/l als eine subklinische Ketose.

In der Dosis-Wirkungsstudie (**Publikation 2**) korrelierte die FFS-Konzentration mit der BHB-Konzentration vom Tag der Kalbung bis zum siebten Tag post partum (Tabelle 5). Im ersten Fütterungsversuch war dieser Zusammenhang nur sieben Tage nach der Kalbung ($r = 0,38$; $p = 0,011$) festzustellen.

Tabelle 5: Beziehung zwischen FFS und BHB in der Dosis-Wirkungsstudie

Tage post partum	0	1	2	7
r (Pearson)	0,46	0,46	0,58	0,46
$p < 0,0001$				

FÜRLI et al. (1992) ermittelten eine Woche post partum ebenfalls eine statistisch gesicherte Korrelation zwischen der BHB- und der FFS-Konzentration, während eine Woche ante partum kein Zusammenhang festgestellt wurde. Anhand der signifikanten Beziehung der BHB-Konzentration zur FFS-Konzentration kann der Anstieg bei den Kühen mit höherer Zeolith A-Zulage als eine Folge der negativen Energiebilanz ante partum betrachtet werden.

4.3 Einfluss von Zeolith A auf den Säure-Basen-Haushalt

Des Weiteren wurde bei den Tieren mit hoher Zeolith A-Zulage neben den genannten Energiestoffwechselfparametern im Serum auch der Säure-Basen-Haushalt post partum beeinflusst (**Publikation 2**). Die NSBA war einen Tag post partum signifikant erniedrigt im Vergleich zu Versuchsbeginn und unterschied sich sieben Tage post partum signifikant von den Tieren mit der niedrigsten Zeolith A-Dosierung und tendenziell von den Kontrolltieren. An diesem Tag korrelierte die NSBA außerdem mit der mittleren Trockensubstanzaufnahme ante partum ($r = 0,35$; $p = 0,0058$). Ein wesentlicher Einflussfaktor für die NSBA-Erniedrigung ist in der verminderten Futteraufnahme ante partum zu sehen (FÜRLI et al. 2008). Sieben Tage post partum korrelierte die NSBA auch signifikant mit der renalen K-Exkretion ($r = 0,61$; $p \leq 0,0001$), was ebenfalls aus einer verminderten Energieversorgung resultieren kann (FÜRLI et al. 2008). Dieses Resultat stimmt mit einer Untersuchung von FÜRLI et al. (1994) überein, die peripartal ebenfalls eine enge Korrelation zwischen der renalen K-Exkretion und der NSBA feststellten. Bei azidotischer Belastung werden vermehrt K^+ - gegen H^+ -Ionen zwischen Extrazellular- und Intrazellularraum ausgetauscht. Dieser Austausch kann durch eine bestehende Glykogenolyse bei kataboler Stoffwechsellage noch

verstärkt werden (FÜRLI et al. 1994). Der Einfluss des Energiestoffwechsels auf die NSBA zeigte sich auch in einem signifikanten Zusammenhang zwischen der NSBA und der BHB ($r = 0,60$; $p = 0,0173$) bei den Tieren mit hoher Zeolith A-Zulage sieben Tage post partum, während bei den anderen Tieren keine Beziehung dieser beiden Parameter vorhanden war. Da in der Regel bei der Ketogenese neben einer Erhöhung von Ketonkörpern im Blut (BHB) auch vermehrt Aceton über den Harn ausgeschieden wird, ist wahrscheinlich die Erniedrigung der NSBA sieben Tage post partum auch auf die azidifizierende Wirkung von Aceton (SCHLERKA u. FILAR, 1981) zurückzuführen.

4.4 Futteraufnahme und Milchleistung in der Folgelaktation

Obwohl die Zeolith A-Zulage in höherer Dosierung (≥ 43 g/kg T TMR) zu einer signifikanten Beeinträchtigung der Futteraufnahme ante partum führte und diese Tiere in einer ausgeprägten negativen Energiebilanz waren, zeigten sich keine Auswirkungen auf die Futteraufnahme nach der Kalbung (**Publikationen 1 und 2**). In der Dosis-Wirkungs-Studie war außerdem kein Einfluss auf die Körperkondition (BCS) festzustellen (**Publikation 2**). Während der Laktation war in allen Gruppen eine Abnahme des BCS (0,40 bis 0,48 BCS-Punkte von ca 3 Wochen ante partum bis 14 Wochen post partum) zu beobachten. Die Milchleistung sowie die Milchzusammensetzung in der folgenden Laktation blieben von der Zeolith A-Zulage unbeeinflusst. Diese Ergebnisse stimmen mit den Befunden aus der Studie von THILSING-HANSEN et al. (2002) überein. Nach einer Einmischung von 700 g Zeolith A/Tier/Tag über drei Wochen ante partum war weder eine Beeinflussung der Futteraufnahme post partum noch der Milchleistung in der folgenden Laktation zu beobachten. Da die Zeolith A-Supplementierung über einen relativ kurzen Zeitraum (ca. 3 Wochen) erfolgte, waren die Tiere scheinbar in der Lage, dieses Defizit zu kompensieren.

4.5 Einfluss von Zeolith A auf andere Mengen- und Spurenelemente

4.5.1 Mg-Stoffwechsel

In der Mg-Konzentration im Serum zeigten sich bei den Tieren mit ≥ 3 Laktationen peripartal signifikante Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen (**Publikationen 1 und 2**). Am Tag der Kalbung und einen Tag post partum lag die mittlere Mg-Konzentration bei den Kontrolltieren signifikant höher im Vergleich zu den Tieren mit einer Zeolithzulage von 90 g (**Publikation 1**) bzw. 43 g/kg T TMR (**Publikation 2**). Dieser Anstieg ist aufgrund der Hypocalcämie auf eine erhöhte PTH-Sekretion und der damit verbundenen gesteigerten 1,25-(OH)₂-D-Synthese, die eine vermehrte Freisetzung von Mg aus den Knochen sowie eine gesteigerte tubuläre Rückresorption in der Niere bewirkt, zurückzuführen (REINHARDT et al. 1988; GOFF 2006a). Die Mg-Konzentration korrelierte mit Ausnahme am Tag der Kalbung im Versuch signifikant negativ mit der Ca-Konzentration (Tabelle 6).

Tabelle 6: Korrelationskoeffizienten r (Pearson) zwischen Ca- und Mg-Konzentration im Serum (≥ 3 Laktationen)

	Kalbung	1 Tag post partum
Versuch 1	$r = -0,55; p < 0,0001$	$r = -0,38; p = 0,011$
Versuch 2	$r = 0,22; p > 0,1$	$r = -0,57; p = 0,001$

Dieses Resultat stimmt mit einer früheren Studie überein, bei der die Mg-Konzentration von Kühen im peripartalen Zeitraum ebenfalls anstieg bei gleichzeitiger Erniedrigung der Ca-Konzentration im Serum (RIOND et al. 1995). Allerdings war auch die mittlere Mg-Konzentration bei den Tieren mit einer Zeolith A-Zulage von 23 g/kg T TMR signifikant höher im Vergleich zu den Kühen mit der höheren Zeolith A-Zulage (**Publikation 2**). Während der Anstieg bei den Kontrolltieren im Vergleich zum Versuchsbeginn signifikant war ($p = 0,0003$), war dies für die mit 23 g Zeolith A/kg T supplementierten Tiere nicht statistisch gesichert ($p > 0,1$).

Eine Erniedrigung der Mg-Konzentration im Serum bei den mit 43 bzw. 90 g Zeolith A/kg T TMR supplementierten Kühen infolge verminderter Bioverfügbarkeit von alimentärem Mg war nicht zu beobachten. Da der Mg-Stoffwechsel im Vergleich zum Ca weniger stark einer homöostatischen Regulation unterliegt (ROSOL u. CAPEN 1997), müsste sich eine markante Bindung von Mg an das Zeolith im Gastrointestinaltrakt schon nach der ersten Woche der Zeolithzulage durch eine Erniedrigung im Serum erkennbar machen. Die niedrigere Mg-Konzentration am Tag der Kalbung bei den älteren Tieren mit einer Zeolith A-Zulage von 43 g/kg T TMR (**Publikation 2**) kann auch aus der verminderten Futteraufnahme ante partum resultieren. Allerdings war dieser Effekt bei den Tieren der ersten und zweiten Laktation in der gleichen Fütterungsgruppe und den Kühen mit einer Zeolith A-Zulage von 90 g/kg T TMR (**Publikation 1**) nicht zu beobachten. Des Weiteren zeigte eine Zeolith A-Zulage keinen Effekt auf die fraktionelle renale Mg-Exkretion (**Publikation 2**). Eine verminderte Bioverfügbarkeit von Mg durch Bindung an das Zeolith, würde in einer herabgesetzten renalen Ausscheidung von Mg resultieren (MARTENS 1995). Da bei allen Tiergruppen die mittlere Mg-Konzentration im Serum innerhalb des Referenzbereichs von 0,75-1,30 mmol/l (KRAFT u. DÜRR 1999) und die fraktionelle renale Mg-Ausscheidung ebenfalls im physiologischen Bereich von 3-27 % (FÜRLLL 2005) lag, ist ein negativer Einfluss von Zeolith A auf den Mg-Stoffwechsel bei den gewählten Dosierungen (≤ 90 g/kg T TMR) nicht zu erwarten. Ebenso wurde kein signifikanter Einfluss von Zeolith A auf Mg im Gastrointestinaltrakt festgestellt (**Publikation 3**).

4.5.2 Ausgewählte Spurenelemente

Da ein möglicher negativer Effekt auf die Spurenelemente, die wie Ca und Mg als bivalente Kationen vorliegen, zu erwarten war (EFSA 2004), wurden peripartal die Plasma-

konzentrationen von Cu, Zn, Mn und Fe untersucht (**Publikation 1**). Die Zeolith A-Zulage zeigte keinen Einfluss auf diese Elemente. Allerdings unterliegen Spurenelemente durch körpereigene Regelmechanismen einer Homöostase (FLACHOWSKY 2004), so dass ein kurzfristiger Mangel oft unentdeckt bleiben kann. Serumkonzentrationen können auch bei größeren Schwankungen der Spurenelementaufnahme im physiologischen Bereich bleiben (KINCAID 1999). Insbesondere bei Mn besteht kaum ein Zusammenhang zwischen der Konzentration im Plasma und der Aufnahme (KINCAID 1999). Es ist allerdings noch unklar, wie sich eine Zeolith A-Zulage über einen längeren Zeitraum auswirkt. Eine Studie mit Clinophthiololith-Gaben an Kühen über 12 Wochen zeigte keine Effekte auf den Spurenelementstoffwechsel (KATSOULOS et al. 2005a). Allerdings wurden in dieser Studie niedrige Dosierungen (≤ 250 g/Tag) eingesetzt. Da Zeolith A zur Milchfieberprophylaxe aber nur über zwei Wochen ante partum gefüttert werden soll, spielt ein möglicher Einfluss nach längerer Supplementierung nur eine untergeordnete Rolle.

4.5.3 Phosphorstoffwechsel

Der Phosphorstoffwechsel wurde insbesondere bei Dosierungen von ≥ 43 g Zeolith A/kg T TMR negativ beeinflusst (**Publikationen 1 und 2**). Bei dieser Zeolithdosierung lag die mittlere P_i -Konzentration im Serum bereits eine Woche nach Beginn der Zeolith A-Zulage deutlich unterhalb des Referenzbereiches für den peripartalen Zeitraum (1,25 bis 2,20 mmol/l, KRAFT u. DÜRR 1999). Bei den Tieren mit einer Zulage von 23 g Zeolith A/kg T TMR war die mittlere P_i -Konzentration ebenfalls erniedrigt. Allerdings lag die Konzentration bei diesen Tieren noch im Bereich der physiologischen Grenze. Schon in früheren Studien wurde nach Einmischung von Zeolith A in hohen Dosierungen (> 500 g/Tier/Tag) eine deutliche Erniedrigung der P_i -Konzentration im Blut festgestellt (THILSING-HANSEN et al. 2002, 2003; ENEMARK et al. 2003b). Diesen Ergebnissen zufolge kann eine vermehrte Sekretion von PTH, induziert durch die negative Ca-Bilanz, als ursächlicher Faktor für eine Hypophosphatämie nur eine untergeordnete Rolle spielen, da dann eine vermehrte P-Ausscheidung über die Niere zu erwarten wäre (GOFF 2000). Dies ist in der Dosis-Wirkungs-Studie allerdings nicht aufgetreten. Hier zeigten die mit 43 g Zeolith A/kg T supplementierten Kühe einen Tag nach der Kalbung sogar eine signifikant niedrigere renale P_i -Exkretion im Vergleich zu den anderen Fütterungsgruppen (**Publikation 2**). Des Weiteren war die mittlere P_i -Konzentration im Serum auch bei den jüngeren Kühen mit einer mittleren Zeolith A-Zulage von 43 g/kg T TMR signifikant niedriger im Vergleich zu den Kontrolltieren bzw. mit der niedrigsten Zeolith A-Dosierung, obwohl keine Unterschiede in der Ca-Konzentration festzustellen waren (**Publikation 2**). Während die signifikante Veränderung der Ca-Konzentration im Serum auf die peripartale hormonelle Regulation der Ca-Homöostase nach der Zeolith-induzierten negativen Calciumbilanz zurückzuführen ist, beruht die Erniedrigung der P_i -Konzentration im Serum auf eine verminderte Bioverfügbarkeit des alimentären Phosphors und ist weniger von der hormonellen Stoffwechsellage abhängig. In der Stoffwechseluntersuchung mit Fistelkühen wurde ebenfalls ein Einfluss von Zeolith A auf den P-Stoffwechsel festgestellt (**Publikation 3**). In dieser Studie

wurde Blut täglich über sieben Tage nach Beginn der Zeolith A-Zulage gewonnen, um die Dynamik der Konzentrations-erniedrigung von P_i nach einer Zeolith A-Zulage zu erfassen. Bei dieser Untersuchung zeigten die Tiere mit einer Zeolith A-Dosierung von 20 g/kg T ab dem dritten Tag signifikant niedrigere P_i -Konzentration (1,51 mmol/l) im Vergleich zur ersten Probennahme (2,05 mmol/l), die unmittelbar vor Beginn der Zeolith A-Zulage erfolgte. Am Tag 6 lag die mittlere P_i -Konzentration bei diesen Tieren mit 1,16 mmol/l am niedrigsten. Ab dem vierten Tag korrelierte die P_i -Konzentration signifikant negativ mit der mittleren Al-Aufnahme und mit der mittleren Zeolith A-Aufnahme (Tabelle 7). Am sechsten Tag nach Beginn der Zeolithfütterung bestand der engste Zusammenhang mit der mittleren Zeolith A- ($r = -0,94$; $p < 0,0001$) bzw. der mittleren Al-Aufnahme ($r = -0,84$; $p < 0,0001$).

Tabelle 7: Korrelationskoeffizienten r (Pearson) zwischen Zeolith A- bzw. Al-Aufnahme (g/Tier/Tag) und P_i -Konzentration (mmol/l) im Serum

	P_i -Konzentration				
	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7
Zeolith A-Aufnahme	-0,44	-0,79	-0,81	-0,94	-0,72
p	> 0,1	0,0023	0,0014	< 0,0001	0,0088
Al-Aufnahme	-0,60	-0,79	-0,84	-0,84	-0,50
p	0,0091	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0351

Im Vergleich zu den Fütterungsstudien an trockenstehenden Milchkühen (**Publikationen 1 und 2**) zeigten sich die negativen Effekte auf den P-Stoffwechsel im Stoffwechselforschung (**Publikation 3**) bereits bei niedrigeren Zeolith A-Gehalten in der Ration. Während in der Dosiswirkungsstudie bei einer Zeolith A-Zulage von 12 g/kg T TMR kein Effekt auf die P_i -Konzentration im Serum aufgetreten war (**Publikation 2**) und die mittlere P_i -Konzentration im Serum sich nicht von der Kontrollgruppe unterschied, lag die mittlere P_i -Konzentration bei den Kühen mit einer Zeolith A-Zulage von 10 g/kg T im Stoffwechselforschung am 5. Tag mit 1,41 mmol/l signifikant niedriger im Vergleich zum Versuchsbeginn (2,03 mmol/l), während die mittlere P_i -Konzentration bei den Kontrollkühen einen nahezu konstanten Verlauf zeigte und sich zwischen 1,74 zu Versuchsbeginn und 1,51 am Tag 7 bewegte (**Publikation 3**). Da laktierende Kühe in der Regel einen höheren P-Bedarf für die Milchproduktion haben, zeigt sich eine verminderte Bioverfügbarkeit von P bei solchen Tieren schneller als bei Trockenstehern. In den ersten beiden Studien wurde die verminderte Futteraufnahme als eine mögliche Ursache für die Erniedrigung der P_i -Konzentration diskutiert (**Publikationen 1 und 2**). Die Ergebnisse im Stoffwechselforschung (**Publikation 3**) belegen allerdings, dass der Einfluss auf den P-Stoffwechsel auf einen direkten Effekt durch Zeolith A beruht, da in dieser Studie die Futteraufnahme in allen Versuchsgruppen gleich war. Die Hypophosphatämie ist vielmehr auf die Freisetzung von Al aus dem Zeolithverband im Gastrointestinaltrakt und die Bindung mit dem alimentären Phosphat zu einer nicht resorbierbaren Verbindung zurückzuführen. Im Stoffwechselforschung wurden bei den mit Zeolith A supplementierten Kühen erhöhte Konzentrationen von freiem Al im Pansen sowie im proximalen Duodenum

gemessen. Frühere Studien zeigten nach einer Al-Supplementierung bei Wiederkäuern ebenfalls einen hemmenden Einfluss auf den Phosphorstoffwechsel (ALLEN et al. 1986; ROSA et al. 1982; VALDIVIA et al. 1982). Nach einer Zulage von Al-Citrat an laktierende Milchkühe stellten ALLEN et al. (1986) am dritten Tag signifikant niedrigere P-Konzentrationen im Serum fest.

Anhand der gemessenen freien Al-Konzentration im Pansen muss bereits im Vormagensystem bei einem pH-Wert ≥ 6 ein Teilabbau von Zeolith A stattgefunden haben. Die Konzentration des löslichen P im Pansensaft korrelierte signifikant negativ mit der mittleren Zeolith A-Aufnahme (Abbildung 3).

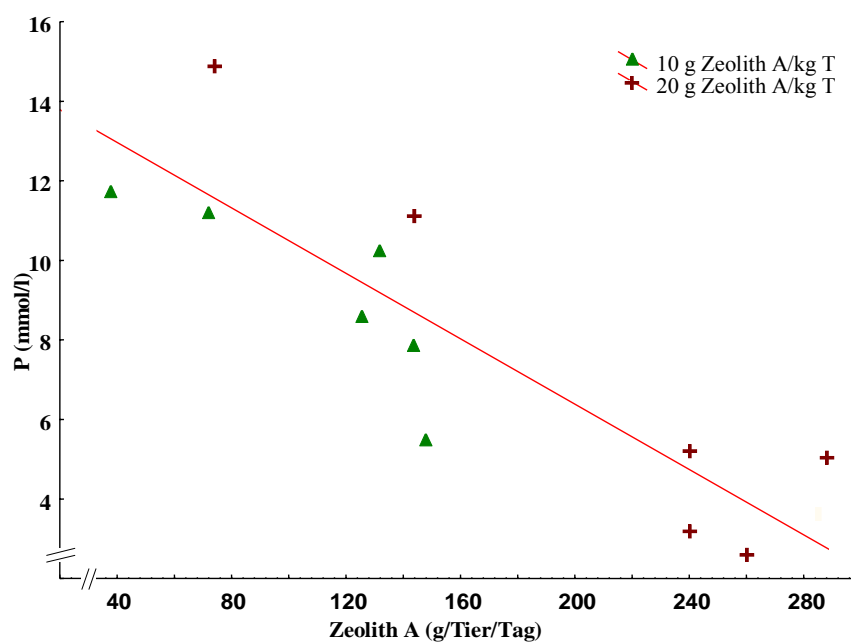


Abbildung 3: Linearer Zusammenhang zwischen der ruminalen Konzentration von löslichem Phosphor und der mittleren Zeolith A-Aufnahme ($y = 14.60 - 0.04 \cdot x$; $r^2 = 0,75$; $p = 0,0003$)

Dieser Befund stimmt nicht mit bisherigen *in vitro* Studien überein. COOK et al. (1982) stellten einen Zerfall von Zeolith A erst bei einem pH-Wert ≤ 4 fest, während bei pH-Werten von 5 bis 7 nur ein Kationenaustausch stattgefunden hat. In einer neueren Studie wurde Pansensaft mit einem pH > 7 Zeolith A zugesetzt (THILSING et al. 2006). Dort wurde nach Zeolith A-Zusatz eine Erhöhung der P-Konzentration im Pansensaft gemessen. Erst nach der Azidifizierung des Pansensaftes mit HCl zeigte sich bei einem pH-Wert < 4 eine Erniedrigung der P-Konzentration. Für diesen Unterschied gibt es bis jetzt keine Erklärung und bedarf weiterer eingehender Untersuchungen. Es ist möglich, dass sich Zeolith A *in vivo*, wo es durch die Pansenmotorik einer ständigen Reibung mit dem Raufutter unterworfen ist, hinsichtlich der Stabilität anders verhält als *in vitro* und eventuell neben dem pH-Wert noch weitere Einflussfaktoren auf die Stabilität des Zeolithgerüsts eine Rolle spielen.

Da die Phosphorabsorption in direktem Zusammenhang mit der P-Aufnahme steht (HORST 1986; CARE 1994), zeigt eine Bindung von P mit Al zu einer nicht resorbierbaren

Verbindung einen deutlichen Effekt auf den Phosphatstoffwechsel. Ein Teil der P-Absorption findet bereits im Pansen statt (BREVES et al. 1988; BEARDSWORTH et al. 1989; CARE 1994). So stellten BREVES et al. (1988) einen signifikanten Zusammenhang zwischen der ruminalen P_i -Konzentration und der Netto-Absorption fest. Daher ist schon im Pansen bei einer Zeolith A-Zulage mit einer Beeinflussung der Bioverfügbarkeit des ruminalen P zu rechnen. Allerdings macht die ruminale Absorption nur einen kleinen Anteil der gesamten P-Absorption aus (BREVES u. SCHRÖDER 1991). Die hauptsächliche Absorption findet im Dünndarm statt (BERTONI et al. 1976; CARE 1994; GOFF 2000). Hier liegt die Absorptionsrate etwa um das Dreifache höher im Vergleich zum Vormagensystem (CARE 1994). Der Fluss von löslichem P im proximalen Duodenum war zwar bei den mit 20 g Zeolith A/kg T supplementierten Tieren mit 59,2 g/Tag numerisch höher im Vergleich zur Kontrollgruppe (49,1 g/Tag), konnte allerdings statistisch nicht gesichert werden (**Publikation 3**). Der pH-Wert im Duodenalchymus betrug 2,3 bis 2,6. Dieses Resultat entspricht nicht den Ergebnissen einer früheren *in vitro* Studie von THILSING et al (2006). Dort wurde nach Zusatz von HCl in den mit Zeolith A versetzten Pansensaft eine signifikant reduzierte Konzentration des gelösten Phosphats gemessen. Allerdings war der pH mit 3,47 höher im Vergleich zur eigenen Studie. Außerdem handelte es sich bei der Studie von THILSING et al. (2006) um eine *in vitro* Untersuchung in einem geschlossenen System, was durchaus zu anderen Aussagen führen kann. Der Verlauf in den weiteren Darmabschnitten ist noch nicht geklärt. Es ist anzunehmen, dass sich mit der Erhöhung des pH-Wertes freies P mit dem aus dem Zeolithverband freigesetzten Al verbindet und somit nicht mehr resorbiert werden kann.

Die verminderte P-Absorption resultiert in einer signifikant erhöhten fäkalen Exkretion von Gesamt-P. Bei den Tieren mit einer Zeolith A-Zulage von 20 g/kg T war folglich die Verdaulichkeit des P (5,7 %) signifikant reduziert im Vergleich zur Kontrollgruppe (26,9 %) und tendentiell reduziert im Vergleich zu den Tieren mit einer Zeolith A-Zulage von 10 g/kg T (18,6 %).

Ein weiterer Hinweis für den Zerfall von Zeolith A unter Freisetzung von freiem Al im Gastrointestinaltrakt zeigt der Anstieg von Al im Serum am Tag 7 (**Publikation 3**). Es war zwar bei den Kontrolltieren ebenfalls ein signifikanter Anstieg von Al zu beobachten, aber bei den Tieren mit der höchsten Zeolith A-Dosierung war die mittlere Al-Konzentration mit 129 $\mu\text{mol/l}$ numerisch höher im Vergleich zu den Kontrolltieren, die an diesem Tag eine mittlere Al-Konzentration von 85 $\mu\text{mol/l}$ aufwiesen. Ein Teil der Konzentrationserhöhung in allen drei Gruppen kann auf den Chromoxidmarker, der Al (0,09 g/100 g) enthielt, zurückgeführt werden. Bei diesem Konzentrationsanstieg müssen allerdings noch weitere Einflussfaktoren (z.B. Al-Belastung der Silagen) eine Rolle gespielt haben, die gegenwärtig nicht bewertet werden können. THILSING et al. (2007) stellten nach einer Zeolith A-Zulage ebenfalls einen Anstieg der Al-Konzentration im Serum fest. Im Gegensatz zur eigenen Studie war dieser Effekt signifikant.

Es wird diskutiert, dass eine durch Zeolith A induzierte Hypophosphatämie zu einer Stabilisierung des peripartalen Ca-Stoffwechsels führt (THILSING-HANSEN et al. 2002,

2003; THILSING et al. 2006; PALLESEN et al. 2007; THILSING et al. 2007). Eine Hypophosphatämie kann die 1,25-(OH)₂-D-Synthese aktivieren (SCHRÖDER et al. 1990; GOFF 2006a). Allerdings geschieht dies erst bei sehr niedrigen P_i-Konzentrationen (0,3-0,6 mmol/l; GOFF 2006). Frühere Studien zeigten nach einer Phosphormangelfütterung und daraus resultierender Hypophosphatämie gleichzeitig eine Erhöhung der Calciumkonzentration im Blut (KICHURA et al. 1982; WAN ZAHARI et al. 1990; PETERSON et al. 2005). In einer neueren Studie zeigte eine Zeolith A-Zulage mit und ohne zusätzlicher P-Supplementierung in der Trockensteherfütterung bei Kühen ohne P-Supplementierung am Tag der Kalbung höhere Ca-Konzentrationen im Serum als bei Kühen mit zusätzlicher P-Supplementierung (PALLESEN et al. 2007). Allerdings hatten auch die P-supplementierten Tiere zum Zeitpunkt der Kalbung keine Hypocalcämie. Das belegt ebenso die direkte Zeolithwirkung auf den Ca-Stoffwechsel. BARTON et al. (1987) fanden nach P-Versorgung mit 70 % der Bedarfsmenge ante partum erst drei Tage nach anschließender bedarfsgerechter Fütterung post partum einen signifikanten Anstieg der Calciumkonzentration im Plasma. Allerdings lag die Phosphorkonzentration ante partum über 1 mmol/l. In den eigenen Untersuchungen lag die mittlere P_i-Konzentration bei den Kühen mit den höheren Zeolith A-Dosierungen am Tag der Kalbung bei 0,69 (90 g Zeolith A/kg T TMR, **Publikation 1**) bzw. 0,60 mmol/l (43 g Zeolith/kg T TMR, **Publikation 2**). Bei diesen Tieren wäre eine Aktivierung der 1,25-(OH)₂-D-Synthese durch die Hypophosphatämie neben der negativen Ca-Bilanz denkbar. Bei den Tieren mit einer Zeolith A-Zulage von 23 g/kg T TMR (**Publikation 2**) lag die mittlere P_i-Konzentration sowohl eine Woche ante partum als auch um die Kalbung deutlich höher (> 1 mmol/l) im Vergleich zu den Tieren mit höheren Zeolith A-Zulagen. Eine Stabilisierung des Ca-Stoffwechsels peripartal ausschließlich durch die Erniedrigung der P_i-Konzentration im Serum ist daher bei diesen Tieren eher unwahrscheinlich. Sie beruht vornehmlich auf die negative Ca-Bilanz durch die Ca-Bindung an das Zeolith. THILSING et al. (2007) stellten zwar nach Zeolith A-Zulage in Verbindung mit niedrigen P-Gehalten in der Ration eine Erhöhung der Ca-Konzentration im Plasma fest, allerdings zeigte sich in diesem Versuch auch eine gesteigerte 1,25-(OH)₂-D-Aktivität bei Kühen mit niedrigen Ca-Gehalten in der Ration ante partum im Vergleich zu den Tieren mit Ca-reicher Fütterung und gleichzeitig hohen P-Gehalten in der Ration, was auf eine Ca-bindende Wirkung von Zeolith A hindeutet.

Trotz der akuten Hypophosphatämie (bei einzelnen Kühen sogar < 0,3 mmol/l) (**Publikationen 1 und 2**) zeigten die Tiere keine klinischen Anzeichen von Motilitätsstörungen bzw. atypischer Gebärparese. Im Unterschied zu an Milchfieber erkrankten Kühen, die in der Regel neben der Hypocalcämie auch eine Hypophosphatämie aufweisen, hatten die mit Zeolith A behandelten Kühe normale Ca-Konzentrationen im Serum. Dies zeigt, dass eine Hypophosphatämie alleine nicht zum Festliegen führen muss. Diese Feststellung wurde auch schon in früheren Untersuchungen bestätigt (RADOSTIS et al. 2000; STAUFENBIEL et al. 2002).

5 Schlussfolgerung

Die Supplementierung von 20 bis 30 g Zeolith A/kg T TMR bei einem Zeolith A/Ca-Verhältnis von ca. 6:1 bis 10:1 in den letzten zwei Wochen vor der Kalbung, ist diesen Untersuchungen zufolge als geeignete Dosierung zur Vorbeugung der peripartalen Hypocalcämie bei Kühen zu empfehlen, ohne dass negative Effekte auf die Tiergesundheit zu erwarten sind. Bei einer zu erwartenden mittleren T-Aufnahme von 10 kg entspricht das einer absoluten Menge von 200 bis 300 g Zeolith A pro Tier und Tag. Aufgrund der negativen Beeinflussung der Futteraufnahme nach Einmischung von hohen Zeolith A-Mengen in die Ration und der Hypophosphatämie, wurde die zunächst empfohlene Zeolith A-Dosierung von 1000 g/Tier/Tag auf eine maximale Dosierung von 500 g/Tier/Tag herabgesetzt (EFSA 2007), welche allerdings anhand der eigenen Ergebnisse immer noch sehr hoch angesetzt ist. Niedrigere Dosierungen (< 20 g/kg T) zeigen dagegen keine erwünschten Effekte.

Da jüngere Kühe (bis 2. Abkalbung) einen plötzlich erhöhten Ca-Bedarf besser kompensieren können als ältere Tiere, ist ein prophylaktischer Einsatz von Zeolith A bei diesen Tieren nicht von Bedeutung.

Bei einer Einmischung von höheren Dosierungen (> 40 g/kg T TMR) beruht die Stabilisierung des Ca-Stoffwechsels dagegen vielmehr auf der negativen Ca-Bilanz infolge verminderter Futteraufnahme und dadurch verminderter Ca-Versorgung und weniger auf den Zusatz von Zeolith A.

Eine Zeolith A-Zulage in höheren Dosierungen (> 40 g/kg T TMR) führt zu einer unmittelbaren Beeinträchtigung der Futteraufnahme und des Energiestoffwechsels. Da der Rohaschegehalt nach Einmischung von Zeolith A signifikant erhöht ist, liegt die Ursache sehr wahrscheinlich an der daraus folgenden Beeinträchtigung der Futterqualität, welche sich insbesondere in der herabgesetzten Schmackhaftigkeit sowie in einer verminderten scheinbaren Verdaulichkeit des Futters zeigt. Durch die daraus resultierende negative Energiebilanz ante partum kommt es zu gesteigerter Lipolyse und Ketogenese, was unter Umständen eine Gefährdung für die Tiergesundheit darstellt. Bei einer Einmischung von Zeolith A in einer Dosierung von 23 g /kg T TMR (ca. 230 g/Tier/Tag) zeigte sich nur ein geringer Rückgang in der Futteraufnahme ohne Beeinflussung des Energiestoffwechsels.

Ein weiterer Faktor, der die Dosiswahl von Zeolith A limitiert, ist der negative Einfluss auf den P_i -Stoffwechsel. Durch die Instabilität von Zeolith A und dessen Zerfall im Pansen und Duodenum verbindet sich das freiwerdende Al mit dem P zu einer nicht resorbierbaren Verbindung. Dadurch sinkt die Bioverfügbarkeit des alimentären P deutlich mit der Konsequenz einer erniedrigten P_i -Konzentration im Serum nach etwa drei Tagen nach Beginn der Zeolith A-Zulage. Bei laktierenden Kühen ist dieser Effekt aufgrund eines höheren Bedarfs für die Milchproduktion deutlicher ausgeprägt, was allerdings für den praktischen

Zweck zur Vorbeugung von Milchfieber unbedeutend ist. Bei einer Einmischung von 23 g/kg T TMR ist nur eine moderate Hypophosphatämie mit P_i -Konzentrationen im Bereich der unteren Grenze des Referenzbereiches (1,25 mmol/l; KRAFT und DÜRR 1999) zu erwarten. Höhere Zeolith A-Dosierungen hingegen führten dagegen zu einer hochgradigen Hypophosphatämie mit P_i -Konzentrationen bis unter 0,3 mmol/l.

Veränderungen im Mg-Stoffwechsel sind lediglich auf eine indirekte Zeolith A-Wirkung zurückzuführen. Zum einen bleibt bei einer Stabilisierung des Calciumstoffwechsels eine mit der Hypocalcämie verbundener Erhöhung der Mg-Konzentration aus. Zum anderen resultiert eine verminderte Futteraufnahme und damit verminderte Mg-Versorgung bei Zeolith A-Zulagen in höheren Dosierungen in einer geringgradigen Erniedrigung von Mg im Serum. Da aber in den gewählten Dosierungen die Mg-Konzentrationen im Serum im physiologischen Bereich lagen, ist keine Gefahr einer Hypomagnesämie zu erwarten.

Ein negativer Einfluss auf bestimmte Spurenelemente ist bei einer Zeolith A-Supplementierung über einen Zeitraum von drei Wochen nicht aufgetreten. Ob es sich hier um vorübergehende Kompensationsmechanismen handelt müsste in weiteren Studien untersucht werden.

Da die verminderte Futteraufnahme ante partum auf einen relativ kurzen Zeitraum beschränkt war, war keine Beeinträchtigung der Körperkondition festzustellen. Die Tiere waren in der Lage, das Energiedefizit so zu kompensieren, dass kein Einfluss auf die Futteraufnahme und die Laktationsleistung in der folgenden Laktation auftrat.

6 Zusammenfassung

Hilde Grabherr

„Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme, den Mineralstoff- und Energiestoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie auf die Nährstoffverdaulichkeit bei Milchkühen“

Medizinische Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig und Institut für Tierernährung, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Braunschweig

107 Seiten, 24 Abbildungen, 29 Tabellen, 148 Literaturangaben

Die hypocalcämische Gebärparese, insbesondere die subklinische Hypocalcämie, die oft nicht erkannt wird und Ursache vieler sekundär auftretender Folgeerkrankungen ist, stellt in der intensiven Milchviehhaltung ein bedeutendes Problem dar. Inzwischen gibt es eine Reihe verschiedener Vorbeugungsstrategien, wobei der Einsatz von Zeolith A als Ca-Binder in der Ration gegen Ende der Trächtigkeit eine relativ neue Präventionsmöglichkeit darstellt. Da zu diesem Futterzusatzstoff noch wenige Untersuchungen, insbesondere auf Nebeneffekte vorliegen, war das Ziel dieser Studien, den Einfluss von Zeolith A in verschiedenen Dosierungen auf die Futteraufnahme, den Energiestoffwechsel, die Futterverdaulichkeit und den Ca-, Mg- und P-Stoffwechsel sowie in hohen Dosierungen auch auf den Spurenelementstoffwechsel zu untersuchen. Des Weiteren sollte untersucht werden, wie sich Zeolith A im Verdauungstrakt hinsichtlich der Freisetzung von Al verhält. In einer ersten Studie an 46 Kühen (≥ 3 . Laktation), die in zwei Gruppen unterteilt wurden, wurde Zeolith A in einer Dosierung von 90 g/kg Trockensubstanz (T) in den letzten 2 Wochen der Trächtigkeit bis zum Kalbetag in eine totale Mischration (TMR), welche zur freien Aufnahme vorgelegt wurde, eingemischt. Die Zeolith A-Zulage ante partum zeigte peripartal eine stabilisierende Wirkung auf die Ca-Konzentration im Serum (> 2 mmol/l). Der Rückgang der Häufigkeit der Hypocalcämie (< 2 mmol/l) am Tag der Kalbung lag bei 76 %. Die mittlere Mg-Konzentration im Serum war bei den Kontrolltieren am Tag der Kalbung und 1 Tag post partum signifikant höher im Vergleich zu den Tieren der Versuchsgruppe, lag aber in beiden Gruppen im physiologischen Bereich (0,75-1,30 mmol/l). Auf die Spurenelementkonzentrationen (Cu, Zn, Mn und Fe) im Plasma wurde kein Zeolith A-Effekt festgestellt. Allerdings zeigten die Zeolith A-supplementierten Kühe ante partum einen signifikanten Rückgang in der Futteraufnahme, welche in einer negativen Energiebilanz mit einem signifikanten Anstieg der freien Fettsäuren und des Beta-Hydroxybutyrats im Serum resultierte. Dieser Effekt hatte allerdings keine Auswirkung auf die Futteraufnahme post partum und auf die Milchleistung in den ersten 105 Tagen der Folgelaktation. Des Weiteren war die mittlere Konzentration des anorganischen Phosphats (P_i) bereits 7 Tage nach Beginn der Zeolith A-Zulage signifikant niedriger im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe und lag bis zum Tag der Kalbung deutlich unter der unteren physiologischen Grenze von 1,25 mmol/l. Die

zweite Studie war ein Dosis-Wirkungsversuch an 80 Milchkühen (1.-7. Laktation) mit verschiedenen Zeolith A-Dosierungen (0, 12, 23 bzw. 43 g Zeolith A/kg T TMR). Dazu wurden die Tiere ca. 4 Wochen ante partum in 4 Gruppen und für die Untersuchung des Mineralstoffwechsel noch in zwei Untergruppen (1. + 2. Laktation bzw. ≥ 3 . Laktation) unterteilt. Die Tiere erhielten eine TMR ad libitum vorgelegt. In den letzten zwei Wochen erhielten die Tiere Zeolith A in die Ration eingemischt. Eine Einmischung von 43 g Zeolith A/kg T TMR zeigte auf den Ca-, Mg- und P_i -Stoffwechsel sowie auf die Futteraufnahme und den Energiestoffwechsel vergleichbare Effekte wie in der ersten Studie bei einer Zulage von 90 g/kg T TMR. Eine Zeolith A-Zulage von 23 g/kg T TMR bei einem Zeolith A/Ca-Verhältnis von 5,6:1 hatte ebenfalls noch einen stabilisierenden Effekt auf den peripartalen Ca-Stoffwechsel (> 2 mmol/l) bei Kühen ≥ 3 . Laktation, jedoch ohne markanten Rückgang in der Futteraufnahme. In dieser Tiergruppe war ein Rückgang der Häufigkeit der Hypocalcämie um 71 % zu verzeichnen. Diese Tiere zeigten auch nur eine moderate Hypophosphatämie. Eine Zeolith A-Zulage von 12 g/kg T TMR zeigte dagegen keine Effekte.

In einem Stoffwechselversuch an 8 doppelt fistulierten Milchkühen (Pansen und proximales Duodenum) wurde schließlich der Einfluss von Zeolith A auf verdauungsphysiologische Parameter und den Mineralstoffwechsel, insbesondere des Phosphors im Verdauungstrakt, sowie auf die Freisetzung von Al aus dem Zeolithverband untersucht. Die Tiere erhielten Mais- und Grassilage und Kraftfutter. Es wurde 0, 10 bzw. 20 g Zeolith A/kg T über einen Zeitraum von 3 Wochen mit dem Kraftfutter verabreicht. Eine Zeolith A-Zulage führte zu einer signifikant reduzierten scheinbaren ruminalen Verdaulichkeit der T sowie der ruminal fermentierten organischen Substanz. Allerdings waren in der fäkalen Ausscheidung der Nährstoffe keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen festzustellen. Es zeigte sich kein Effekt auf die Ca- und Mg-Verdauung. Dagegen korrelierte die Konzentration des löslichen P im Pansen signifikant negativ mit der mittleren Zeolith A-Aufnahme. Des Weiteren hatten die Kühe mit einer Zeolith A-Zulage von 20 g/kg T eine signifikant höhere fäkale Ausscheidung des Gesamtphosphors im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe. Die herabgesetzte Bioverfügbarkeit von P resultierte in einer signifikant erniedrigten P_i -Konzentration im Serum. Gleichzeitig war eine signifikant erhöhte Konzentration des gelösten Al im Pansen und ein signifikant höherer Fluss des gelösten Al im Duodenum festgestellt worden was auf eine Instabilität des Zeolithverbands beruht.

Da eine Zeolith A-Dosierung von 12 g/kg T keinen Effekt auf den Ca-Stoffwechsel und eine Dosierung 43 g/kg T unerwünschte Effekte zeigte kann anhand dieser Untersuchungen geschlussfolgert werden, dass eine Einmischung in einem Bereich von 20 bis 30 g Zeolith A/kg T TMR, was bei einer mittleren täglichen T-Aufnahme von 10 kg ca. 200 bis 300 g Zeolith A/Tier/Tag entspricht, bei einem Zeolith A/Ca-Verhältnis von 6 bis 10:1 in der Ration in den letzten 2 Wochen der Trächtigkeit zur Vorbeugung der peripartalen Hypocalcämie zu empfehlen ist, ohne dass negative Effekte auf die Tiergesundheit zu erwarten sind.

7 Summary

Hilde Grabherr

„Influence of zeolite A on feed intake, mineral and energy metabolism around calving as well as on digestibility of nutrients of dairy cows”

Large Animal Clinic for Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig and Institute of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI), Federal Research Institute for Animal Health, Braunschweig

107 pages, 24 figures, 29 tables, 148 references

Parturient paresis is known to be a frequent problem in high-yielding dairy cows. Subclinical hypocalcemia around calving is especially of particular importance, because it often remains undetected and may cause secondary diseases. In practice different preventive methods have been established, whereas feeding of zeolite A (synthetic sodium-aluminium-silicate) as a calcium binder in the last two weeks of pregnancy is a new strategy to prevent parturient hypocalcemia. However, there exists only little information about side effects of zeolite addition. The aim of this study was to investigate the influence of zeolite A, in several doses, on feed intake, energy metabolism, nutrient digestibility, as well as on calcium (Ca), magnesium (Mg) and phosphorus (P) metabolism, and in high doses on trace element metabolism. Further, it was to investigate the mechanism of zeolite A in the gastrointestinal tract, focused on releasing aluminium (Al). In a first study with 46 cows ($\geq 3^{\text{rd}}$ lactation) zeolite A was tested in a dose of 90 g/kg dry matter (DM) in the last two weeks of pregnancy. Therefore the cows were divided in two groups (control and zeolite supplemented group). All cows were fed a total mixed ration (TMR) ad libitum. The supplementation of zeolite A had a stabilising effect on Ca concentration in serum (> 2 mmol/l) around calving. The reduction of the hypocalcemia incidence (< 2 mmol/l) was 76 % on the day of calving. The Mg-concentration in serum was significantly higher for the cows without zeolite A supplementation compared to the cows of the experimental group on the day of calving and on the day after calving. However, the mean serum Mg concentration stayed in the physiological range (0.75-1.30 mmol/l) for both groups. No significant effect of the zeolite A supplementation was observed on the mean plasma concentration of trace elements (copper, zinc, manganese, iron). However, the zeolite A supplementation led to a significantly reduced feed intake ante partum, which resulted in a negative energy balance. Furthermore, non esterified fatty acid and beta-hydroxybutyrate in serum were increased significantly. However, no significant differences were observed in feed intake post partum as well as in milk yield in the first 105 days in the subsequent lactation between the two groups. Furthermore, zeolite A supplementation decreased significantly the concentration of inorganic phosphate (P_i) in serum. Seven days after beginning zeolite A supplementation, on the day of

calving, the mean P_i -concentration was considerably below the physiological limit of 1.25 mmol/l. In the second study, zeolite A was tested in several lower doses. Therefore 80 dairy cows (1st – 7th lactation) were divided into four groups in the last 4 weeks of pregnancy. Additionally, the cows of each group were divided in two subgroups (1st + 2nd lactation and \geq 3rd lactation) to determine the influence of zeolite A on mineral metabolism. All animals were fed a TMR ad libitum. In the last two weeks the cows received a daily dose of 0, 12, 23 and 43 g zeolite A/kg DM. Zeolite A supplementation of 43 g/kg DM showed comparable effects on Ca, Mg, and P_i metabolism, as well as on feed intake and energy metabolism as in the first study. For older cows ($>$ 3rd lactation), supplementation of 23 g zeolite A/kg DM, and a zeolite A-Ca ratio of 5.6:1 resulted also in a stabilising effect on Ca metabolism ($>$ 2 mmol/l) around calving without significant reduction of feed intake. The incidence of hypocalcemia was reduced by 71 %. The cows showed only a moderate hypophosphatemia. A zeolite A supplementation of 12 g did not have any preventive effects. In a metabolic-study with eight double fistulated dairy cows (rumen and proximal duodenum), the influence of zeolite A supplementation on several physiological parameters of digestion and on mineral metabolism, especially P in the rumino-intestinal-tract, was determined. Further releasing of Al from the zeolite structure was investigated. The cows were fed a maize/grass-silage (60:40 % based on DM) and concentrate. Several doses of zeolite A (0, 10 and 20 g/kg DM) were added to the concentrate over a period of three weeks. Zeolite A supplementation resulted in a significantly reduced ruminal digestibility of dry matter (DM) and fermentation of organic matter. No effect was observed on faecal digestion of DM and OM. Digestion of Ca and Mg in the rumino-intestinal tract was not influenced by zeolite A supplementation. However, the concentration of soluble P in rumen fluid correlated negatively with the mean zeolite A intake. The faecal excretion of total P increased significantly for cows with a zeolite A dose of 20 g/kg DM compared to the control group. The reduced bioavailability of P resulted in a significantly decreased concentration of P_i in serum. The zeolite A supplemented cows further showed a significantly higher concentration of soluble Al in rumen fluid as well as a significantly higher flow of soluble Al at the duodenum, which is a consequence of an instability of the zeolite structure.

According to these results it can be concluded that a daily amount of 20 to 30 g zeolite A/kg DM, which complies a daily amount of 200 to 300 g zeolite A/cow at a daily DM intake of 10 kg, with a zeolite-Ca ratio of 6–10 to 1, for two weeks ante partum seems to be an adequate dose for reducing subclinical hypocalcemia in older cows without negative side effects on animal health. At an expected daily mean DM intake of 10 kg it is a daily amount of 200 to 300 g zeolite A/cow. A zeolite dose of 12 g/kg DM did not have any effect on Ca metabolism, and a dose of 43g/kg DM showed negative side effects.

8 Literaturverzeichnis

Allen VG. Influence of dietary aluminium on nutrient utilization in ruminants. *J Anim Sci.* 1984; 59: 836–46.

Allen VG, Horn FP, Fontenot JP. Influence of ingestion of aluminium, citric acid and soil on mineral metabolism of lactating beef cows. *J Anim Sci.* 1986; 62: 1396-403.

Allen WM, Davies DC. Milk fever, hypomagnesaemia and the 'downer cow' syndrome. *Brit Vet J.* 1981; 137: 435-41.

Barton BA, Horst RL, Jorgensen NA, DeLuca HF. Concentration of calcium, phosphorus, and 1,25-dihydroxyvitamin D in plasma of dairy cows during the lactation cycle. *J Dairy Sci.* 1981; 64: 850-2.

Barton BA, Jorgensen NA, DeLuca HF. Impact of prepartum dietary phosphorus intake on calcium homeostasis at parturition. *J Dairy Sci.* 1987; 70: 1186-91.

Bauman DE, Vernon RG. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Ann Rev Nutr.* 1993; 13: 437-61.

Beardsworth LJ, Beardsworth PM, Care AD. The effect of ruminal phosphate concentration on the the absorption of calcium, phosphorus and magnesium frpm the reticulo-rumen of the sheep. *Brit J Nutr.* 1989; 61: 715-23.

Bertics SJ, Grummer RR, Cadorniga-Valino C, Stoddard EE. Effects of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J Dairy Sci.* 1992; 75: 1914-22.

Bertoni G, Watson MJ, Savage GD, Armstrong DG. The movement of minerals in the digestive tract of dry and lactating Jersey dairy cows. 1. Net movements of Ca, P, Mg, Na, K and Cl. *Zoot Nutr Anim.* 1976; 2: 107-18.

Beyer M, Chudy A, Hoffmann L, Jentsch W, Laube W, Nehring K, Schiemann R (ed.). Rostock feed evaluation system. Reference numbers of feed value and requirement on the base of net energy. Frankfurt: Plexus Verlag; 2003

Bigras-Poulin M, Tremblay A. An epidemiology study of calcium metabolism in non paretic postparturient cows. *Prev Vet Med.* 1998; 35: 195-207.

Block E. Manipulation of dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J Dairy Sci.* 1984; 67: 2939-48.

Block E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 1437-50.

Boda JM, Cole HH. The influence of dietary calcium and phosphorus on the incidence of milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 1954; 37: 360-71.

Bosi P, Creston D, Casini L. Production performance of dairy cows after the dietary addition of clinoptilolite. *Ital J Anim Sci.* 2002; 1: 187-95.

Breck DW. *Zeolite Molecular Sieves.* 9. Aufl. New York/London/Sydney/Toronto: Verlag John Wiley and Sons; 1974.

Breves G, Holler H, Packheiser P, Gäbel G, Martens H. Flux of inorganic phosphate across the sheep rumen wall in vivo and in vitro. *Q J Exp Physiol.* 1988; 73: 343-51.

Breves G, Ross R, Höller H. Dietary phosphorus depletion in sheep: effects on plasma inorganic phosphorus, calcium, 1,25(OH)₂-vitD₃ and alkaline phosphatase and on gastrointestinal P and Ca balances. *J Agric Sci Camb.* 1985; 105: 623–9.

Breves G, Schröder B. Comparative aspects of gastrointestinal phosphorus metabolism. *Nutr Res Rev.* 1991; 4: 125-40.

Bronner F. Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. *J Nutr.* 1987; 117: 1347-52.

Call JW, Butcher JE, Shupe JL, Blake JT, Olsen AE. Dietary phosphorus for beef cows. *Am J Vet Res.* 1986; 47: 475–81.

Call JW, Butcher JE, Shupe JL, Lamb RC, Bowman RL, Olson AE. Clinical effects of low dietary phosphorus concentrations in feed given to lactating dairy cows. *Am J Vet Res.* 1987; 48: 133–6.

Care AD. The absorption of phosphate from the digestive tract of ruminant animals. *Br Vet J.* 1994; 150: 197-205.

Chan PS, West JW, Bernard JK. Effekt of parturition dietary calcium on intake and serum and urinary mineral concentration of cows. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 704-13.

Charbonneau E, Pellerin D, Oetzel GR. Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 537-548.

Cook TE, Cilley WA, Savitsky AC, Wiers BH. Zeolite A hydrolysis and degradation. *Environ Sci Technol.* 1982; 16: 344-50.

Cronstedt, AF. Roch och beskrifning om en obekant bärg art, som kallas zeolites. Stockholm: Acad Handl. 1756; 18: 120-30.

Curtis CR, Erb FN, Sniffen CJ, Smith RD. Epidemiology of parturient paresis: predisposing factors with emphasis on dry cow feeding and management. *J Dairy Sci.* 1984; 67: 817-25.

Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Powers PA, Smith MC, White ME, Hillman RB, Pearson EJ. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *JAVMA.* 1983; 183: 559-61.

DesCoteaux L, Krainock R, Lissemore K. Evaluation of new diagnostic tests to predict hypocalcemia in mature dairy cows. *Bovine Pract.* 1997; 30: 186-7.

Drackley JK. Transition cow management and periparturient metabolic disorders. In: Recent developments and perspectives in bovine medicine. Kaske M, Scholz H, Höltershinken M (Hrsg). Keynote Lectures. Hannover: 18-23.08.2002; Hildesheimer Druck- und Verlags-GmbH; pp. 224-33.

Drackley JK, Overton TR, Douglas GN. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J Dairy Sci.* 2001; 84 (Suppl): 100-12.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Wiebster G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 1989; 72: 68-78.

EFSA/FEEDAP. Opinion of the scientific panel on additives and products or substances used in animal feed on the request from the commission on the use of the use of synthetic sodium aluminium silicate (zeolite) for the reduction of risk of milk fever in dairy cows. *EFSA-Journal.* 2004; 160: 1-11.

EFSA/FEEDAP. Opinion of the scientific panel on additives and products or substances used in animal feed on the safety of zeolite (sodium aluminosilicate, synthetic) for the reduction of risk of milk fever in dairy cows. *EFSA-Journal.* 2007; 523: 1-11.

Enemark JMD, Kirketerp CN, Jørgensen RJ. Effect of prepartum zeolite A supplementation on renal calcium excretion in dairy cows around calving and evaluation of a field test kit for monitoring it. *Acta Vet Scand.* 2003a; 97: 119-36.

Enemark JMD, Spangaard Frandsen AM, Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ. Aspects of physiological effects of sodium zeolite A supplementation in dry, non-pregnant dairy cows fed grass silage. *Acta Vet Scand.* 2003b; 97: 97-117.

Etherthon TE, Baumann DE. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol Rev.* 1998; 78: 745-61.

Filar J. Über den Gehalt an β -Hydroxybutyrat, Azetazetat und Azeton im Blut von gesunden und an Ketose erkrankten Kühen. *Wien Tierärztl Monatsschr.* 1979; 66: 377-80.

Flachowsky G: Spurenelemente In: *Physiologie der Haustiere.* Engelhardt v W, Breves G (Hrsg). 2. Aufl. Stuttgart: Enke-Verlag; 2004. pp. 628–37.

Fürll, M. Diagnostik und Therapie chronischer Störungen des Säure-Basen-Haushaltes (SBH) bei Rindern. *Prakt Tierarzt.* 1993; 75: coll. et. XXIV: 49-54.

Fürll M. Eine Herausforderung für den Tierarzt: Das Fettmobilisationssyndrom. *Großtierpraxis.* 2000; 11: 24–34.

Fürll M. Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.* Kraft W, Dürr UM (Hrsg.). 6. Aufl. Stuttgart/New York: Schattauer-Verlag; 2005. pp. 444–71.

Fürll M, Deckert W, Schäfer M, Wehlitz A. Lipolyse und Ketogenese bei Milchkühen - Beobachtungen im Laktationsverlauf. *Monatsh Veterinärmed.* 1992; 47: 119-24.

Fürll M, Eckermann W, Amin M. Säure-Basen- und Mineralstoff-Haushalt bei gesunden Kühen im geburtsnahen Zeitraum. *Tierärztl Umschau.* 1994; 49: 107-15.

Fürll M, Eckermann W, Amin M, Schäfer M. Mineralstoff- und Säure-Basen-Haushalt bei gesunden Kühen im peripartalen Zeitraum. *Proceedings 11. Arbeitstagung Mengen- und Spurenelemente, Leipzig;* 1991. pp. 438-45.

Fürll M, Jäkel L, Bauerfeld J, Groppe B. Gebärpareseprophylaxe mit „Anionenrationen“ *Prakt Tierarzt.* 1996; coll. Vet. XXVI: 31-4.

Fürll M, Kirbach H, Everts Ch, Hädrich G, Kricziokat J, Wittek Th. NSBA – wie optimal bei Bestandsbetreuung nutzen? 7. Berlin-Brandenburgischer Rindertag, 9 – 11 Oktober 2008. pp. 226-9.

Fürll M, Oetzel R, Schoon HA. The influence of various calcium chloride formulations on blood calcium levels and calcium excretion in the urine, as well as the tolerance of cows to the formulations. Proc. XX. World Buiatric Conference, Sydney; 1998. pp. 143-6.

Gartner RJW, Murphy GM, Hoey WA. Effects of induced, subclinical phosphorus deficiency on feed intake and growth in heifers. J Agric Sci. 1982; 98: 23–9.

Gaynor PJ, Mueller FJ, Miller JK, Ramsey H. Parturient hypocalcemia in jersey cows fed alfalfa haylage-based diets with different cation to anion ratios. J Dairy Sci. 1989; 2: 2525-31.

Gerloff BJ, Herdt TH, Emery RS. Relationship of hepatic lipidosis on health and performance in dairy cattle. J Am Vet Med Assoc. 1986; 188: 845-50.

Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder Nr. 8 Frankfurt am Main: DLG-Verlag; 2001.

Goff, JP. Phosphorus deficiency. In: Current veterinary therapy. Howard JL, Smith RA (Hrsg.). Philadelphia: Verlag WB Saunders und Co; 1998. pp. 218-20.

Goff JP. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2000; 16: 319-37.

Goff JP. Macromineral disorders of the transition cow. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2004; 20: 471-94.

Goff JP. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. Anim Feed Sci Technol. 2006a; 126: 237–57.

Goff JP. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health J Dairy Sci. 2006b; 89: 1292–301.

Goff JP, Horst RL. Effect of subcutaneously released 24F-1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on incidence of parturient paresis in dairy cows. J Dairy Sci. 1990; 73: 406-12.

Goff JP, Horst RL. Oral administration of Ca salts for treatment of hypocalcemia in cattle J Dairy Sci. 1993; 76: 101-8.

Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. J Dairy Sci. 1997; 80: 1260–68.

Goff JP, Horst RL, Jardon PW, Borelli C, Wedam J. Field trials of an oral calcium propionate paste as an aid to prevent milk fever in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 1996; 79: 378-83.

Goff JP, Horst RL, Mueller FJ, Miller JK, Kiess GA, Dowlen HH. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin d response to hypocalcemia preventing milk fever. *J Dairy Sci.* 1991a; 74: 3863-71.

Goff JP, Horst RL, Reinhardt TA. The pathophysiology and prevention of milk fever. *Vet Med Lenaxa Kan.* 1987; 82: 943 –50.

Goff JP, Reinhardt TA, Beitz DC, Horst RL. Breed affects tissue vitamin D receptor concentration in periparturient dairy cows: a milk fever risk factor? *J Dairy Sci.* 1995; 78 (Suppl 1): 184 (Abstr.).

Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL. Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fewer cows. *J Dairy Sci.* 1991b; 74: 4022-32.

Goings RL, Jacobson NL, Beitz DC, Littledike ET, Wiggers KD. Prevention of parturient paresis by a prepartum, calcium-deficient diet. *J Dairy Sci.* 1974; 57: 1184-8.

Green HB, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET. Vitamin D metabolites in plasma of cows fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. *J Dairy Sci.* 1981; 64: 217-26.

Gröhn YT, Erb HN, McCulloch CE, Saloniemi HS. Epidemiology of metabolic disorders in dairy cattle: Association among host characteristics, disease, and production. *J Dairy Sci.* 1989; 72: 1876-85.

Grummer RR. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 1993; 76: 3882-96.

Grummer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci.* 1995; 73: 2820-33.

Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J Dairy Sci.* 1990; 73: 2749-58.

Heuer C, Schukken YH, Dobbelaar P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J Dairy Sci.* 1999; 82: 295-304.

Hörügel U, Fürll M. Untersuchungen zur Früherkennung der Gebärparesegefährdung bei Kühen. *Prakt Tierarzt.* 1998; XXVI: 86-92.

Horst RL. Regulation of Calcium and Phosphorus Homeostasis in the Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 1986; 69: 604-16.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. *Endocrinology.* 1990; 126: 1053-57.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Calcium and vitamin D metabolism in dairy cows with special emphasis on parturient paresis. *Proceedings VIII. International Congress on Production Diseases, Bern; 1992, pp. 159-71.*

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 1936-51.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Role of vitamin D in calcium homeostasis and its use in prevention of bovine periparturient paresis. *Acta Vet Scand Suppl.* 2003; 97: 35-50.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 1997; 80: 1269-80.

Houe H, Østergard S, Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Larsen T, Sørensen JT, Agger JF, Blom JY. Milk fever and subclinical hypocalcaemia – An evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta vet Scand.* 2001; 42: 1-29.

Hove K. Cyclic changes in plasma calcium and the calcium homeostatic endocrine system of the postparturient dairy cow. *J Dairy Sci.* 1986; 69: 2072-82.

Hove K, Kristiansen T. Oral 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ in prevention of milk fever. *Acta Vet Scand.* 1984; 25: 510-25.

Johnson MA, Sweeney TF, Muller LD. Effects of feeding synthetic zeolite A and sodium bicarbonate on milk production nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1988; 71: 946-53.

Jonsson NN. The effects of subclinical hypocalcemia on postpartum fertility. *Cattle practice*. 1999; 7: 255-60.

Jørgensen RJ, Hansen T, Jensen ML, Thilsing-Hansen T. Effect of oral drenching with zinc oxide or synthetic zeolite A on total blood calcium in dairy cows. *J Dairy Sci*. 2001; 84: 609-13.

Kamphues J. Das DCAB-Konzept in der Gebärpareseprophylaxe. *Übers Tierern*. 1996; 24: 129-35.

Katsoulos PD, Roubies N, Panousis N, Karatzias H. Effects of long-term feeding dairy cows on a diet supplemented with clinoptilolite on certain serum trace elements. *Biol Trace Elem Res*. 2005a ; 108: 137-45.

Katsoulos PD, Roubies N, Panousis N, Arsenos G, Christaki E, Karatzias H. Effects of long-term dietary supplementation with clinoptilolite on incidence of parturient paresis and serum concentrations of total calcium, phosphate, magnesium, potassium, and sodium in dairy cows. *Am J Vet Res*. 2005b; 66: 2081-5.

Kichura TS, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET. Relationship between Peripartal Dietary Calcium and Phosphorus, Vitamin D Metabolism, and Parturient Paresis in Dairy Cows. *J Nutr*. 1982; 112: 480-7.

Kincaid RL. Assessment of trace mineral status of ruminants. *Proc Am Soc Anim Sci*. 1999; 253 (Abstr.).

Kincaid RL, Hillers JK, Cronrath JD. Calcium and phosphorus supplementation of rations for lactating cows. *J Dairy Sci*. 1981; 64: 754-8.

Komisarczuk S, Merry RJ, McAllan AB. Effect of different levels of phosphorus on rumen microbial fermentation and synthesis determined using a continuous culture technique. *Brit J Nutr*. 1987; 51: 279-90.

Kraft W, Dürr UM (Hrsg.). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 5. Aufl. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag; 1999.

Kutas F. Determination of Net Acid-Base Excretion in the Urine of Cattle. *Acta Vet Acad Sci Hung*. 1965; 15: 147-53.

Lachmann G. Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der alimentären metabolischen Azidose des Rindes. [Habilschr. med. vet]. Leipzig: Univ Leipzig, Sektion Tierprod u Veterinärmed. 1981.

Littledike ET, Horst RL. Inappropriate plasma 1,25-(OH)₂D response to parturient hypocalcemia in cows treated with vitamin D₃, 1,25-(OH)₂D₃, or 1,25,26-(OH)₃D₃ prepartum. In: Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical endocrinology of calcium metabolism. Schaefer K, Herrath DV, Grigoleit HV (Hrsg). Berlin: Verlag DeGruyter W. 1982, pp. 475-7.

Littledike ET, Young JW, Beitz DC. Common metabolic diseases of cattle: ketosis, milk fever, grass tetany, and downer cow complex. J Dairy Sci. 1981; 64:1465-82.

Malz C, Meyer C. Neue Aspekte zur Pathogenese und Therapie der hypocalcämischen Gebärparese. Prakt Tierarzt. 1992; 73: 507-15.

Martens H. Die Konzentration von Mineralstoffen im Plasma von Wiederkäuern: Geeigneter Parameter zur Beurteilung der Mineralstoffversorgung? Tierärztl Umschau. 1995; 50: 321-6.

Martig J. Hypocalcämische Gebärlähmung. In: Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. Dirksen G, Gründer HD, Stöber M (Hrsg). 4. Aufl. Berlin/Wien: Paul Parey Buchverlag im Blackwell Verlag GmbH; 2002. pp. 1245-54.

Miazzo R, Rosa CAR, DeQueiroz Carvalho EC, Magnoli, C, Chiacchiera, S M, Palacio, G, Saenz, M, Kikot, A, Basaldella, E, Dalcero, A. Environment and health: Efficacy of synthetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. Poult Sci. 2000; 79:1-6.

Moore SJ, Vandehaar MJ, Sharma BK, Pilbeam TE, Beede DK, Bulcholtz HF, Liesman JS, Horst RL, Goff JP. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. J Dairy Sci. 2000; 83: 2095–104.

Oetzel GR. Parturient paresis and hypocalcemia in ruminant livestock. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 1988; 4: 351-364.

Oetzel GR. Meta-analysis of nutritional risk factors for milk fever in dairy cattle. J Dairy Sci. 1991; 74: 3900-12.

Oetzel GR. Effects of prophylactic treatment with calcium chloride gel on serum calcium concentration at calving, milk fever, and displaced abomasum in Holstein cows. J Dairy Sci. 1993; 76 (Suppl 1): 304 (Abstr).

Oetzel GR. Management of dry cows for the preventing milk fever and other mineral disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2000; 16: 369-86.

Oetzel R, Schoon HA, Füll M. Einfluss unterschiedlicher Calcium- Chlorid-Formulierungen auf den Calcium-Blutspiegel und die Ca- Ausscheidung mit dem Harn sowie die Verträglichkeit bei Kühen. Stoffwechselbelastung, -diagnostik und -stabilisierung beim Rind. Leipziger Samstagsakademie Medizinische Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig 1998, pp. 72-80.

Pallesen A, Pallesen F, Jørgensen, RJ, Thilising T. Effect of pre-calving zeolite, magnesium and phosphorus supplementation on periparturient serum mineral concentrations. *Vet J.* 2007; doi: 10.1016/j.tvjl. 2007.01.007.

Pehrson B, Svensson C, Jonnson M. A comparative study of the effectiveness of calcium propionate and calcium chloride for the prevention of parturient paresis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1998; 81: 2011-6.

Peterson AB, Orth MW, Goff JP, Beede DK. Periparturient responses of multiparous Holstein cows fed different dietary phosphorus concentrations prepartum. *J Dairy Sci.* 2005; 88: 3582-94.

Pfeffer E, Pauen A, Haverkamp R. Changes in retention of P and Ca and courses of blood plasma concentrations of inorganic phosphate and calcium in dairy goats following a change in P supply from reduced to adequate in combination with adequate or high Ca intake. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 1993; 69: 22-8.

Pond WG. Effects of dietary protein level and clinoptilolite on the weight gain and liver mineral response of growing lambs to copper supplementation. *J Anim Sci.* 1989; 67: 2772-81.

Pond WG, Laurent SM, Orloff HD. Effect of dietary clinoptilolite or zeolite Na-A on body weight gain and feed utilization of growing lambs fed urea or intact protein as a nitrogen supplement. *Zeolites.* 1984; 4: 127-32.

Pond WG, Yen JT. Physiological effects of clinoptilolite and synthetic zeolite A in animals. In: *Zeo-agriculture use of natural zeolites in agriculture and aquaculture.* Pond WG, Mumpton FA (Hrsg.). 1. Aufl. Colorado: Westview Press Boulder; 1984. pp. 127-42.

Radostis OM, Gay CG, Blood DC, Hinchcliff KW. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.* 9. Aufl. London: Verlag Saunders WB; 2000. 1420-35.

Reinhardt TA, Horst RL, Goff JP. Calcium, phosphorus and magnesium homeostasis in ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1988; 4: 331-50.

Richtlinie 2008/4/EG der Kommission vom 9 Januar 2008 zur Änderung der Richtlinie 94/39/EG in Bezug auf Futtermittel zur Verringerung der Gefahr von Milchfieber. *Amtsblatt der Europäischen Union* 10.1.2008.

Riond JL. Animal nutrition and acid-base balance. *Eur J Nutr.* 2001; 40: 245–54.

Riond JL, Kocabagli N, Spichiger UE, Wanner M. The concentration of ionized magnesium in serum during the periparturient period of non-paretic dairy cows. *Vet Res Comm.* 1995; 19: 195-203.

Risco CA, Reynolds JP, Hird D. Uterine prolapse and hypocalcemia in dairy cows. *JAVMA.* 1984; 185: 1517-9.

Rosa IV, Henry PR, Ammermann CB. Interrelationship of dietary phosphorus, aluminium and iron on performance and tissue mineral composition in lambs. *J Anim Sci.* 1982; 55: 1231-40.

Rosol TJ, Capen CC. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism In: *Clinical biochemistry of domestic animals.* Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (Hrsg.). 5. Aufl. San Diego: Academic Press; 1997. pp 619–702.

Rossow N. Allgemeine Grundlagen des Fettstoffwechsels der Hochleistungskuh. *Großtierpraxis.* 2004; 5: 6-12.

Sachs M, Bar A, Hurwits S.. Prophylaxe der hypocalcämischen Gebährlähmung des Rindes mit Hilfe von Vitamin-D-Metaboliten. *Prakt Tierarzt.* 1982; Coll. Vet 63: 95-101.

Schlerka G, Filar J. Der Einfluss einer experimentell ausgelösten Ketose auf das klinische Bild, den Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt, den Ketonkörpergehalt sowie auf zellige Bestandteile im Blut bei Kühen. *Wien Tierärztl Monatsschr.* 1981; 68: 436-41.

Scott DJ, Wijk van N. Compression in dairy cattle of mucosal toxicity of calcium formate and calcium chloride in oil. *New Zealand Vet J.* 1999; 48: 24-6.

Schröder B, Breves G, Pfeffer E. Binding properties of duodenal 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors as affected by phosphorus depletion in lactating goats. *Comp Biochem Physiol.* 1990; 96A: 495–8.

Shappell NW, Herbein JH, Deftos LJ, Aiello RJ. Effects of dietary calcium and age on parathyroid hormone, calcitonin, and serum and milk minerals in the periparturient dairy cow. *J Nutr.* 1987; 117: 201–7.

Smith RH. Synthesis of microbial nitrogen compounds in the rumen and their subsequent digestion. *J Anim Sci.* 1979; 49: 1604-14.

Staufenbiel R, Dallmeyer M, Horner S, Gelfert CC. Gebärparese des Rindes Neue Aspekte zum klinischen Bild und zur Therapie. Proceedings Kongress Bundesverband praktizierender Tierärzte, 7.-10.11.2002, Nürnberg, pp. 61-6.

Staufenbiel R, Borchardt S, Zechne G, Martens H. Untersuchungen zur diagnostischen Aussagekraft der NEFA im Vergleich zu anderen Parametern bei der Bewertung des Energiestoffwechsels der Milchkuh im peripartalen Zeitraum. 7 Berlin-Brandenburgischer Rindertag, 9 – 11 Oktober 2008, pp. 200-3.

Studer VA, Grummer RR, Bertics SJ. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1993; 76: 2931-39.

Thilsing T, Jørgensen RJ, Poulsen HD. In vitro binding capacity of zeolite A to calcium, phosphorus and magnesium in rumen fluid as influenced by changes in pH. *J Vet Med A.* 2006; 53: 57–64.

Thilsing T, Larsen T, Jørgensen RJ, Houe H. The effect of dietary calcium and phosphorus supplementation in zeolite A treated cows on periparturient calcium and phosphorus homeostasis. *J Vet Med. A.* 2007; 54: 82–91.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ. Hot topic: Prevention of parturient paresis and subclinical hypocalcaemia in dairy cows by zeolite A administration in the dry period. *J Dairy Sci.* 2001; 84: 691-3.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Larsen T. The effect of zeolite A supplementation in the dry period on periparturient calcium, phosphorus and magnesium homeostasis. *J Dairy Sci.* 2002; 85: 1855-62.

Thilsing-Hansen T, Jørgensen RJ, Enemark JMD, Zelvyte R, Sederevicius A. The effect of zeolite A supplementation in the dry period on blood mineral status around calving. *Acta vet Scand.* 2003; 97: 87-95.

Valdivia R, Ammerman CB, Henry PR, Feaster JP, Wilcox CJ. Effect of aluminium and phosphorus on performance, phosphorus utilization and tissue mineral composition in sheep. *J Anim Sci.* 1982; 55: 402-10.

Valk H, Šebek LBJ, Beynen AC. Influence of phosphorus intake on excretion and blood plasma and saliva concentrations of phosphorus in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2002; 85: 2642–9.

Vernon RG. Nutrient partitioning, lipid metabolism and relevant imbalances. In: Recent developments and perspectives in bovine medicine. Kaske M, Scholz H, Höltershinken M (Hrsg). Keynote Lectures. Hannover: 18-23.08.2002; Hildesheimer Druck- und Verlags-GmbH; pp.210-23.

Verordnung (EG) Nr 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22 September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung.

Wan Zahari M, Thompson JK, Scott D, Buchan W. The dietary Requirements of calcium and phosphorus for growing lambs. *Anim Prod.* 1990; 50: 301-7.

Ward TL, Watkins KL, Southern LL, Hoyt PG, French DD. Interactive effects of sodium zeolite-A and copper in growing swine: growth, and bone and tissue mineral concentrations. *J Anim Sci.* 1991; 69: 726–33.

Watkins KL, Southern LL. Effect of dietary sodium zeolite A and graded levels of calcium and phosphorus on growth, plasma, and tibia characteristics of chicks. *Poult Sci.* 1992; 71: 1048–58.

Whiteford LC, Sheldon IM. Association between clinical hypocalcaemia and postpartum endometritis. *Vet Rec.* 2005; 157: 202-3.

Wiggers KD, Nelson DK, Jacobsen NL. Prevention of parturient paresis by a low-calcium diet prepartum: A field study. *J Dairy Sci.* 1975; 58: 430-1.

Danksagung

Zuallererst möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. G. Flachowsky bedanken für die Überlassung des Themas für die Dissertation und die Möglichkeit, meine Arbeit am Institut für Tierernährung durchführen zu können. Auch für die konstruktive Kritik bei der Durchsicht der Veröffentlichungen und meiner Gesamtarbeit bedanke ich mich sehr. Ebenso gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. M. Fürll für die Betreuung und die Möglichkeit an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig zu promovieren. Herzlichen Dank für die gute Zusammenarbeit und für die aufmunternden Worte und für das Vertrauen in mich und meine Arbeit. An dieser Stelle möchte ich mich auch ganz herzlich beim Laborteam an der medizinischen Tierklinik unter der damaligen Leitung von Antje Meister für die Analysen meiner fast unzähligen Blut- und Harnproben bedanken.

Des Weiteren gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. M. Spolders für die fachlich kompetente Betreuung und für die Unterstützung bei der Versuchsdurchführung und beim Erstellen der Dissertation. Auch für die Geduld und den konstruktiven Vorschlägen beim Schreiben der Arbeit danke ich sehr.

Herrn Dr. P. Lebzien danke ich besonders für die geduldige Unterstützung in der Durchführung und Auswertung des Fistelkuhversuches. Herrn Strauss und Herrn Prof. Dr. S. Dänicke danke ich sehr für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten. Auch Sabine möchte ich besonders danken für die Hilfe in allen Computerfragen, aber auch für die anderen netten Gespräche.

Weiter danke ich allen Mitarbeitern am Institut und der Versuchsstation für die Unterstützung bei den Probennahmen, Aufbereitung und den Analysen. Besonders danke ich Katrin, Thorsten, Henning und Heino für den Kuhfang und für den Spass den wir hatten. Auch Axel möchte ich besonders danken für die geduldige Erklärung und Hilfe insbesondere bei der Chromanalyse. Danke auch dem gesamten Laborteam für diese schöne Zeit und die guten Gespräche.

Außerdem möchte ich mich bei allen MitdoktorandInnen und -DiplomandInnen bedanken für die schöne Zeit am Institut und bei jeglicher Unterstützung bei den Probennahmen und auch ganz besonders für den nächtlichen Einsatz zur Hilfe beim Formatieren und Korrekturlesen der Arbeit. Ein besonderer Dank gilt meinen BüromitstreiterInnen, Martin, Wiebke, Inka und meiner Arbeitsplatzteilerin Tatjana für die schöne Zeit und für die Aufmunterungen bei so manchen Verzweiflungsausbrüchen. Auch Annett und Julia möchte ich besonders danken für jegliche Hilfe, auch über die Doktorarbeit hinaus.

Schließlich danke ich Angelika von ganzem Herzen, die immer an mich glaubte und mich immerzu ermutigte weiter zu kämpfen. Auch Alex gilt mein besonderer Dank für die mentale Unterstützung und die kraftvollen aufbauenden Worte. Ebenso danke ich meiner Mutter und meiner Schwester Christine von ganzen Herzen für die Unterstützung in allen Lebensbereichen und für das stets offene Ohr.