

3. Studientiere, Material und Methoden

In der Klinik für Klautiere des Fachbereichs Veterinärmedizin der FU Berlin wurde die Wirkung von acht Einzelsalzen und zwei Salzgemischen im Vergleich zu Aqua dest. (Kontrolle) auf die Vorgänge im Pansen sowie auf drei weitere Parameter geprüft.

Mögliche Einflüsse der sauren Salze auf die Fermentationsvorgänge wurden mit Hilfe der Konzentration der flüchtigen Fettsäuren und des pH-Wertes der Pansenflüssigkeit untersucht. Die Analyse eventueller Wirkungen auf die Verdaulichkeit der organischen Substanz erfolgte durch die *in-sacco*-Technik, möglicher Veränderungen in der Absorption der Spurenelemente durch die Untersuchung des Selen-, Kupfer-, Eisen- und Zinkgehalts im Serum. Abweichungen im Trinkverhalten unter Salzgabe konnten durch die Kontrolle der täglichen Wasseraufnahme der Tiere untersucht werden. Zur Analyse des Harnvolumens wurde ein Mal pro Versuchsabschnitt der über 24 Stunden ausgeschiedene Harn zur quantitativen Bestimmung gesammelt.

3.1 Studientiere und Haltung

Als Studientiere dienten elf nichttragende, nichtlaktierende Kühe der Rasse Holstein-Friesian mit einem Körpergewicht zwischen 450 und 700 kg. Die Anzahl der vorherigen Laktationen lag zwischen zwei und sechs. Vor Versuchsbeginn wurde den Tieren eine permanente Pansenfistel (Bar Diamond, Inc., Idaho, USA) in den dorsalen Pansensack eingesetzt.

Die Kühe wurden über den gesamten Versuchszeitraum in Einzelanbindung auf Stroh gehalten und täglich einer klinischen Untersuchung unterzogen. Dabei wurden Temperatur, Puls, Atmung und Pansenkontraktion festgehalten sowie eine Fell- und Fistelpflege vorgenommen. Die Erfassung der Gewichtszunahmen und -abnahmen erfolgte zu Beginn eines jeden Versuchsabschnittes durch Wiegen der Tiere.

3.2 Fütterung und Tränke

Die Studientiere wurden zwei Mal täglich, um 7 und 14 Uhr gefüttert. Die Tagesration bestand aus 8 kg Heu und 2,5 kg Kraftfutter. Durch zusätzliche Verabreichung von Futterkalk erhielten sie zusammen mit dem Kalziumgehalt in Heu und Kraftfutter täglich insgesamt 120-150 g Kalzium mit dem Futter. Die zwischen den Steinguttrögen angebrachten Metallwände gewährleisteten, dass jedes Tier nur die ihm zugedachte Futtermenge erhielt. Die Futteraufnahme bzw. der Appetit wurde täglich kontrolliert und protokolliert. Wasser stand über eine Tränke ad libitum zur Verfügung. Für jedes Tier war nur die eigene Wassertränke

erreichbar. Anhand einer Wasseruhr konnte jeden Morgen vor der Fütterung der tägliche Wasserverbrauch des einzelnen Tieres ermittelt werden.

3.3 Versuchsmodell und Salzverabreichung

Das komplett randomisierte Modell basierte auf dem 11x11 lateinischen Quadrat. Die elf Supplementierungen (zehn Salze + Kontrolle, Tab. 5) wurden in zufälliger Reihenfolge auf die elf Tiere verteilt. Dies diente der maximalen Reduktion möglicher Versuchsfehler.

Der Versuch erstreckte sich über einen Zeitraum von elf Monaten bzw. elf Versuchsabschnitten. Jeder Abschnitt bestand aus einer 14-tägigen Salz- und einer 14-tägigen Wash-out-Phase. Während der Salzphase erhielten 10 Tiere zu den beiden Fütterungszeiten ein Equivalent eines Salzes bzw. einer Salzkombination, d.h. eine Tagesdosis von zwei Equivalenten. Das elfte Tier erhielt als Negativkontrolle Aqua dest. Die Salze wurden in zwei Litern Aqua dest. gelöst und wie die Kontrolle durch ein mit der Pansenfistel verbundenes Tropfsystem direkt in den Pansen verabreicht. Die sich an die Salzphase anschließende Wash-out-Phase diente der Erholung der Tiere und sollte sicherstellen, dass sich eventuell veränderte Werte zu Beginn des nächsten Versuchsabschnitts wieder im Bereich der Ausgangswerte befanden. Nach Ablauf dieser vierwöchigen Periode aus Salz- und Wash-out-Phase war der erste Abschnitt beendet. Zu Beginn der nächsten sowie aller folgenden Salzphasen erhielt jedes Tier ein anderes Salz, Salzgemisch oder die Kontrolle. Nach Ablauf der elf Monate hatte jedes Tier jedes Salz bzw. die Kontrolle während eines Versuchsabschnitts erhalten.

Bei den eingesetzten Salzen handelte es sich um vier Chlorid- und vier Sulfatsalze der Firma Merck sowie zwei Salzkombinationen aus jeweils einem Chlorid- und einem Sulfatsalz (Tab. 5). Obwohl die umgangssprachliche Bezeichnung „saure Salze“ aus chemischer Sicht nicht korrekt ist, wird sie hier im Folgenden verwendet. Der Begriff beruht auf der Eigenschaft der Salze in Lösung zu dissoziieren, um eine azidotische Wirkung auf den tierischen Organismus zu entfalten. Sie bestehen aus einem starken Anion und einem schwachen Kation. Eine Ausnahme bildet das hier ebenfalls eingesetzte NaCl (Kochsalz), das aus einem starken Anion sowie einem starken Kation besteht und nicht wie die anderen gestesteten Substanzen eine säuernde d.h. pH-Wert-absenkende Wirkung hat. Kochsalz wird im Laufe der Beschreibungen aus praktischen Gründen trotzdem den sauren Salzen zugerechnet. Die zu Beginn zusätzlich in einer Dosierung von 1,5 Equivalenten/Tag eingesetzte Salzsäure wurde wegen ihrer im Pansen schleimhautschädigenden Wirkung nach kurzer Zeit aus dem Versuch genommen.

Tabelle 5: Übersicht der eingesetzten Salze, Salzkombinationen und der Kontrolle

	(Cl ₂)Salze	(SO ₄)Salze
Einzelsalze	CaCl ₂ , MgCl ₂ , NH ₄ Cl, NaCl	CaSO ₄ , CaSO ₄ D10,* MgSO ₄ , (NH ₄) ₂ SO ₄
Salzkombinationen	CaCl ₂ +MgSO ₄ , NH ₄ Cl+CaSO ₄	
Kontrolle	Aqua dest.	

*D10 steht für den Körnungsgrad des Salzes

3.4 Proben tage

Während des gesamten 11-monatigen Versuchzeitraums wurden zweimal wöchentlich, donnerstags und montags, Blut, Harn- und Pansensaftproben für die weiteren Analysen genommen. Die Proben tage wurden am Donnerstag beginnend als S0 und nachfolgend als S4, S7, S11, S14 für die Salz- und als W4, W7, W11 und W14 für die Wash-out-Phase bezeichnet. W14 war der letzte Tag der Wash-out-Phase und gleichzeitig der erste Tag (S0) der nächstfolgenden Salzphase (Abb. 2).

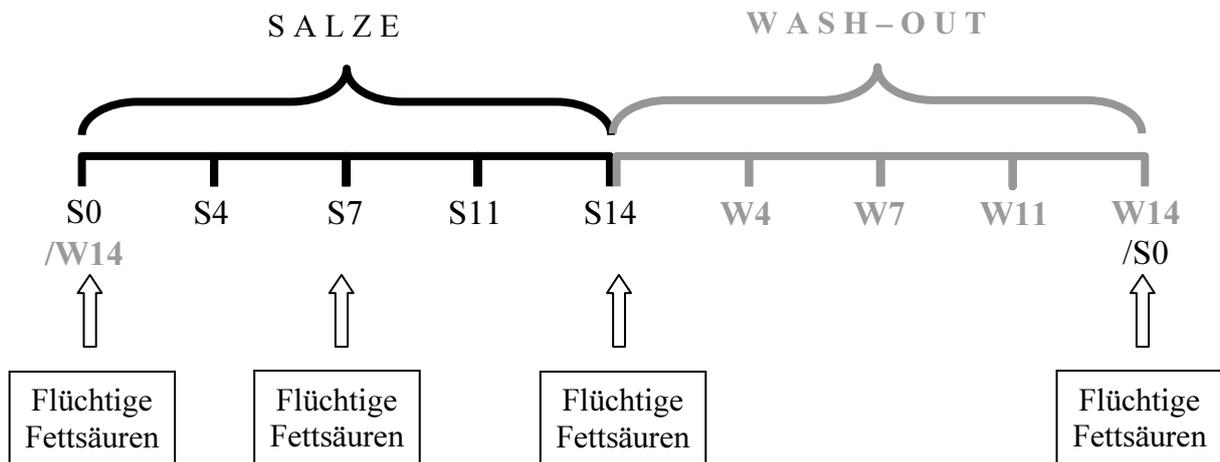


Abbildung 2: Proben tage eines vierwöchigen Abschnittes mit jeweils zweiwöchiger Salz- und Wash-out-Phase.

An den in Abbildung 2 dargestellten Proben tagen wurden von jedem Tier um 9.30 Uhr Harn- und Pansensaftproben (zur pH-Wert-Analyse) und um 11 Uhr Blutproben genommen. Die Pansensaftentnahme zur Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren erfolgte an den Tagen S0, S7

und S14 täglich um 6.30, 9.30, 14.30 und 17.30 Uhr (Abb. 2 und 3). Die Zeitpunkte der Pansensaftproben waren so gewählt, dass sich mit Einbeziehen der zirkadianen Schwankungen und den Fütterungseinflüssen ein aussagekräftiges Tagesprofil ergab. Die Pansensaftentnahme erfolgte $\frac{1}{2}$ Stunde vor der Morgenfütterung, $2\frac{1}{2}$ Stunden und $6\frac{1}{2}$ Stunden nach der Morgenfütterung (gleichzeitig $\frac{1}{2}$ Stunde vor der Mittagsfütterung) sowie $3\frac{1}{2}$ Stunden nach der Mittagsfütterung (Abb. 3).

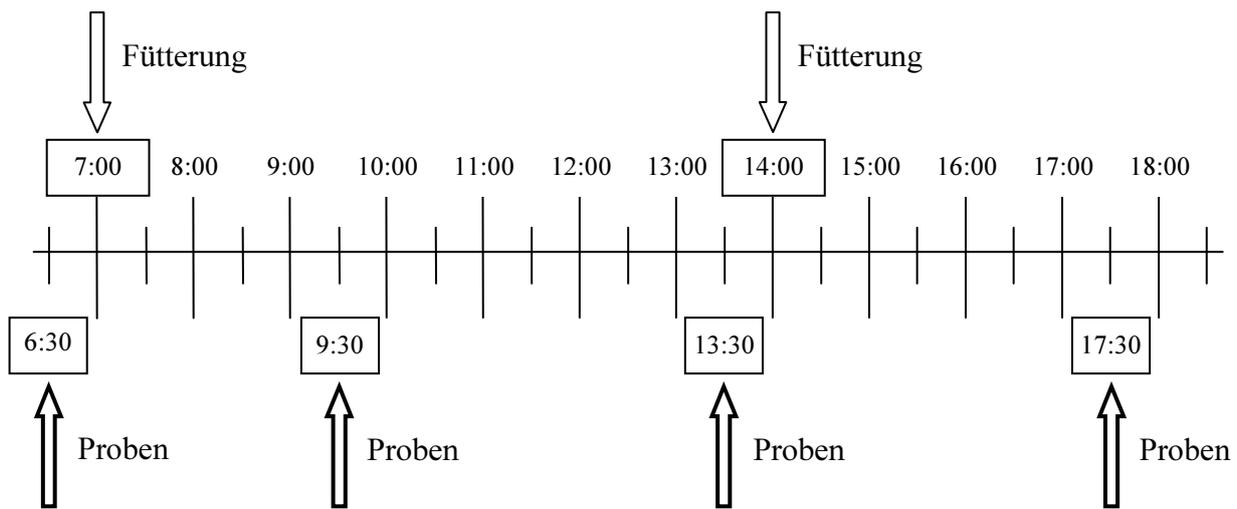


Abbildung 3: Fütterungen und Pansensaftprobenentnahme an einem Probenstag

3.5 Probenentnahme und –analyse

3.5.1 Futterproben

Da das über den gesamten Versuchszeitraum eingesetzte Heu aus verschiedenen Chargen stammte und in Qualität und Inhaltsstoffen variierte, wurden regelmäßig Futtermittelproben zur Nährstoff- und Mengenelementanalyse in das Analytiklabor für Landwirtschaft und Umwelt (Blgg. Deutschland, Parchim) eingeschickt. Von jeder neu gelieferten Heucharge wurden Proben genommen. Auch von dem über den gesamten Versuch gefütterten Kraftfutter wurden zu Beginn des Versuchs Proben eingeschickt (Tab. 6). Die pro Abschnitt berechneten DCAB-Werte unter Berücksichtigung der Salzzulage in der Salzphase, der nicht supplementierten Rationen der Kontrolltiere sowie der Wash-out-Phase aller elf Versuchsperioden sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 6: Zusammensetzung des Kraftfutters, DCAB-Wert berechnet als DCAB (mEq/kg TS) = $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{S}^{2-})$ (Probenanalyse durch Blgg Deutschland)

Komponenten	Inhalt (%)
Trockensubstanz	88,1
Rohasche	6,3
Rohprotein	19,0
Rohfett	3,0
Rohfaser	8,6
Kalzium	0,7
Magnesium	0,33
Natrium	0,38
Kalium	1,09
Phosphor	0,63
Schwefel	0,12
Chlorid	0,5
DCAB (mEq/kg TS)	+228

Tabelle 7: Übersicht der DCAB-Werte über die elf Versuchsabschnitte des Futters (Heu und Kraftfutter) mit und ohne (Kontrolltiere) Supplementierung von zwei Equivalenten Salz (-2000 mEq) während der Salzphase sowie ohne Supplementierung für alle Tiere während der Wash-out-Phase

DCAB*			
Versuchsabschnitt	Salzphase	Salzphase Kontrolltiere	Wash-out-Phase
1	86	298	298
2	242	458	458
3	59	270	298
4	236	448	399
5	50	259	63
6	-156	53	53
7	-156	54	281
8	73	281	281
9	139	360	360
10	139	360	172
11	-41	172	172
DCAB (\bar{x})*	61	274	258

* in meq/kg TS

3.5.2 Futtermittelproben im *in-sacco*-Abbauversuch

Zu Versuchsbeginn wurde die Untersuchung des Einflusses von Anionenergänzungen auf den Abbau der organischen Substanz verschiedener Futterkomponenten auf drei Salze (CaSO_4 , CaCl_2 , MgCl_2) und ein Salzgemisch ($\text{CaCl}_2 + \text{MgSO}_4$) beschränkt.

Die Analysen wurden mittels der *in-sacco*-Inkubation mit Nylonsäckchen der Marke „Bar Diamond, Inc., Idaho, USA“ mit einer Abmessung von 10,0 x 20,0 cm und einer Porengröße von 50 μm durchgeführt. Die Beutel wurden mit 5,0 g \pm 0,1 g eines mit einer Analysemühle

nach RETSCH (3 mm) gemahlenen Futtermittels befüllt. Berechnet nach Formel (I) entspricht das einer Menge von ca. 12,5 – 13 mg Futtermittel pro cm² freier Oberfläche.

(I):

$$\frac{\text{Substrat}}{\text{cm}^2 \text{ freier Oberfläche}} = \frac{\text{Futtermittelprobe (mg)}}{(\text{Beutelbreite [cm]} \times \text{Beutellänge [cm]} \times 2)}$$

Anschließend wurden die Nylonbeutel nummeriert und mit einem Kabelbinder verschlossen. Zwei Netze mit den jeweils gleichen Säckchen wurden verknotet, mit einer ca. 2 m langen Kunststoffschnur verbunden und in den ventralen Pansensack der Kühe inkubiert. Regelmäßig fand eine Überprüfung der Position der Netze statt. Nach 24 bzw. 48 Stunden wurden die Netze aus dem Pansen entfernt, in kaltes Wasser getaucht und solange unter fließendem Wasser ausgespült, bis das Wasser klar war. Bis zum Zeitpunkt der Gefriertrocknung wurden sie bei –20 °C eingefroren.

Die Inkubationen erfolgten während der Salzphase und im Vergleich dazu während der Wash-out-Phase. Pro Salz und Futtermittelprobe wurden drei Wiederholungen durchgeführt, so dass drei Parallelen (n = 3) für eine erste Auswertung des Einflusses saurer Salze auf die Abbaubarkeit zur Verfügung standen.

Zur Bestimmung der Wirkung der sauren Salze auf die Abbaubarkeit der organischen Substanz wurde die organische Substanz der Futtermittel zunächst vor der Inkubation analysiert. Nach der Inkubation wurden die Nylonbeutel gefriergetrocknet, zurückgewogen und die Bestimmung der organischen Substanz durch die Trockensubstanz- und Rohasche-Analyse nach Weender wiederholt.

Die Futtermittel setzen sich aus Wasser und Trockensubstanz zusammen.

Die Nährstoffe enthaltende Trockensubstanz gewinnt man durch Trocknung der zerkleinerten Probe bei 103 – 105 °C bis zur Massekonstanz. Die Massedifferenz zur Frischmasse besteht aus flüchtigen Bestandteilen oder Rohwasser. Die Trockensubstanz umfasst organische und anorganische Substanz und errechnet sich aus der Subtraktion des Rohwassers von der Frischmasse. Die organische Substanz wird im Muffelofen bei 550 °C verbrannt. Die zurückbleibende Rohasche bildet den anorganischen Teil der Trockenmasse. Mit Hilfe dieses Wertes wird der Anteil organischer Substanz an der Trockensubstanz errechnet:

Organische Substanz (oS): Trockensubstanz – Rohasche

Mit den Formeln II bis VI wurde der Abbau der oS des Futtermittels während der 24 bzw. 48 Stunden Inkubation berechnet.

$$(II) \text{ oS}_0 = \text{TS}_0 - \text{Ra}_0$$

$$(III) \text{ oS}_{24} = \text{TS}_{24} - \text{Ra}_{24}$$

$$(IV) \text{ oS}_{48} = \text{TS}_{48} - \text{Ra}_{48}$$

$$(V) \text{ voS}_{24} = \text{oS}_0 - \text{oS}_{24}/100$$

$$(VI) \text{ voS}_{48} = \text{oS}_0 - \text{oS}_{48}/100 = \text{nach 48 Std. abgebaute/verdaute oS des Futtermittels in \%}$$

$\text{oS}_{0, 24, 48}$ = organische Substanz (g) vor (0h) und nach 24- bzw. 48-stündiger Inkubation

$\text{TS}_{0, 24, 48}$ = Trockensubstanz (g) vor (0h) und nach 24- bzw. 48-stündiger Inkubation

$\text{Ra}_{0, 24, 48}$ = Rohasche (g) vor (0h) und nach 24- bzw. 48-stündiger Inkubation

$\text{voS}_{0,24,48}$ = verdaute organische Substanz (%) vor (0h) und nach 24- bzw. 48stündiger Inkubation

Die verbleibende oS der Futtermittel wurde von der ursprünglichen oS subtrahiert. Zur Bestimmung der Auswaschverluste wurden mit Futtermittel gefüllte Nylonbeutel ohne vorausgehende Inkubation nach dem gleichen Verfahren wie die inkubierten Säckchen behandelt.

3.5.3 Flüchtige Fettsäuren und pH-Wert des Pansensaftes

Die Pansensaftentnahme zur Bestimmung des Fettsäuremusters und des Pansensaft-pH-Wertes erfolgte direkt über die Fistel aus dem ventralen Pansensack. Der Pansensaft wurde sofort in 50 ml-Kunststoffgefäße (Fa Greiner, Labortechnik GmbH, Frickenhausen) umgefüllt und bis zum Zeitpunkt der Analyse bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Die Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren in freier, unveresterter Form erfolgte durch gaschromatographische Trennung. Dazu wurden die gefrorenen Pansensaftproben zunächst im Wasserbad aufgetaut und geschwenkt. Jeweils 1000 μl jeder Probe wurden in einem Eppendorfgefäß 2 Minuten bei 13000 U/min zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurden 50 μl des klaren Überstands mit 200 μl Interner Standardlösung (Verdünnungsfaktor 2) verdünnt. Die Analyse der flüchtigen Fettsäuren im Gaschromatographen (GC) (Hewlett Packard Serie II 5890), der mit einer Innowax-Kapillarsäule (HP, 30 m Länge, 0,53 mm Innendurchmesser, 1,0 μm Filmdicke) ausgerüstet war, erfolgte mittels eines Flammenionisationsdetektors (FID). Als Trägergas diente Helium. Mit Hilfe eines Temperaturprogramms wurden die für die Kalibrierung

verwendeten Eichstandards der C2 – C7 Säuren (Supelco Kat. Nr. 46975 U) ebenso wie die Probelösungen durch splitlose Injektion quantifiziert.

Der Pansensaft-pH-Wert wurde unmittelbar nach der Pansensaftentnahme nach Eichung des Gerätes mit einem digitalen pH-Meter (InoLab pH Level 1) der Firma WTV im Labor der Klinik für Kleintiere der FU Berlin erfasst.

3.5.4 Quantitative 24h-Harnbestimmung

Einmal pro Abschnitt wurde über 24 Stunden der Harn gewonnen. Dies fand am letzten Tag der Salzgabe (S14) von 7 Uhr bis 7 Uhr des nächsten Tages statt. In regelmäßigen Abständen wurden die Tiere, nach Reinigung der Scham, durch manuelle Stimulierung zum Harnabsatz angeregt, so dass der gesamte Harn über 24 Stunden gesammelt werden konnte. Alle vier Stunden (um 11 Uhr, 15 Uhr, 19 Uhr, 23 Uhr, 3 Uhr und 7 Uhr) wurde durch Wiegen und Bestimmen des spezifischen Gewichtes, das Volumen des Harns bestimmt:

Gewicht des Harns (kg) / spezifisches Gewicht = Volumen (l)

3.5.5 Blutproben

Die Blutentnahme erfolgte aus der V. jugularis, wobei für die notwendigen Analysen 10 ml-Serumröhrchen (Fa. Kabe Labortechnik) befüllt wurden. Nach der Probenentnahme wurde das Blut 10 Minuten bei 4 °C und 4000 g zentrifugiert und das gewonnene Serum in 5 ml-Analysegefäße (Fa. Sartstedt) verteilt und bei –20 °C eingefroren. Für jedes Salz wurde pro Kuh aus allen vier Proben des jeweiligen Abschnitts eine Poolprobe gewonnen (Abb. 4). Zur Analyse der Blutproben aus der Wash-out-Phase wurden für die zehn Salze und die Kontrolle elf Sammelproben aus allen 121 Einzelproben gepoolt.

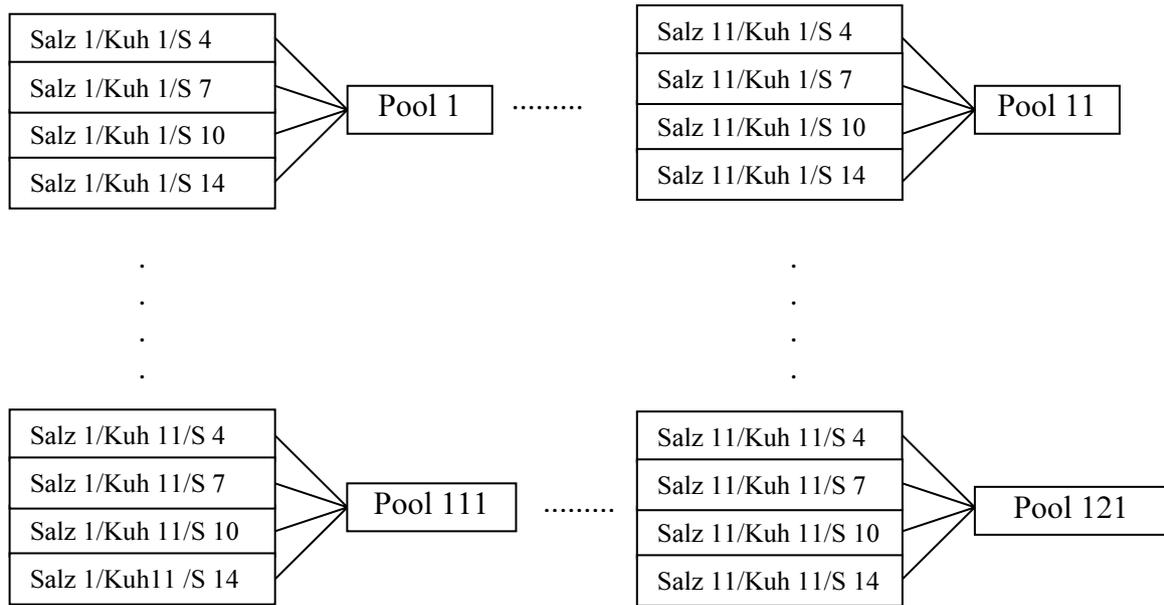


Abbildung 4: Herstellung von 121 Sammelproben aus 484 Mischproben

Aus den Serumproben wurde der Gehalt der Spurenelemente Selen, Jod, Eisen und Zink am Atomabsorptionsspektrophotometer (AAS) PU 9200 der Firma Philips im Labor der Klinik für Kleintiere der FU Berlin analysiert.

Die analysierten Parameter bzw. die Analysemethoden sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Analytierte Parameter im Überblick

Medium/Material	Parameter	Analysemethode
Pansensaft	Essigsäure (mmol/l)	GC ¹
	Propionsäure (mmol/l)	GC ¹
	i-Buttersäure (mmol/l)	GC ¹
	n-Buttersäure (mmol/l)	GC ¹
	i-Valeriansäure (mmol/l)	GC ¹
	n-Valeriansäure (mmol/l)	GC ¹
	Gesamtfettsäuren (mmol/l)	GC ¹
	pH-Wert	pH-Meter
Mais	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Gerste	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Roggen	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Hafer	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Triticale	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Weizen	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Sonnenblumenextrakt	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Sojaextraktionsschrot	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Heu	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Stroh	TS, Ra, oS (g/kg, g/kg, %)	Trocknung, Veraschung, Berechnung
Serum	Selen (µmol/l)	AAS ²
	Jod (µmol/l)	AAS ²
	Eisen (µmol/l)	AAS ²
	Zink (in mmol/l)	AAS ²
Wasser	Tagesaufnahme (l)	Ablese der Wasserzähler
Harn	24h-Volumen (l)	Berechnung: Gewicht/ spez. Gewicht
Heu und Kraftfutter	DCAB (meq/kg TS)	Blgg Deutschland

¹ Gaschromatographie (Hewlett Packard Serie II 5890)

² Atomabsorptionsspektrophotometrie (PU 9200 atomic absorption spectrophotometer, Philips)

3.6 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für Biometrie der FU Berlin mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS (Version 11.5 für Windows). Der Versuch war als 11 x 11 lateinisches Quadrat angelegt.

Da davon auszugehen ist, dass es Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Tier, Salz und Versuchsperiode geben muss, dies aber bei der Versuchsanlage nicht überprüft werden kann, wurden die Probenstage getrennt ausgewertet.

Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 5\%$ ($p \leq 0,05$) eingestellt. Durch die Berechnung von Residuen der Daten des Probenstages S0 und anschließender Anwendung des Kolmogorov-Smirnov-Tests ($p \leq 0,05$) wurde eine Normalverteilung der Daten überprüft. Wurde die Nullhypothese „die Daten sind normalverteilt“ abgelehnt, wurden sie durch Logarithmierung (Basis 10) transformiert und zur statistischen Berechnung der Mehrfachvergleiche herangezogen. Zum besseren Verständnis und Vergleich mit anderen Arbeiten wurden sowohl in den Abbildungen als auch Tabellen die nicht transformierten Daten verwendet.

Die statistische Untersuchung des Einflusses der sauren Salze auf die Parameter des Pansensaftes, der Spurenelementkonzentrationen im Serum, der aufgenommenen Wassermengen sowie der ausgeschiedenen Harnvolumina erfolgte mit Hilfe parametrischer Tests. Die Nullhypothese lautete: Die Ergebnisse aller Salze für einen Parameter an den einzelnen Probenstagen der Salzphase sind gleich. Aufgrund möglicher Wechselwirkungen innerhalb des Modells, wurden die sauren Salze getrennt nach Probenstag (Faktor Salz) geprüft. Modell: zweifaktorielle Varianzanalyse, mit dem sauren Salz als festem und der Kuh als Zufallsfaktor (gemischtes Modell). Für den Fall eines signifikanten Unterschiedes wurde der Post-hoc Test nach Dunnett durchgeführt. In diesem Test wurden alle Ergebnisse unter Einfluss der verschiedenen Salze mit den Kontrollwerten unter Einfluss von Aqua dest. verglichen und signifikante Unterschiede aufgezeigt.

Neben den Wirkungen der Salze auf die Wasseraufnahme wurde auch ein möglicher DCAB-Effekt mit Salz- und Kontrollzulage auf das Trinkverhalten untersucht. Dazu wurden 5 verschiedene DCAB-Gruppen gebildet: Gruppe 1: < -150 meq/kg TS, Gruppe 2: -150 bis $+50$ meq/kgTS, Gruppe 3: $+50$ bis $+150$ meq/kgTS, Gruppe 4: $+150$ bis $+250$ meq/kgTS, Gruppe 5: $> +250$ meq/kgTS. In einer zweifaktoriellen Varianzanalyse wurden die fünf Gruppen mit folgendem post-hoc Test nach Scheffé auf signifikante Unterschiede untersucht.

Die Ergebnisse der Abbaubarkeit der oS verschiedener Futtermittel bei Salz- bzw. Wassersupplementierung durchliefen keinen statistischen Test, da eine statistische

Auswertung bei der geringen Anzahl der Parallelen ($n = 3$) nicht sinnvoll ist. Diese Untersuchungen sollten lediglich einen ersten Eindruck vom Einfluss der sauren Salze auf die Abbaubarkeiten vermitteln.

Darstellung der Ergebnisse

Als Darstellungsform der Einflüsse der sauren Salze im Vergleich zur Kontrolle (Aqua dest.) auf die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren, den Pansensaft-pH-Wert, die Spurenelementkonzentration im Serum sowie die Wasseraufnahme wurden Box-and-Whisker-Plots gewählt. Die Boxplots stellen Mediane, Interquartilbereiche, Ausreißer und Extremwerte dar. Die Box selbst repräsentiert mit 50 % der Messwerte den Interquartilbereich (25 %- und 75 %-Wert). Die von ihm ausgehenden Linien nach oben und unten, die Whisker, führen zu den höchsten, bzw. niedrigsten Werten ohne Berücksichtigung der Ausreißer. Der Median ist die innerhalb der Box dargestellte Linie. Die durch Kreise gekennzeichneten Ausreißer sind Werte, die sich um über 1,5 Boxenlängen, die als Sterne dargestellten Extremwerte sind Werte, die mehr als 3 Boxenlängen vom oberen oder unteren Rand der Box entfernt liegen.