

Institut für Ernährungswissenschaften
der Landwirtschaftlichen Fakultät



der
Martin - Luther - Universität
Halle - Wittenberg

In vitro - Untersuchungen zum Einfluss der
Rationszusammensetzung auf die Synthese und das
Aminosäurenmuster des mikrobiellen Proteins im Pansen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

vorgelegt von
Dipl. - Ing. agr.
Jeannette Boguhn

geb. am 02.05.1970
in Dessau

Gutachter: Prof. Dr. M. Rodehutschord
Prof. Dr. H. H. Swalve
Prof. Dr. G. Flachowsky

Tag der Verteidigung: 25. 10. 2004

Halle/ Saale 2004

urn:nbn:de:gbv:3-000007455

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000007455>]

Inhaltsverzeichnis

Tabellen	5
Abbildungen	9
1 Einleitung - Ökosystem Pansen	14
2 Aufgabenstellung	18
3 Material und Methoden	20
3.1 <i>In vitro</i> -Verfahren	20
3.1.1 Technische Umsetzung	20
3.1.2 Spendertiere	22
3.1.3 Ablauf des Verfahrens	22
3.2 Verwendete Lösungen	23
3.2.1 Pufferlösung	23
3.2.2 Lösung zur Isolation der SAB	24
3.2.3 Lösung zum 'Waschen' der isolierten Mikroben	25
3.3 Zeitlicher Verlauf der Untersuchung	25
3.4 Futtermittel	26
3.5 Probengewinnung und -aufbereitung	29
3.5.1 Futter	29
3.5.2 Futterbeutel, Restfutter	30
3.5.3 Überlauf	30
3.5.4 TB (Referenzbakterien)	31
3.5.5 LAB (liquid associated bacteria)	31
3.5.6 SAB (solid associated bacteria)	32
3.5.7 Proben für die ^{15}N -Bestimmung	32
3.5.8 Proben für die Analyse kurzkettiger Fettsäuren	33
3.6 Markierung mit ^{15}N	33
3.7 Analytik	34
3.7.1 Weender Rohnährstoffe	35
3.7.2 Detergenzienfasern	35
3.7.3 <i>In vitro</i> -Methoden	36
3.7.4 Physikalischer Brennwert	36
3.7.5 ^{15}N	36
3.7.6 Kurzkettige Fettsäuren	37
3.7.7 Aminosäuren	38
3.8 Berechnungen und statistische Methoden	39

4	Ergebnisse	42
4.1	Verdaulichkeit der Rohnährstoffe und berechnete Energiekonzentration	42
4.2	Durchflussmenge des Puffers und pH-Wert	43
4.3	Abbau der Rohnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie	44
4.4	¹⁵ N - Anreicherung	48
4.5	Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese	50
4.6	Kurzkettige Fettsäuren	54
4.7	Aminosäurenmuster des Mikrobenproteins	58
4.7.1	Vergleich der Mikrobenfraktionen	58
4.7.2	TB	60
4.7.3	LAB	74
4.7.4	SAB	76
5	Diskussion	80
5.1	Methode	80
5.2	Abbau der Rohnährstoffe und Energie	85
5.3	Stickstoffbilanz	88
5.4	Mikrobielle Proteinsynthese	89
5.5	Aminosäurenmuster der Mikrobenfraktionen	93
6	Thesen	95
	Literatur	98
	Zusammenfassung	116
	Anhang	120
	Tabellen	120
	Abbildungen	177

Tabellenverzeichnis

1	Zusammensetzung der zugeführten Pufferlösung (in Anlehnung an MCDUGALL [127])	24
2	Zeiträume der Einzelversuche, verwendete Rationen und jeweilige Ammoniumkonzentration im Puffer	25
3	Zusammensetzung der untersuchten TMR (Angaben in % T)	26
4	Analysierte Parameter der TMR in den einzelnen Versuchen und Spannweiten bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer	28
5	Verdaulichkeit (in %) der Rohrnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie sowie berechnete Energiekonzentration (in MJ/kg T)	43
6	Mittlere Durchflussmenge des Puffers (Tage 7 bis 14) und Spannweiten bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer (Angaben in ml/d) . .	44
7	Mittlere pH- Werte (Tage 7 bis 14) in den Fermentationsgefäßen und Spannweiten bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer	44
8	Abbau der Rohrnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie (in %) bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer (Mittelwert $\pm s$) . . .	45
9	^{15}N -Konzentration (% des Gesamt-N) der Mikrobenfraktionen, im Überlauf und in den Futterresten	50
10	Berechnete Effizienzen der mikrobiellen Proteinsynthese (Mittelwert $\pm s$)	51
11	Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organischer Substanz (g/kg, $n = 21$)	52
12	Relative Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (in %) bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer (Mittelwert $\pm s$)	55
13	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Musters der kurzkettigen Fettsäuren ($n = 24$)	56
14	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Musters kurzkettiger Fettsäuren in Abhängigkeit von der Ammoniumkonzentration im Puffer	57
15	Mittelwerte der Aminosäurenkonzentrationen (g Aminosäure je 16 g N) und der Faktoren aus dem Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 ($\pm s$; $n = 24$)	59
16	Muster des Verhältnisses der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1 und Methioninkonzentration im Protein der Referenzbakterien bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$)	70
17	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäuremusters des Proteins der Referenzbakterien bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 16$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	72

18	Muster des Verhältnisses der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1 und Methioninkonzentration im Protein der LAB bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$)	75
19	Muster des Verhältnisses der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1 und Methioninkonzentration im Protein der SAB bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$)	78
20	Deklarierte Zusammensetzung der Konzentratmischung für die fistelierten Schafe	120
21	Analysierte Rohnährstoffe des für die Spendertiere verwendeten Wiesenheus	120
22	Deklarierte Zusammensetzung der Mineralstoffmischung für die fistelierten Schafe .	121
23	Zuordnung der Bezeichnungen der verwendeten TMR zu vorangegangenen Untersuchungen	121
24	Retentionszeit und Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren in der Standard-Lösung	122
25	Mittlere Durchflussmengen an Pufferlösung (in ml/d) ($\pm s$ der Tage 7 bis 14)	123
26	Mittelwertsvergleich der Durchflussmengen bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer (Angaben in ml/d, $\pm s$)	125
27	Mittlere pH- Werte in den Fermentationsgefäßen ($\pm s$ der Tage 7 bis 14)	126
28	Mittelwertsvergleich der pH- Werte bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$)	128
29	Abbau der Rohnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie der einzelnen Fermenter (in %)	129
30	^{15}N - Anreicherung der Kompartimente des RUSITEC- Systems der einzelnen Fermenter (% des Gesamt- N)	131
31	Mittlere N- Mengen der Fraktionen des RUSITEC- Systems der einzelnen Fermenter (mg/d)	133
32	Schätzggleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit verdauliche Organische Substanz (g/kg, $n = 21$)	135
33	Schätzggleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit Umsetzbare Energie (g/MJ, $n = 21$)	135
34	Schätzggleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz (g/kg, $n = 13$, "niedrige" Ammoniumkonzentration im Puffer)	136
35	Schätzggleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit verdauliche Organische Substanz (g/kg, $n = 13$, "niedrige" Ammoniumkonzentration im Puffer)	136

36	Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit Umsetzbare Energie (g/MJ, $n = 13$, "niedrige" Ammoniumkonzentration im Puffer)	137
37	Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz (g/kg, $n = 8$, "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer)	137
38	Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit verdauliche Organische Substanz (g/kg, $n = 8$, "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer)	138
39	Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit Umsetzbare Energie (g/MJ, $n = 8$, "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer)	138
40	Muster der kurzkettigen Fettsäuren in der Überlauf- Flüssigkeit der einzelnen Fermenter (in mmol/l)	139
41	Aminosäurenmuster der Referenzbakterien der einzelnen Fermenter (in g Aminosäure /16 g N)	141
42	Aminosäurenmuster der LAB (liquid associated bacteria) der einzelnen Fermenter (in g Aminosäure / 16 g N)	144
43	Aminosäurenmuster der SAB (solid associated bacteria) der einzelnen Fermenter (in g Aminosäure / 16 g N)	147
44	Mittelwerte der Aminosäurenkonzentrationen (g Aminosäure je 16 g N) und der Faktoren aus dem Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$; $n = 16$)	150
45	Mittelwerte der Aminosäurenkonzentrationen (g Aminosäure je 16 g N) und der Faktoren aus dem Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$; $n = 8$)	151
46	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der Referenzbakterien bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 8$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	152
47	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der Referenzbakterien ($n = 24$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	155
48	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der LAB ($n = 24$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	158
49	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der LAB bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 16$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	161

50	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der LAB bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 8$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	164
51	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der SAB ($n = 24$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	167
52	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der SAB bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 16$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	170
53	Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der SAB bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 8$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)	173
54	Gruppierung der TMR in Abhängigkeit von der verwendeten Ammoniumkonzentration im Puffer	175
55	Stickstoffbilanzen bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer (Mittelwert $\pm s$)	176

Abbildungsverzeichnis

1	Schematische Darstellung des Aufbaus der Pansen - Simulation (verändert nach CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE [44])	21
2	Vergleich des Abbaus der Organischen Substanz bei "niedriger" und "hoher" (+) Ammoniumkonzentration im Puffer und bei Korrektur um die am Futterrest anhaftenden SAB (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede bei $P \leq 0,05$)	47
3	Dynamik der ¹⁵ N - Anreicherung in den Referenzbakterien bei "niedriger" (oben) und "hoher" (unten) Ammoniumkonzentration im Puffer ($y = a + \frac{(b-a)}{(1+10^{((\log_{50} e^{c-x}) \cdot slope)})}$ mit $a = y_{min}$, $b = y_{max}$, $c = \frac{1}{2}y_{max}$ und $slope = maximaler\ Anstieg$)	49
4	Zusammensetzung des Proteins der Referenzbakterien der einzelnen TMR bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)	61
5	Zusammensetzung des Proteins der Referenzbakterien der einzelnen TMR bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)	66
6	Beziehung zwischen abgebauter Organischer Substanz und dem gebildetem Mikrobenprotein pro Tag ('offene' Dreiecke kennzeichnen die Wertepaare der TMR, die bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden)	92
7	Dosierpumpe zur Förderung der Pufferlösung, 6 der 8 Ausgänge genutzt	177
8	Ansicht der 6 Fermenter in einem Wasserbad, Gestänge der Innenbehälter mit Hubmotor verbunden (gefertigt von der Feinmechanikerwerkstatt des Physiologischen Institutes der Tierärztlichen Hochschule Hannover)	177
9	Saugrohr mit aufgesetztem Filter und Spritze zur Entnahme der flüssigen Phase des Panseninhaltes	178
10	Sonde zur Entnahme der festen Phase des Panseninhaltes	178
11	Beziehung zwischen dem Abbau der Organischen Substanz und der Rohfaser, dem Rohprotein sowie der Umsetzbaren Energie	179
12	Zusammensetzung des Proteins der LAB der einzelnen TMR bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)	180

13	Zusammensetzung des Proteins der LAB der einzelnen TMR bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)	184
14	Zusammensetzung des Proteins der SAB der einzelnen TMR bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)	188
15	Zusammensetzung des Proteins der SAB der einzelnen TMR bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)	192
16	Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz (g/kg) in Bezug zum pH- Wert und der Puffermenge (ml/d)	196
17	Beziehung zwischen der Rohproteinkonzentration in den TMR und der Menge an gebildetem Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz ('offene' Dreiecke kennzeichnen die Wertepaare der TMR, die bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden)	196
18	Beziehung des um die SAB korrigierten, abgebauten Rohproteins und der Menge an gebildetem Mikrobenprotein pro Tag ('offene' Dreiecke kennzeichnen die Wertepaare der TMR, die bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden) . . .	197

Neben den Abkürzungen des Internationalen Einheitensystems, der Deutschen Rechtschreibung laut Duden und den Symbolen chemischer Elemente des Periodensystems wurden folgende Abkürzungen verwendet:

ADF	Säure-Detergenzien-Faser, acid detergent fibre
Ala	Alanin
Arg	Arginin
AS	Aminosäure
Asp	Asparaginsäure
at.-%	Atomprozent
ATP	Adenosintriphosphat
C ₂	Ethansäure, Essigsäure
C ₃	Propansäure, Propionsäure
C ₄	Butansäure, Buttersäure
C ₅	Pentansäure, Valeriansäure
C ₆	Hexansäure, Capronsäure
Cys	Cystin
DAPA	2,6 - Diaminopimelinsäure, 2.6 - diaminopimelic acid
DOS	verdauliche organische Substanz, digestible organic matter
ELOS	Enzymatisch Lösbare Organische Substanz, enzymatically degraded organic matter
FID	Flame Ionisation Detector
FFAP	Free Fatty Acid Phase
Gb	Gasbildung, gas production
GE	Bruttoenergie, gross energy
GF	Grundfutter, Grobfutter
glm	general linear model
Gl.	Gleichung
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
GS	Grassilage, Anwelksilage
His	Histidin

HP	Hewlett Packard
Ileu	Isoleucin
<i>isoC</i> ₄	iso - Butansäure, iso - Buttersäure
<i>isoC</i> ₅	iso - Pentansäure, iso - Valeriansäure
LAB	liquid associated bacteria
Leu	Leucin
LLG	Landesanstalt für Landwirtschaft und Gartenbau
LUFA	Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt
Lys	Lysin
ME	Umsetzbare Energie, metabolizable energy
Met	Methionin
MS	Maissilage
NDF	Neutral - Detergenzien - Faser, neutral detergent fibre
NEL	Nettoenergie Laktation
<i>NH</i> ₄ ⁺	Ammonium
NOI	Nitrogen analyzer with optical principle for determination of stable isotopes
nXP	nutzbares Rohprotein am Duodenum
OS	Organische Substanz
Phe	Phenylalanin
Pro	Prolin
proc	Prozedur, procedure
<i>r</i>	Korrelationskoeffizient
<i>r</i> ²	Bestimmtheitsmaß
reg	regression, Regression (mathematisch)
RES	Rapsextraktionschrot
RNA	Ribonukleinsäure, ribonucleic acid
RUSITEC	Pansensimulation, rumen simulation technique
<i>s</i>	Standardabweichung vom Mittelwert
<i>s</i> _{<i>y,x</i>}	Standardabweichung der Schätzung
SAB	solid associated bacteria

SCFA	short chain fatty acid, kurzkettige Fettsäure
Ser	Serin
SES	Sojaextraktionsschrot
T	Trockensubstanz
Tab.	Tabelle
TB	total bacteria, Referenzmikroben
Thr	Threonin
TMR	Totale Mischration, total mixed ration
Try	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
UDP	undegraded protein, im Pansen unabgebautes Protein
Val	Valin
VDLUFA	Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein

1 Einleitung - Ökosystem Pansen

Die Vielfalt der Mikroorganismen und darauf begründet eine weitreichende Enzymausstattung erlauben es diesen Spezies, organische Substanzen bis zu Monomeren bzw. Elementen abzubauen. Sie nehmen daher eine herausragende Rolle im biologischen Stoffkreislauf ein [70]. Die mikrobielle Besiedelung des Magen-Darm-Traktes wurde bereits vor mehr als 150 Jahren beschrieben. Eine intensivere wissenschaftliche Bearbeitung begann jedoch erst vor ca. 60 Jahren [80], als die Bedeutung dieser Ressource für die Energie- und Nährstoffversorgung erkannt wurde.

Bakterien, Protozoen, Archeen und Pilze sind Symbionten im Vormagensystem der Wiederkäuer. Die Mikroflora umfasst 10^{10} bis 10^{11} Bakterien in mehr als 200 beschriebenen Arten und ungefähr 10^6 Protozoen (ca. 20 Arten isoliert) pro ml Pansenvolumen [169]. Diese extreme Vielfalt ist verbunden mit der Fähigkeit, pflanzliche Bausteine, wie Polysaccharide und Proteine, abzubauen und die Abbauprodukte zur mikrobiellen Synthese zu nutzen. Die Symbionten erlauben es dem Wirtstier, das selbst keine Möglichkeit hat, β -1,4-glycosidische Verbindungen zu spalten, Cellulose-reiche Nahrung zu nutzen. Zudem ist der Wiederkäuer unabhängig von der Versorgung mit Aminosäuren in der Lage, mit Hilfe der Mikroorganismen aus anorganischen Stickstoffverbindungen Protein aufzubauen. Die Abbauprodukte des mikrobiellen Kohlenhydratabbaus (kurzkettige Fettsäuren) stehen dem Wirtstier als Energiequelle zur Verfügung. Als Nachteil des mikrobiellen Stoffwechsels ist die Bildung von Methan, Kohlendioxid und Wärme anzusehen, da diese einen direkten Energieverlust für den Wiederkäuer bedeutet.

Wie jedes natürliche System unterliegt auch die Fauna und Flora des Pansens inneren und äußeren Einflüssen.

Einwirkungen des Wirtstieres auf die Mikroorganismen im Pansen bestehen durch [42]:

- den Speichelfluss, dessen Pufferkapazität und die Rezyklierung von Stickstoff,
- die Wiederkauaktivität,
- die Pansenmotorik,
- die Absorption der Stoffwechselendprodukte durch die Pansenwand,
- die Gasfreisetzung und
- die Körpertemperatur.

Über die Speichelmenge und dessen pH-Wert wird die Pufferkapazität des Speichels definiert. Der pH-Wert schwankt aufgrund der relativ konstanten stofflichen Zusammensetzung in einem engen Rahmen von 8,0 und 8,8 [127]. Die täglich gebildete Speichelmenge liegt in

Abhängigkeit von der Struktur und Zusammensetzung des angebotenen Futters zwischen 6 und 16 l/d beim Schaf und 60 und 160 l/d beim Rind [61]. Der direkte Schluss auf den pH-Wert im Pansen ist nicht möglich, da dieser vom Zeitpunkt nach der Fütterung und dem Ort der Messung, der Struktur [14] und dem Anteil leicht löslicher Kohlenhydrate der verwendeten Futtermittel [107, 145] sowie der Fütterungshäufigkeit [50] abhängt. Es sind Werte zwischen 5,5 und 7,0 anzunehmen. Einen merklichen Einfluss auf die Zahl und Zusammensetzung der Mikrobenpopulation, insbesondere die Protozoen, ist erst ab einem $\text{pH} \leq 6,0$ zu erwarten [48].

Unterschiede in der Wiederkauaktivität lassen sich auf verwendete Futtermittel, Partikelgröße des Futters [14, 107], Darbietungsform und Fütterungsmanagement sowie das Verhältnis von Grobfuttermitteln : Konzentratfuttermitteln in der Ration [116] zurückführen. Eine höhere Wiederkauaktivität muss jedoch nicht mit einer vermehrten Speichelsekretion pro Tag verbunden sein, so dass nicht direkt auf die Pufferwirkung geschlossen werden kann. Die Zerkleinerung der Futterbestandteile und damit Vergrößerung der Oberfläche fördert jedoch die Abbaubarkeit durch die Mikroben im Pansen.

Eine Erhöhung des Anteiles unzerkleinerter Futtermittelbestandteile steigert die Pansenmotorik [142] und fördert die Durchmischung des Panseninhaltes. Gleichzeitig ändert sich die Passagerate durch den Pansen in Abhängigkeit von der Größe der Futterpartikel und deren spezifischem Gewicht [201, 59, 60].

Die Absorption bzw. Ausscheidung (Ructus) der Endprodukte des mikrobiellen Stoffwechsels ist notwendig, da eine Anreicherung im Pansen die Fermentation negativ beeinflusst [70]. Die Konzentration flüchtiger Fettsäuren beträgt im Mittel 80 bis 120 mmol/l, ist jedoch abhängig von dem Anteil leicht löslicher Kohlenhydrate, der Fütterungshäufigkeit und der Höhe der Absorption.

Endprodukte der anaeroben Fermentation sind neben den kurzkettigen Fettsäuren auch Gase, v.a. Methan und Kohlendioxid, die von dem Wiederkäuer nicht mehr energetisch genutzt werden können. Eine Reduzierung der Methanproduktion wäre demnach nicht nur im Sinne der globalen Klimaentwicklung (Treibhausgas) wünschenswert, sondern würde auch mit einer Senkung des Energieverlustes für das Tier einhergehen. Die Zulage von synthetischen Substanzen kann die Bildung von Methan um bis zu 100 % senken (Übersicht in [80], [43]). Dabei ist jedoch zu bedenken, dass die Methan-bildenden Bakterien einen wichtigen Beitrag zur Detoxifikation von Wasserstoff im Pansen leisten. Änderungen in der Rationszusammensetzung, wie z.B. das Verschieben des Grundfutter zu Konzentrat Verhältnisses, des Rohproteingehaltes und der Zusatz von Fettsäuren (Übersicht in [108], [55]) sowie die Eliminierung der Protozoen (Defaunierung) [194] verändern ebenfalls die Methanogenese im Pansen.

Äußere Einflüsse auf die Mikrobenpopulation im Pansen bestehen durch [48]:

- die Fütterungshäufigkeit

- das Fütterungsniveau
- die Zusammensetzung der Ration und
- die damit verbundene Versorgung mit Nährstoffen und Energie.

Es ist allgemein anerkannt, dass die Zusammensetzung und die Größe der Mikrobenpopulation im Pansen in erster Linie von der Zusammensetzung der Ration abhängt (Übersicht in [49]).

So führen z.B. höhere Gaben von leicht löslichen Kohlenhydraten, wie Stärke, Pektin sowie Mono- und Disacchariden, zu einer höheren Bakterienmenge im Pansen. Ursache ist ein wesentlich schnelleres Wachstum der amylolytischen im Vergleich zu cellulolytischen Mikroben [170, 80].

Die Verfügbarkeit unterschiedlicher Stickstoffquellen (Peptide, Aminosäuren, Ammonium) stellt ebenfalls einen Einflussfaktor auf die Zusammensetzung der Mikrobenpopulation dar. Nach NOLAN & LENG [139] stammen bis zu 80 % des mikrobiell gebundenen Stickstoffs aus dem Ammoniumpool. Beträchtliche N-Mengen (20 bis 50 %) im Mikrobenprotein haben jedoch ihren Ursprung in Peptiden und Aminosäuren des Futters [110].

Die Lösbarkeit und Abbaubarkeit des Futterproteins sind entscheidend für die Bereitstellung von Ammonium oder Peptiden und Aminosäuren. Der Abbau des Futterproteins erfolgt intra- und extrazellulär durch mikrobielle Proteasen, Peptidasen und Deaminasen [199]. Sind die meisten Mikrobenspezies auf die alleinige Nutzung von Ammonium als Stickstoffquelle angewiesen, greifen andere Mikroben fakultativ auf Peptide oder Aminosäuren zurück [168, 200]. Außerdem können gelöste Proteine in die Mikrobenzellen absorbiert werden, bevor sie einer Proteolyse unterliegen [144].

Die Wirkung erhöhter Fettkonzentrationen im Futter für Wiederkäuer auf die Mikrobenpopulation ist bisher wenig untersucht worden. Die Wirkung von Fetten auf das allgemeine Fermentationsgeschehen wurden dagegen häufiger beschrieben (Übersichten in [186, 80]). ABEL et al. [2] konnten *in vitro* zeigen, dass erhöhte Fettgaben die Mikrobenmasse zwar senken, die Mikrobenkonzentration aber konstant bleibt. *In vivo* wurde keine Veränderung der Aminosäurezusammensetzung des Mikrobenproteins beobachtet [91]. Die Wirkung von Fettzulagen auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese wird noch kontrovers geführt. Es werden sowohl keine [57, 101, 148, 152] als auch positive Effekte dokumentiert [96, 150].

Neben den Rohnährstoffen kommen auch Mineralstoffe, Vitamine, Futterzusatzstoffe u.a. als Einflussfaktoren auf die Mikrobenpopulation in Frage. So konnte für Phosphor als Baustein des ATP und Teil des Puffersystems im Speichel bei Unterschreitung bestimmter Grenzwerte eine verminderte mikrobielle Aktivität festgestellt werden [154, 164, 129]. Die Zugabe von Schwefel als Komponente schwefelhaltiger Aminosäuren steigerte die mikrobiell Proteinsynthese [89], und die Zahl der Protozoen *in vitro* erhöhte sich [81].

Eine größere Zahl von Untersuchungen zielte auf die direkte Beeinflussung der Mikrobenpopulation im Pansen mittels Zugabe von Antibiotika (Übersicht in [48]) oder Hefen,

v.a. *Saccharomyces cerevisiae*. Letzteres führte sowohl *in vivo* [56] als auch *in vitro* [31] zu keiner signifikanten Verbesserung des Abbaus der Rohnährstoffe. *In vitro*-Untersuchungen mit *Saccharomyces boulardii* zeigten eindeutig, dass aufgetretene Tendenzen einer gesteigerten mikrobiellen Proteinsynthese allein auf das zusätzlich zur Verfügung stehende Substrat und nicht auf eine Aktivität der eingesetzten Hefen zurückzuführen sind [151].

Neben dem Ansatz, die Auswirkungen einer geänderten Zusammensetzung eines Futtermittels auf die Pansenmikroben zu bestimmen, gibt es Untersuchungen, die Fragen des Fütterungsmanagements in den Vordergrund stellen. Wurde z.B. eine Ration auf 6 oder 24 Gaben pro Tag aufgeteilt, dann bestanden im Vergleich zu einer einmaligen Verabreichung keine Unterschiede in der Mikrobekonzentration im Pansen von Schafen [50]. Weder die Fütterungshäufigkeit noch das Energieniveau der Ration bei Einsatz gleicher Futtermittel hatten einen sichtbaren Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobepopulation [35]. Der Einsatz gleicher Futtermittel in unterschiedlichen Verhältnissen zueinander führte zu keiner Veränderung der Nährstoffzusammensetzung der Pansenbakterien [91].

Dieser kurze Exkurs in das Ökosystem Pansen sollte verdeutlichen, wie komplex das Zusammenwirken von Wirtstier, inneren und äußeren Umweltbedingungen und den wechselseitigen Beeinflussungen der Mikroben untereinander ist. Unser Wissen und Verständnis um die Prozesse im Pansen sind äußerst begrenzt [65]. Die Vielzahl der Mikrobenspezies und unterschiedlichen Stoffwechselwege macht es schier unmöglich, alle Wechselbeziehungen zu erkennen und ihre Auswirkungen zu quantifizieren. Nach RUSSELL et al. [170] steht eher die Frage: *“What level of aggregation and detail will allow an adequate representation?”*.

Zwei grundsätzliche Lösungsansätze zur Untersuchung der Wirkung unterschiedlicher Rationen, Futtermittel oder Substrate auf das Pansenmilieu sind denkbar:

1. die Bestimmung des Abbaus der Rohnährstoffe, der mikrobiellen Syntheseleistung und der Zusammensetzung der Stoffwechselprodukte (kurzkettige Fettsäuren, Aminosäuremuster des Mikrobenproteins)
2. die Identifizierung, Quantifizierung und Bestimmung der relativen Anteile an der Gesamtpopulation von Mikrobenspezies bzw. -familien mit ähnlicher Enzymausstattung

Ersteres ermöglicht eine allgemeine Einschätzung der Fermentationsleistung im Pansen, das Erkennen potenzieller Einflussgrößen und die Ableitung der Versorgungslage des Wiederkäuers. Letzteres könnte die unter 1. beobachteten Effekte auf bestimmte Nährstoffe zurückführen und auf physiologischer Ebene erklären, sofern die Stoffwechselwege der einzelnen Spezies bekannt sind. Eine Qualifizierung und Quantifizierung der Syntheseprodukte der einzelnen Mikroben wäre somit möglich und die gerichtete Beeinflussung denkbar.

2 Aufgabenstellung

Die Mikroorganismen im Vormagen leisten durch den Abbau komplexer Kohlenhydratverbindungen und die Neusynthese von Protein einen wesentlichen Beitrag zur Versorgung des Wiederkäuers mit Energie und Aminosäuren. Eine Vielzahl von äußeren und inneren Faktoren wirken dabei auf den Umfang und die Zusammensetzung der Mikrobenpopulation. Dies hat Auswirkungen auf die Quantität und Qualität der gebildeten Stoffwechselendprodukte und des mikrobiellen Proteins. Die Komplexität der Wechselwirkungen zwischen der Rationszusammensetzung, den Ab-, Um- und Aufbauprozessen im Pansen sowie der Art und Zusammensetzung der am Dünndarm anflutenden Nährstoffe erlaubt es in der Regel nicht, einzelne Einflussfaktoren auf diese Prozesse im Tierversuch herauszuarbeiten. Der Erhalt einer konstanten Umwelt und die der Fragestellung angepasste Variation einzelner Parameter sind dagegen mit *in vitro*-Verfahren vergleichsweise einfach umzusetzen.

Die Quantifizierung des gebildeten mikrobiellen Proteins ist eine wesentliche Voraussetzung zur Abschätzung der Versorgung des Wiederkäuers mit Aminosäuren. Die Proteinsynthese im Pansen ist direkt abhängig von der Energie- und Stickstoffversorgung der Mikroben. Die Effizienz der mikrobiellen Syntheseleistung unterliegt jedoch großen Schwankungen, deren Ursachen in der Zusammensetzung der Ration vermutet werden. Unsere Kenntnisse über die Faktoren, die einen Einfluss auf die Effizienz der Proteinsynthese ausüben, und die Höhe des Ausmaßes der Änderungen der Syntheseleistungen sind begrenzt.

Die Änderung der Mikrobenpopulation als Reaktion auf unterschiedliche Futtermittel und Rationen ist vielfach beschrieben. Die Verschiebung der Speziesanteile an der Gesamtpopulation ist nicht in jedem Fall in einem differenzierten Muster der Aminosäuren des Gesamtproteins zu erkennen. Die Menge einer Aminosäure mikrobiellen Ursprungs, die dem Wirtstier am Dünndarm zur Verfügung steht, muss demnach nicht zwangsläufig verändert sein. Der Energieverbrauch zur Eigensynthese von Protein der verschiedenen Mikrobenarten unterscheidet sich jedoch deutlich voneinander. Eine Beschreibung der Mikrobenpezies bzw. -familien ist wünschenswert, um mit der Rationsgestaltung eine gezielte Förderung effizienter Mikroben vornehmen zu können. Eine Trennung der Mikrobenfraktionen in Bakterien, die an die flüssige oder feste Phase des Panseninhaltes gebunden sind, in Protozoen, Archeen und Pilze erlaubt nur eine grobe Klassifizierung. Die Verschiebung der Relationen der Spezies untereinander zu beschreiben, bleibt die Aufgabe zukünftiger Untersuchungen mit alternativen Identifikationsmethoden (z.B. genetische Marker).

Der Einsatz von Totalen Mischrationen (TMR) ist in der Milchkuhfütterung weit verbreitet. Dieses Fütterungssystem gründet auf der Erkenntnis, dass ein Optimum der mikrobiellen Syntheseleistung bei einem gleichzeitigen und ausreichenden Angebot an Energie und Stickstoff gegeben ist. Zudem werden durch die gleichbleibende Mischung kurzzeitige Schwankungen im Pansenmilieu vermieden, wie sie bei der aufeinander folgenden Fütterung von einzelnen Futtermitteln auftreten können.

Auf der Grundlage der vorangegangenen Überlegungen wurden folgende Aufgaben und Problemstellungen formuliert¹:

1. Erarbeitung einer *in vitro*-Methode zur Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen bei Einsatz von Mischrationen für Milchkühe (TMR)
2. Beurteilung der gewählten Methode hinsichtlich Fehlerpotenzial und Übertragbarkeit der Ergebnisse auf *in vivo*-Verhältnisse
3. Isolation und Charakterisierung verschiedener Mikrobenfraktionen (gebunden an die flüssige oder feste Phase des Panseninokulums)
4. Vergleich der TMR hinsichtlich
 - a) Abbau der Rohnährstoffe, Detergenzienfasern und Energie
 - b) Effizienz der Proteinsynthese der Mikroben
 - c) Bildung kurzkettiger Fettsäuren
 - d) Aminosäurenmuster des Proteins der Mikrobenfraktionen

bei gleichbleibendem pH-Wert und Passagerate der flüssigen Phase

5. Untersuchung der Wirkung unterschiedlicher Ammoniumkonzentrationen auf das Fermentationsgeschehen
6. Ermittlung von Einflussfaktoren auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese
7. Abschätzung der quantitativen Änderung des gebildeten Mikrobenproteins bei Einsatz qualitativ unterschiedlicher TMR
8. Bestimmung der Menge an gebildeten kurzkettigen Fettsäuren
9. Darstellung des Aminosäurenmusters des Proteins der isolierten Mikrobenfraktionen
10. Ableitung möglicher Einflussfaktoren auf die Zusammensetzung des Mikrobenproteins

¹Die formulierten Aufgaben beziehen sich ausschließlich auf *in vitro*-Untersuchungen.

3 Material und Methoden

Zur Klärung der Fragen zu mikrobiellen Umsetzungsprozessen im Pansen wurden 16 Mischrationen (TMR) für Milchkühe in einem semi-kontinuierlichen Pansen-Simulationssystem mittels stabilem Isotop ^{15}N als Marker geprüft. Identische Umweltparameter sollten sicherstellen, dass die erhobenen Daten innerhalb dieser Arbeit vergleichbar sind. Die eingesetzten Futtermittel, die nach Standardmethoden bestimmte Zusammensetzung und zwei unterschiedliche Ammoniumkonzentrationen der zugeführten Pufferlösung stellten die Einflussfaktoren auf das Fermentationsgeschehen dar. Zur näheren Kennzeichnung der Rationen standen zudem die Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe aus standardisierten Verdaulichkeitsversuchen mit Hammeln zur Verfügung. Neben dem Abbau der Rohnährstoffe, der Detergenzienfasern und der Bruttoenergie nach 48 stündiger Inkubation wurden nach identischer Probengewinnung und -aufbereitung bei den 15 durchgeführten Versuchen die Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren in der Überlauf-Flüssigkeit und die Aminosäuremuster von 3 isolierten Mikrobenfraktionen bestimmt.

3.1 *In vitro* - Verfahren

In vitro-Verfahren haben den Vorteil, grundlegende physiologische Abläufe darstellen zu können, ohne die Variabilität des biologischen Systems 'Tier' berücksichtigen zu müssen.

Das hier verwendete Pansen-Simulationssystem (RUSITEC, rumen simulation technique) nach CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE [44] ist geeignet, eine Mikrobenpopulation über einen längeren Zeitraum zu erhalten, die den natürlichen Gegebenheiten im Pansen nahe kommt. Alle Umweltbedingungen, wie pH-Wert, Temperatur, Durchflussrate, Bewegungsintervall, Futtermenge, Futterzusammensetzung usw., können kontrolliert und der Fragestellung angepasst werden. Zudem ist das System sehr einfach aufgebaut (Abb. 1). Zum Start einer Inkubation sind Spendertiere (in der Regel Pansen-fistelierte Hammel) notwendig, um Panseninhalt (Inokulum) zu gewinnen.

3.1.1 Technische Umsetzung

Eine Dosierpumpe (Peristaltik-Pumpe mit maximal 8 Ausgängen der Ole Dich Instrument-makers ApS, Anhang, Abb. 7) förderte mittels Schlauch (Tygon Silicon; Innendurchmesser 0,8 mm, nachfolgend auf 5,0 mm erweitert) kontinuierlich eine Salzlösung (Pufferlösung, Abschnitt 3.2.1). Diese von unten in den Fermentationsraum einfließende Pufferlösung dient in erster Linie der Aufrechterhaltung eines definierten pH-Wertes. Des Weiteren können auf diesem Weg Mineralstoffe, Marker oder andere wasserlösliche Substanzen in das System eingeführt werden.

Die zylinderförmigen Fermentationsgefäße standen in einem 39 °C warmen Wasserbad (Anhang, Abb. 8). Ein Thermostat mit Heizung und Umwälzpumpe sorgte für eine gleich-

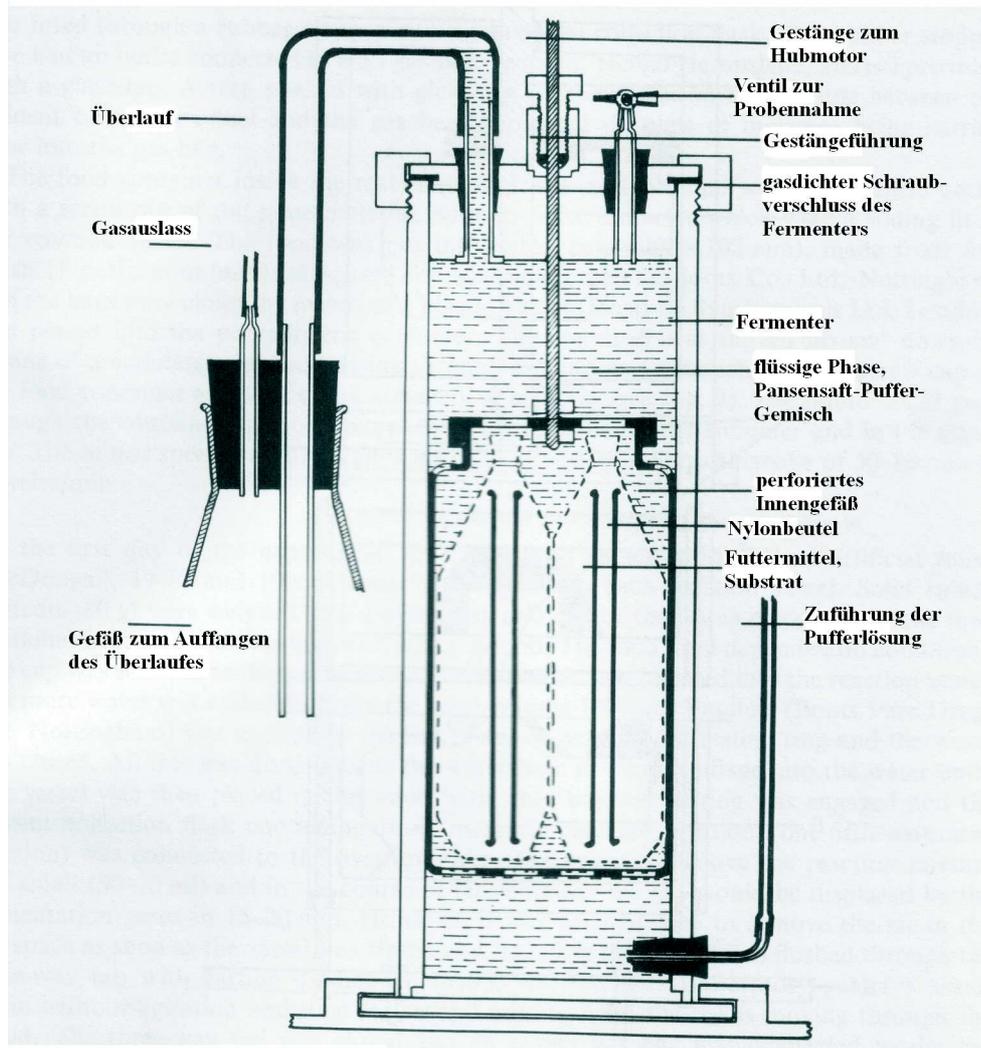


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Aufbaus der Pansen-Simulation (verändert nach CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE [44])

bleibende Temperatur.

Die aus den Fermentern überlaufende Suspension (“Überlauf”) wurde über Schläuche in Glaskolben überführt, die in einem Wasserbad bei 4 °C standen. Die Kühlung erfolgte mit einem Minichiller der Firma Huber, wobei das Wasser ständig über eine Umwälzpumpe bewegt wurde.

Die natürliche Pansenmotorik wurde mittels Elektromotor nachgeahmt, dessen Drehbewegung über ein Gestänge in eine vertikale Bewegung überführt wurde. An dem Gestänge befestigt waren die perforierten Innengefäße der Fermenter. Sie enthielten verpackt in Nylonbeutel (Nylonsiebgewebe der Fa. Linker Industrie Technik GmbH, Kassel; Porengröße 100 µm; 100 × 50 mm) das zu untersuchende Substrat.

3.1.2 Spendertiere

Zum Start der Fermentation sind sowohl flüssige (Pansensaft) als auch feste Bestandteile (Schwimmschicht) des Panseninhaltes notwendig. Vier fistelierte Hammel der Rasse ‘Schwarzköpfiges Fleischschaf’ wurden zu diesem Zweck im Nutztierwissenschaftlichen Zentrum der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Merbitz aufgestellt. Die Pansenfisteln waren zuvor operativ im Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover eingesetzt worden.

Die Tiere erhielten täglich 200 g eines handelsüblichen Konzentratfutters (Anhang, Tab. 20) und Wiesenheu (Anhang, Tab. 21) zur freien Aufnahme. Ergänzend wurde dem Konzentrat je Tier und Tag 10 g einer Mineralstoffmischung (Anhang, Tab. 22) zugesetzt. Wasser stand den Tieren zu jeder Zeit zur Verfügung.

Die flüssige Phase des Panseninhaltes wurde mittels Saugrohr mit aufgesetztem Filterkopf und Saugspritze durch die Kanüle der Pansenfistel entnommen (Anhang, Abb. 9) und anschließend durch ein Leinentuch gegeben. Damit konnten kleine Futterpartikel und Schwebstoffe abgetrennt werden. Bis zur Verarbeitung verblieb der Pansensaft in vorgewärmten Thermosbehältern.

Für die Entnahme der Schwimmschicht stand ein eigens dafür konzipiertes, zusammengesetztes Rohr zur Verfügung, wie es unter Abbildung 10 (Anhang) zu sehen ist. Jeweils ein Kunststoff- und ein Aluminiumrohr wurden etwa bis zur Hälfte der Gesamtlänge aufgesägt und am Ende mit einem abgerundeten Pfropfen verschlossen. Da das Aluminiumrohr einen geringfügig kleineren Durchmesser als das Kunststoffrohr aufweist, können beide ineinander geschoben werden. Dieses Doppelrohr wurde in geöffneter Stellung durch die Fistel in den Pansen eingeführt. Das Drehen des inneren Rohres bewirkt den Einschluss eines Teiles der festen Phase. Der Rohrinhalt wurde in einer vorgewärmten Nierenschale aufgefangen. Die kurzzeitige Lagerung bis zur Verarbeitung erfolgte in einem verschlossenem Becherglas bei 39 °C im Trockenschrank.

3.1.3 Ablauf des Verfahrens

Zu Beginn einer Inkubation werden $\sim 0,4$ l der flüssigen und ~ 60 g der festen Phase des Panseninhaltes pro Fermentationsgefäß benötigt. Sowohl vom Pansensaft als auch von der Schwimmschicht wird immer ein Gemisch mehrerer Tiere verwendet.

Abgefilterte feste Bestandteile wurden mit den gewonnenen Teilen der Schwimmschicht gemischt und in die Nylonbeutel gegeben. Der abtropfende Pansensaft wurde in einem Becherglas aufgefangen und mit dem übrigen flüssigen Panseninhalt gemischt. Ein Innengefäß eines Fermenters nahm je einen Nylonbeutel mit fester Phase des Panseninhaltes und mit der zu untersuchenden Futtermischung auf. Danach wurde der Behälter verschlossen und in das Fermentationsgefäß eingepasst.

Im nächsten Schritt erfolgte die Befüllung des Fermenters mit einer Mischung zu gleichen

Anteilen vorgewärmter Pufferlösung ohne Marker (Abschnitt 3.2.1) und Pansensaft. Mittels Schraubverschluss wurden die einzelnen Fermentationsgefäße luftdicht verschlossen. Waren alle Fermenter auf die beschriebene Art und Weise bestückt und an das Gestänge angeschlossen, wurde die Inkubation durch Anschalten des Elektromotors und der Dosierpumpe gestartet.

Die Dosierungsmenge der Pufferlösung ist abhängig vom angestrebten pH-Wert und der zur Analyse erforderlichen Menge an 'Überlauf'. In allen Versuchen, die in die Auswertung für diese Arbeit eingegangen sind, lag die an der Dosierpumpe eingestellte Durchflussrate bei 600 ml/d bzw. 75 % des Inhaltes der Fermenter.

Die Anzahl der Umdrehungen des Elektromotors zur Simulation der natürlichen Pansenbewegung betrug in allen Versuchen 10 –12/min. Aufgrund der technischen Grenzwerte des Elektromotors ließ sich keine geringere Umdrehungsgeschwindigkeit einstellen.

24 h nach Start der Inkubation wurden die Fermenter einzeln geöffnet, der Nylonbeutel mit der festen Phase des Panseninhaltes entnommen und durch einen Nylonbeutel mit dem zu untersuchenden Futter ersetzt.

Dasselbe Prinzip wurde an den folgenden 14 Tagen angewendet. Der Nylonbeutel mit dem Futterrest, der 48 h im Fermenter inkubiert war, wurde entnommen und gegen einen neuen Nylonbeutel mit Futter ersetzt. Die Abgrenzung der Futterbeutel erfolgte durch farbliche Unterschiede des verwendeten Garns und Kabelbinders.

Zeitgleich wurde ein sauberes Überlaufgefäß gegen das nun gefüllte des jeweiligen Fermenters getauscht.

3.2 Verwendete Lösungen

3.2.1 Pufferlösung

Die zugeführte Pufferlösung soll die Aufgaben des Speichels eines Wiederkäuers übernehmen, wie

- Flüssigkeitszufuhr
- pH-Wert Stabilisierung durch Pufferung der gebildeten Säuren und
- Zuführung von Mineralstoffen.

In vitro können mit dieser Pufferlösung notwendige Markersubstanzen in das System eingeführt werden. In vorliegender Untersuchung wurde Ammoniumchlorid (NH_4Cl) zugesetzt, das mit dem natürlichen Isotop ^{15}N angereichert war (Chemotrade Chemiehandels-gesellschaft mbH Leipzig, deklariert 10 at.-%). Zur Klärung der Hypothese, dass die Ammoniumkonzentration einen Einfluss auf das Fermentationsgeschehen ausübt, wurden zwei unterschiedliche Gehalte von NH_4Cl verwendet ("niedrig" und "hoch").

Die "niedrige" Ammoniumkonzentration von 0,7 mmol/l (0,0378 g NH_4Cl /l entspricht 9,8 mg N/l) gewährleistete eine sicher messbare Anreicherung von ^{15}N . Die "hohe" Ammoniumkonzentration von 5,0 mmol/l (0,267 g NH_4Cl /l entspricht 69,0 mg N/l) lag unterhalb des Stickstoffgehaltes im Mischspeichel von Schafen, der laut McDOUGALL [127] zwischen 90 und 360 mg/l liegt. In genannter Untersuchung waren jedoch organische und anorganische Stickstoffverbindungen in die Betrachtung einbezogen worden.

Zu beachten ist, dass die Pufferlösung mit der "hohen" Ammoniumkonzentration einen niedrigeren pH-Wert (8,6 vs. 8,9) aufwies.

Mit der Auswahl der eingesetzten Salze und deren prozentualen Anteilen lässt sich die Produktionsrate kurzkettiger Fettsäuren und die Bildung von Fermentationsgasen als Indikator der Umsetzungsprozesse direkt verändern [24]. Das heißt jedoch auch, dass die Mikrobenpopulation durch eine veränderte Pufferlösung beeinflusst wird. Für Fragen der Futtermittelbewertung kommt also nur eine gleichbleibende Zusammensetzung in Frage.

Da in dieser Arbeit sowohl energiereiche, leicht fermentierbare als auch rohfaserreiche, schwer abbaubare Rationen geprüft wurden, ist die optimale Einstellung des pH-Wertes und der Ammoniumkonzentration in der Lösung für alle Versuche unmöglich, wenn die Vergleichbarkeit gegeben sein soll. In der Hinsicht stellt der hier verwendete Puffer (Tab. 1) einen Kompromiss dar.

Tabelle 1: Zusammensetzung der zugeführten Pufferlösung (in Anlehnung an McDOUGALL [127])

Name	chemisches Symbol	g/l	mmol/l
Natriumchlorid	$NaCl$	0,468	8,04
Kaliumchlorid	KCl	0,570	7,65
Kalziumchlorid	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,032	0,22
Magnesiumchlorid	$MgCl_2 \cdot 12H_2O$	0,128	0,63
Natriumhydrogenphosphat	$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	9,383	26,20
Natriumhydrogencarbonat	$NaHCO_3$	9,905	117,90

Der vergleichsweise hohe pH-Wert der Pufferlösung gewährleistet auch bei Rationen mit einem hohen Anteil leicht löslicher Kohlenhydrate eine neutrale Reaktion im Fermentationsgefäß.

3.2.2 Lösung zur Isolation der SAB

An Futterpartikel gebundene Bakterien (im Folgenden bezeichnet: solid associated bacteria, SAB) können je nach Spezies durch Abkühlung auf 4 °C oder durch Zusatz einer Methylcelluloselösung von der Matrix getrennt werden [135]. Eine Lösung von 1 g/l Methylcellulose und 9 g/l Natriumchlorid in Wasser führte zu einer fast vollständigen Abtrennung der SAB von den Futterpartikeln [161] und kam in allen Versuchen zur Anwendung.

3.2.3 Lösung zum 'Waschen' der isolierten Mikroben

Zwischen den einzelnen Zentrifugationsschritten (Abschnitt 3.5) wurde zum Reinigen und Spülen der Mikroben eine 0,9 %ige Natriumchloridlösung verwendet. Damit ist der Erhalt der Isotonie gewährleistet.

3.3 Zeitlicher Verlauf der Untersuchung

Im Zeitraum vom 25.11.2002 bis 24.01.2004 wurden 13 *in vitro*-Versuche durchgeführt, bei denen 16 TMR (total mixed ration) mit einer "niedrigen" Ammoniumkonzentration im Puffer (Abschnitt 3.2.1) und 8 TMR mit einer "hohen" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden. Die Termine der Einzelversuche und die Zuordnungen der Versuchsbezeichnungen und eingesetzten TMR sind Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2: Zeiträume der Einzelversuche, verwendete Rationen und jeweilige Ammoniumkonzentration im Puffer

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Zeitraum	Ammoniumkonzentration im Puffer
3	A	25.11.02 - 14.12.02	niedrig
4	B	30.12.02 - 18.01.03	niedrig
5	C	04.02.03 - 19.02.03	niedrig
	D	07.02.03 - 22.02.03	niedrig
6	E	01.04.03 - 16.04.03	niedrig
	F	04.04.03 - 19.04.03	niedrig
7	G	06.05.03 - 21.05.03	niedrig
	H	09.05.03 - 24.05.03	niedrig
8	I	02.06.03 - 18.06.03	niedrig
	J	05.06.03 - 21.06.03	niedrig
9	K	08.07.03 - 23.07.03	niedrig
	L	11.07.03 - 26.07.03	niedrig
10	M	05.08.03 - 20.08.03	niedrig
	M ⁺	08.08.03 - 23.08.03	hoch
11	N	09.09.03 - 24.09.03	niedrig
	N ⁺	12.09.03 - 27.09.03	hoch
12	D ⁺	14.10.03 - 29.10.03	hoch
	G ⁺	17.10.03 - 01.11.03	hoch
13	O	11.11.03 - 26.11.03	niedrig
	P	14.11.03 - 29.11.03	niedrig
14	K ⁺	08.12.03 - 23.12.03	hoch
	L ⁺	11.12.03 - 26.12.03	hoch
15	O ⁺	06.01.04 - 21.01.04	hoch
	P ⁺	09.01.04 - 24.01.04	hoch

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Dem voraus gegangen waren zwei Vorversuche. Diese dienten der Festlegung der Futtermenge und des Pufferdurchflusses, die notwendig sind, um in einem angemessenen zeitlichen

Rahmen genügend Probenmaterial zur Analyse sammeln zu können. Des Weiteren wurden Methoden zur Gewinnung der einzelnen Mikrobenfraktionen auf ihre Anwendbarkeit getestet und notwendige analytische Fertigkeiten erworben. Die Ergebnisse der Vorversuche sind nicht in diese Arbeit einbezogen worden.

3.4 Futtermittel

Die in der vorliegenden Untersuchung verwendeten TMR für Rinder wurden definiert als Mischung von mindestens zwei Futtermitteln, von denen eines eine Silage war. Die Kombination von zwei oder mehr Silagen bzw. Grundfuttermitteln ohne den Zusatz eines Konzentratfuttermittels wurde ebenfalls als TMR angesehen.

Die Zusammensetzung der Mischrationen ist in Tabelle 3 dargestellt. 15 der 16 TMR enthielten Maissilage in Anteilen zwischen 10 und 54 % in der Trockensubstanz. Auch Anwelk-

Tabelle 3: Zusammensetzung der untersuchten TMR (Angaben in % T)

TMR	A ^b	B ^{b,c}	C ^d	D	E	F	G	H
Maissilage	25,0	24,0	42,2	36,9	24,7		33,0	53,8
Anwelksilage	23,0	23,0	11,2	13,0	44,4	93,0	55,6	27,9
Pressnitzelsilage			4,7	6,8				
Luzernesilage					13,6			
Lieschkolbensilage	17,0	17,0						
Biertreber, konserviert	7,0	7,0				7,0		
Heu, Stroh								
Getreide (Gerste, Weizen)	9,0	8,0			17,3			
Sojaextraktionsschrot (SES)	16,0							
Rapsextraktionsschrot (RES)		17,0						
Erbsen							11,4	18,3
Hofmischung ^a			41,9	43,3				

TMR	I	J	K	L	M	N	O	P
Maissilage	20,5	10,1	19,0	19,0	13,1	16,6	45,6	40,0
Anwelksilage	36,8	31,8	30,0		81,8	37,3	48,7	13,0
Pressnitzelsilage	6,1	6,0						
Luzernesilage	14,0			29,0				
Lieschkolbensilage			20,0	20,0				10,0
Biertreber, konserviert			4,0	4,0				8,0
Heu, Stroh			1,0	1,0	5,1		5,7	1,0
Getreide (Gerste, Weizen)	22,6	29,4	9,0	12,0		23,0		9,0
Sojaextraktionsschrot (SES)		19,1				23,1		
Rapsextraktionsschrot (RES)		3,5	4,0	4,0				10,0
Gemisch SES/RES (geschützt)			12,0	10,0				8,0

^ageschütztes Fett, Fischmehl, Körnermais, Palmkuchen, Rapsschrot, Sojaschrot, Gerste und Propylenglycol

^bzusätzlich 3%Propylenglycol und Vitamin- und Mineralstoffmischung

^czusätzlich 1% geschütztes Futterfett

^dzusätzlich 0,7% Vitamin- und Mineralstoffmischung

silage aus Grünlandbeständen des ersten oder zweiten Aufwuchses wurden in 15 Mischungen verwendet. Als weitere Grundfutterkomponenten kamen Pressschnitzel-, Lieschkolben-, Luzerne- und Biertrebersilage sowie Heu bzw. Stroh zum Einsatz. Die Ergänzung durch Konzentrate erfolgte hauptsächlich über Getreide und Extraktionsschrote von Soja- und Rapssaaten. 2 TMR enthielten Erbsen in geschroteter Form.

Die TMR A und B [103], C bis J sowie N [20] und K, L und P [27] waren bereits Gegenstand anderer Fragestellungen. In diesem Zusammenhang wurden u.a. die Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe und Detergenzienfasern untersucht (Abschnitt 4.1). Die Zuordnung der hier verwendeten Mischrationen zur Originalliteratur kann Tabelle 23 (Anhang) entnommen werden.

Die Aussagekraft einer Futtermittel- bzw. Rationsbewertung wird u.a. durch die Variabilität der Konzentration der analysierten Nährstoffe bestimmt. Tabelle 4 zeigt, dass die untersuchten TMR Gehalte vorwies zwischen 874 und 947 g/kg T für die Organische Substanz (OS), 123 und 213 g/kg T für Rohprotein (XP), 20 und 48 g/kg T für Rohfett (XL) und 159 und 282 g/kg T für Rohfaser (XF). Die Neutral-Detergenzien-Faser (NDF) bzw. Säure-Detergenzien-Faser (ADF) schwankten in einem Bereich von 290 und 552 g/kg T bzw. 163 und 314 g/kg T.

Die Trennung des Datenpools zeigt Einschränkungen der Streuung bei den TMR, die bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden (Tab. 4), da hier nur 8 statt 16 Rationen einbezogen wurden.

Für die *in vitro*-Parameter Gasbildung (Gb) und Enzymatisch Lösbare Organische Substanz (ELOS) konnten Werte zwischen 42,9 und 50,3 ml/200 mg T bzw. 599 und 798 g/kg T ermittelt werden. Die Spanne in der ELOS verminderte sich auch bei Reduzierung des Datenpools nur geringfügig. Die Variabilität der Gasbildung ist insgesamt als sehr niedrig einzuschätzen, und es stehen nur wenige Daten zur Verfügung.

In die *in vitro*-Prüfung gingen ausschließlich TMR ein, die zuvor im standardisierten Verdaulichkeitsversuch am Hammel [4] untersucht worden sind. Die Verdaulichkeit eines Nährstoffes (in %) wurde dabei definiert als Differenz zwischen Aufnahme mit dem Futter und Ausscheidung mit dem Kot in Relation zur Aufnahme:

$$Verdaulichkeit_x = \frac{(Aufnahme_x - Ausscheidung_x)}{Aufnahme_x} \cdot 100 \quad (1)$$

x : betrachteter Nährstoff

Aufnahme in g/d

Ausscheidung in g/d

Tabelle 4: Analytierte Parameter der TMR in den einzelnen Versuchen und Spannweiten bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer

Versuchs- Nummer	TMR	$T_{original}^a$	$T_{trocken}^b$	OS	XP	XL	XF	ELOS	Gb	NDF	ADF
		g/kg	g/kg	g/kg T	ml/ 200 mg T	g/kg T	g/kg T				
3	A	439	937	933	186	20,3	171			305	163
4	B	438	932	937	162	30,6	175			332	185
5	C	485	925	914	195	37,8	168	756	47,8	314	188
5 und 12	D	445	932	918	200	37,5	164	725	46,3	316	206
6	E	384	947	928	123	35,9	257	652	42,9	456	267
6	F	352	945	886	174	47,6	282	702	43,6	497	289
7 und 12	G	379	926	893	179	41,0	233	753	44,9	373	233
7	H	346	956	928	134	39,8	233	756	50,3	364	224
8	I	364	954	933	128	26,7	271	673	45,6	461	280
8	J	314	942	921	150	30,2	239	798	50,3	406	237
9 und 14	K	448	941	935	172	40,4	179	737	49,0	344	198
9 und 14	L	459	934	938	182	37,0	187	696		335	217
10	M	385	942	874	166	25,4	243	599		552	314
11	N	448	947	903	213	26,4	159	778		290	178
13 und 15	O	366	944	903	137	36,5	249	609		476	283
13 und 15	P	419	950	947	160	40,0	172	730		369	198

NH_4^+											
niedrig	Mittelwert	404	941	918	166	34,6	211	712	46,7	387	229
	Minimum	314	925	874	123	20,3	159	599	42,9	290	163
	Maximum	485	956	947	213	47,6	282	798	50,3	552	314
	n	16	16	16	16	16	16	14	9	16	16
hoch	Mittelwert	419	940	914	176	35,5	198	703	46,7	382	229
	Minimum	366	926	874	137	25,4	159	599	44,9	290	178
	Maximum	459	950	947	213	41,0	249	778	49,0	552	314
	n	8	8	8	8	8	8	8	3	8	8

^aTrockensubstanzgehalt der originalen TMR

^bTrockensubstanzgehalt der TMR nach 24 h Trocknung bei 65 °C, Ausgangssubstrat für die *in vitro* - Untersuchung

Die Umsetzbare Energie (ME) wurde berechnet aus der verdaulichen Rohfaser, dem verdaulichen Rohfett und dem verdaulichen Rest (jeweils in g) [68].

$$\text{verdaulicher Rest} = (DOS - DXL - DXF) \quad (2)$$

DOS verdauliche Organische Substanz in g

DXL verdauliches Rohfett in g

DXF verdauliche Rohfaser in g.

Die Berechnung der Nettoenergie Laktation (NEL) erfolgte nach Angaben von VAN ES [62].

3.5 Probengewinnung und -aufbereitung

Die TMR und die aus den Fermentern entnommenen Futterreste wurden nach der Trocknung und dem Mahlen der Laboranalyse zugeführt. Die Isolation der Mikroben aus den gewonnenen Lösungen bzw. Suspensionen erfolgte durch Differenzial-Zentrifugation (nacheinander folgende Zentrifugationsschritte mit unterschiedlichen Parametern), wobei die Trennung der SAB von ihrem Medium zuvor durch Einsatz einer speziellen Lösung durchgeführt wurde (Abschnitt 3.2.2). Für die Zentrifugationen stand eine Suprafuge 22 der Heraeus Instruments GmbH mit einem Festwinkel-Rotor HFA 22.50, Volumen 8 x 40 ml zur Verfügung.

Für die Probenaufbereitung zur Analyse der kurzkettigen Fettsäuren und der ^{15}N -Anreicherung im Überlauf mussten alternative Techniken erarbeitet werden, da zum Einen organische Stoffe in der Lösung die Messung am Gaschromatographen behinderten und zum Anderen die Stickstoffkonzentration in den Lösungen zum Teil für eine direkte Messung an einem Emissionsspektrometer zu gering waren.

Im Folgenden werden die Arbeitsschritte detailliert beschrieben.

3.5.1 Futter

Die Rationen wurden als Mischung bei 65 °C über einen Zeitraum von 24 h getrocknet und nach dem Abkühlen bei Zimmertemperatur gemahlen (Siebdurchgang 1 mm). 15 g dieser lufttrockenen Substanz wurden in die Nylonbeutel eingewogen. Die bei der Einwaage gewonnenen repräsentativen Proben gelangten zur Analyse der Weender Rohnährstoffe in das institutseigene Labor (Abschnitt 3.7.1). Die Detergenzienfasern nach VAN SOEST [182], die Gasbildung nach MENKE et al. [131] und die Enzymatisch Lösbare Organische Substanz nach DE BOEVER et al. [47] waren in anderen Untersuchungen bereits bestimmt worden [103, 20, 27]. Diese analysierten Werte wurden übernommen.

3.5.2 Futterbeutel, Restfutter

Jeder Nylonbeutel mit Futter verblieb 48 h im Fermentationsgefäß. Nach der Entnahme wurden die Beutel in je 2 x 40 ml der verwendeten Pufferlösung (Abschnitt 3.2.1) gespült, mit mäßiger Kraft in der Hand ausgedrückt, einzeln in Folienbeutel verpackt und bei 65 °C über 24 h getrocknet. Nach dem Abkühlen bei Zimmertemperatur erfolgte die Rückwaage des Futterrestes ohne Nylonbeutel. Nach Bestimmung der Trockensubstanz im Futter und dem Futterrest (Abschnitt 3.7.1) wurde mit folgender Gleichung die abgebaute Trockensubstanz ($T_{abg.}$ in %) berechnet:

$$T_{abg.} = \frac{T_{in} - T_{out}}{T_{in}} \cdot 100 \quad (3)$$

T_{in} Futter in g T pro Futterbeutel

T_{out} Futterrest in g T pro Futterbeutel

2 x 1,0 bis 1,3 g des Futterrestes wurden in Porzellantiegel eingewogen, bei 650 °C etwa 22 h im Muffelofen verascht und im Exsikkator auf Zimmertemperatur abgekühlt. Anhand der Differenz zwischen Einwaage (in g T) und Rückwaage (in g T) erfolgte nach

$$XA = \frac{Rückwaage}{Einwaage} \cdot 100 \quad (4)$$

die Berechnung des Aschegehaltes der Probe (XA in %). Der Mittelwert der Doppelbestimmung diene als Grundlage aller weiteren Berechnungen.

In den vom 7. bis 14. Versuchstag gepoolten und auf 0,5 mm Siebdurchgang gemahlene Proben wurden nachfolgend der Stickstoffgehalt, der Rohfasergehalt und die Detergenzienfasern analysiert (Abschnitt 3.7.1) sowie die ^{15}N -Konzentration (Abschnitt 3.7.5) und der physikalische Brennwert gemessen.

3.5.3 Überlauf

Die tägliche Überlaufmenge wurde mittels Wägung bestimmt. Eine Erfassung der in der Überlaufflüssigkeit befindlichen feinen Futterpartikel erfolgte nicht. In der Bilanz stellen diese Futterreste einen Teil der abgebauten Futtersubstanz dar.

Je 320 ml der gut gemischten Überlaufflüssigkeit der Tage 7 bis 15 dienten der Isolation der Referenzmikroben. Dazu musste dieses Volumen zunächst bei 1200 / min und 4 °C über 5 min zentrifugiert und der Überstand eingefroren werden.

3.5.4 TB (Referenzbakterien)

Unter Referenzbakterien wird im Weiteren die Mikrobenpopulation verstanden, die aus der Überlaufflüssigkeit gewonnen wurde. Die Isolation erfolgte in Anlehnung an die von BRANDT & ROHR [21] beschriebene Vorgehensweise.

Nach dem Auftauen der einmal vorzentrifugierten Überlaufflüssigkeit (Abschnitt 3.5.3) diente ein weiterer Zentrifugationsschritt bei unveränderten Parametern zur Abtrennung letzter Futterpartikel. Der so gewonnene Überstand wurde nachfolgend dreimal bei 15000 / min und 4 °C über 15 min zentrifugiert. Zwischen den Zentrifugationsschritten erfolgte jeweils eine Spülung der abgesetzten Mikroben mit 10 ml Natriumchloridlösung (Abschnitt 3.2.3) pro Zentrifugenröhrchen².

Der klare, partikelfreie Überstand nach dem ersten der drei Zentrifugationsschritte diente der Gewinnung der Proben zur Bestimmung des Ammoniumgehaltes im Überlauf (Abschnitt 3.7.1) und der Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren (Abschnitt 3.5.8).

Nach dem letzten Zentrifugationsschritt wurde die Flüssigkeit verworfen und die Röhrchen einschließlich abgesetzter Mikroben tiefgefroren. Nach kurzem Antauen der Wand des Zentrifugenröhrchens konnte das Mikrobenpellet entnommen und einzeln pro Fermenter und Tag bei -18 °C gelagert werden.

Das Mörsern der nachfolgend gefriergetrockneten Mikrobenpellets erwies sich als sinnvoll, da das zur Analyse notwendige Mahlen auf 0,5 mm Siebdurchgang einen zu großen Substanzverlust bei geringem Probenumfang mit sich brachte. Die staubfein gemörserten Mikroben der Tage 7 bis 15 (in Ausnahmen der Tage 7 bis 12) wurden gepoolt und für die Bestimmung der ¹⁵N-Anreicherung und des Aminosäurenmusters des Proteins verwendet.

Zur Darstellung der Dynamik der ¹⁵N-Anreicherung in den Referenzbakterien war es notwendig, sowohl aus dem Pansensaft beim Start der Inkubation als auch an allen folgenden Tagen aus der Überlaufflüssigkeit Bakterien nach dem beschriebenen Prinzip zu gewinnen. Dies erfolgte bei den Versuchen 13 und 15. Damit sollten die bis dato genutzten Literaturangaben [129] zum Zeitpunkt des Erreichens der Plateauanreicherung überprüft werden. An den Tagen 1 bis 6 erwiesen sich 160 statt 320 ml Überlauf als ausreichend, um eine für die ¹⁵N-Messung notwendige Probenmenge gewinnen zu können.

3.5.5 LAB (liquid associated bacteria)

Als LAB (liquid associated bacteria) sollen in dieser Arbeit die Mikroben definiert werden, die am Versuchsende (Tag 15) aus der Flüssigkeit im Fermenter gewonnen wurden. Die am letzten Tag entnommenen zwei Futterbeutel pro Fermenter wurden in 2 x 40 ml der verwendeten Pufferlösung gespült. Die Spülflüssigkeit und der restliche Fermenterinhalt wurden gemischt und zur Unterbindung der Mikrobentätigkeit bis zur Verarbeitung bei 4 °C gelagert.

²Das Fassungsvermögen der verwendeten Zentrifugenröhrchen beträgt 40 ml, so dass zur Aufbereitung des Überlaufes 8 Röhrchen pro Fermenter und Tag benötigt wurden.

Die Vorzentrifugation der gut gemischten Suspension erfolgte bei 1200 / min und 4 °C über 5 min. Der Überstand wurde abpipettiert und bei –18 °C eingefroren. Die weitere Aufbereitung und Isolation der Mikroben entspricht der unter Abschnitt 3.5.4 beschriebenen Vorgehensweise.

3.5.6 SAB (solid associated bacteria)

Die Isolation der am Futterrest anhaftenden SAB (solid associated bacteria) erfolgte in Anlehnung an die von MINATO & SUTO [135] beschriebene Methode nach Carro & Miller [34]. Dazu wurden am Versuchsende resp. am 15. Inkubationstag beide Futterbeutel entnommen, in 2 x 40 ml der Pufferlösung gespült und zusammen in ein Becherglas mit 240 ml der unter Abschnitt 3.2.2 beschriebenen, vorgewärmten Methylcellulose-Lösung gegeben. Die verschlossenen Bechergläser verblieben für 30 min bei 39 °C in einem Trockenschrank. Danach wurden die Futterbeutel in der Lösung gespült, mit mäßiger Kraft in der Hand ausgedrückt und zum Trocknen in Folienbeutel verpackt. Um eine rasche Abkühlung zu erreichen, wurde anschließend die anfallende Suspension pro Fermenter mit 500 ml einer 4 °C kalten Methylcellulose-Lösung gemischt und für ca. 6 h bei 4 °C gelagert. Die Gewinnung der SAB erfolgte mit den unter Abschnitt 3.5.4 beschriebenen Schritten.

3.5.7 Proben für die ^{15}N - Bestimmung

Die Analyse der ^{15}N - Anreicherung erfolgte im Futterrest und allen isolierten Mikrobenfraktionen nach dem Trocknen und Mahlen (Siebdurchgang 0,5 mm) bzw. Mörsern.

Die Stickstoffkonzentration in den Überlauf-Proben der Versuche mit “niedriger” Ammoniumkonzentration im Puffer erwies sich als zu gering und lag unterhalb der Nachweisgrenze des eingesetzten Emissionsspektrometers. Aus diesem Grund wurden täglich 25 ml der partikelfreien Überlauf-Flüssigkeit gesammelt, von Tag 7 bis 15 gepoolt und 50 ml davon in einem Kjeltac Auto 1030 Analyzer der Tecator AB, Höganäs (Schweden) destilliert. D. h. der in Form von gelöstem Ammoniak enthaltene Stickstoff wurde durch Zugabe von Natronlauge ausgetrieben, durch Schwefelsäure in der Vorlage in Ammoniumsulfat überführt und gegen Natronlauge titriert. Nach der Gefriertrocknung der entnommenen Lösung konnte das Salz direkt der Messung am Emissionsspektrometer zugeführt werden (Abschnitt 3.7.5).

Zur Gleichbehandlung aller Proben wurde dieses Verfahren auch bei den Überlauf-Proben der Versuche mit “hoher” Ammoniumkonzentration im Puffer angewendet.

Auch von dem mit ^{15}N angereicherten Ammoniumchlorid, das dem Puffer zugegeben wurde, erfolgte eine separate Probennahme in jedem Versuch. Die deklarierte Anreicherung von 10 at.-% sollte damit überprüft und eine zeit- und umweltbedingte Änderung ausgeschlossen werden.

3.5.8 Proben für die Analyse kurzkettiger Fettsäuren

Kurzkettige Fettsäuren sind definiert als organische Säuren mit einer Anzahl von Kohlenstoffatomen zwischen 2 und 6. Zur Bestimmung der Konzentration der gebildeten kurzkettigen Fettsäuren wurden 20 ml der jeweiligen Überlaufprobe nach der Zentrifugation zur Isolierung der Referenzbakterien (Abschnitt 3.5.4) entnommen und mit 500 µl einer 98 %igen Ameisensäure ($HCOOH$) versetzt. Nach 24 stündiger Lagerung bei 4 °C erfolgte die Enteiweißung durch Zentrifugation bei 15000 / min und 4 °C über 15 min. 10 ml der Partikel- und Eiweiß-freien Lösung wurden von Tag 7 bis 15 gepoolt, eingefroren und nach dem Auftauen in 1 ml fassende Probengefäße für die Anwendung in einem Gaschromatographen überführt (Abschnitt 3.7.6).

3.6 Markierung mit ^{15}N

Die Quantifizierung des mikrobiellen Proteins erfolgt mit Hilfe von Markierungssubstanzen. Dies sind Stoffe, die

- nicht in den Futtermitteln vorkommen,
- biologisch stabil sind und
- eine gleichmäßige Verteilung aufweisen.

Es kommen interne und externe Marker in Frage [22]. Unter internen Markern werden alle chemischen Verbindungen zusammengefasst, die in den zu quantifizierenden Mikroben vorkommen (z.B. 2, 6 - Diaminopimelinsäure [92], Nukleinsäuren [125, 112]). Externe Marker sind in der Regel anorganische Substanzen, die mit Isotopen des Stickstoffs (^{15}N , [124, 179, 64]), des Schwefels (^{35}S , [17]) oder des Phosphors (^{32}P , [137]) angereichert sind. Die Isotope der Elemente werden gleichberechtigt neben der Grundform des Elementes in das mikrobielle Protein eingebaut. Anhand des Verhältnisses des in den Mikroben gebundenen Isotops zur Anreicherung der Mikroben mit diesem Isotop wird die Menge an synthetisiertem Mikrobenprotein berechnet (Abschnitt 3.8).

Vergleiche der Markersubstanzen zeigen die unterschiedlichen Eignungen und Grenzen auf (z.B. [41, 112, 178, 126]). SCHÖNHUSEN et al. [175] kommen in einer Untersuchung zu dem Schluss, dass ^{15}N neben D- Alanin die besten Voraussetzungen besitzt, eine möglichst genaue Schätzung der Proteinsynthese im Pansen zu erhalten.

Um eine Überschätzung der mikrobiellen Syntheseleistung auszuschließen, ist es bei dieser Methode jedoch erforderlich, die kontinuierliche ^{15}N -Gabe fortzuführen, bis ein Gleichgewicht zwischen Aufnahme und Abgabe von ^{15}N durch die Mikroben eintritt (steady state). Die maximale ^{15}N -Anreicherung ist dann erreicht.

Für den Zeitpunkt des Erreichens der Gleichgewichtsbedingungen bzw. des Beginns der Probensammlung wird für *in vitro*-Untersuchungen der 3. [30] bis 7. [129] Tag nach dem

Start der ^{15}N -Dauerinfusion genannt, ohne dass nähere Angaben zur Überprüfung dieser Annahme gemacht werden. Aus diesem Grund wurde für zwei Mischrationen jeweils bei “niedriger” und “hoher” Ammoniumkonzentration im Puffer die Dynamik der ^{15}N -Anreicherung in den Referenzbakterien gemessen. Mit den TMR O (9,6 MJ ME /kg T, Grassilage-betont) und P (11,7 MJ ME /kg T, Maissilage-betont) wurden zwei sehr voneinander verschiedene TMR ausgewählt. Eine tägliche Beprobung und Messung der Referenzbakterien in allen Versuchen hätte sowohl den zeitlichen als auch den versuchstechnischen Rahmen gesprengt.

Zur Darstellung der Dynamik der ^{15}N -Anreicherung wurde aus dem Pansensaft vor Beginn der Inkubation und an allen folgenden Tagen bis zum Versuchsende vom Überlauf jedes Fermenters eine Probe zur Gewinnung der Referenzbakterien entnommen, wie unter Abschnitt 3.5.4 beschrieben aufbereitet und emissions-spektrometrisch die ^{15}N -Konzentration gemessen. Die den Messwerten angepassten Kurven folgen einer modifizierten Gompertz-Funktion:

$$y = a + \frac{(b - a)}{(1 + 10^{((\log_{50} e^c - x) \cdot \text{slope}))}} \quad (5)$$

$y = ^{15}\text{N}$ (% des Gesamt-N)

$a = y_{\min}$

$b = y_{\max}$

$c = \frac{1}{2}y_{\max}$

slope = maximaler Anstieg der Funktion

Der Verlauf der verwendeten Funktion ist wie folgt charakterisiert: Nach einer relativen Ruhephase zu Beginn folgt ein exponentieller Anstieg, der dann in eine Plateauphase übergeht. Der Zeitpunkt des Erreichens der Plateauphase wird durch den Term $\log_{50} e^c = x$ bei $\frac{1}{2}y_{\max}$ eindeutig beschrieben. Der Gleichgewichtszustand ist demnach bei $2 \cdot \log_{50} e^c$ gegeben.

3.7 Analytik

Die in dieser Arbeit angegebenen Abweichungen vom Mittelwert sind keine Messunsicherheiten gemäß ‘*Guide to the expression of uncertainty in measurement*’ [53]. Sie stellen ausschließlich einen Wert für die Reproduzierbarkeit der Messungen dar.

Jeder angegebene Analysenwert ist ein Mittelwert aus mindestens 2 Messwerten. Für die Tolerierung der Abweichungen bei der Analyse der Weender Rohnährstoffe, der Gasbildung und der ELOS erfolgte die Orientierung nach den von VON LENGERKEN & ZIMMERMANN [109] angegebenen Streuungen. Messwiederholungen der Stickstoffanalyse am Elementaranalysator, der ^{15}N -Bestimmungen am NOI 7 und der gaschromatographischen Analyse kurzketziger Fettsäuren durften laut Festlegung eine maximale Standardabweichung vom Mittelwert von 3 % aufweisen.

3.7.1 Weender Rohnnährstoffe

Die Analyse der Weender Rohnnährstoffe und die Bestimmung der Trockensubstanz richtete sich nach den Vorschriften der VDLUFA [136] und wurde im institutseigenen Labor durchgeführt.

Zur Analyse des Stickstoffgehaltes im partikelfreien Überlauf erfolgte abweichend davon kein Nassaufschluss mit Schwefelsäure. Der Kjeltec Analyzer wurde dahingehend eingestellt, dass der Anzeigewert der Menge an verbrauchter Titriersäure entsprach. Die Berechnung des Stickstoffgehaltes erfolgte nach folgenden Überlegungen:



$$m = n \cdot M$$

$$n = c \cdot V$$

$c_1 \cdot V_1 = c_2 \cdot V_2$ unter Beachtung der in der chemischen Gleichung zu erkennenden Molverhältnisse folgt

$$m_1 = \frac{2 \cdot c_2 \cdot V_2 \cdot M_1}{V_1} \quad (6)$$

m (g): Stoffmasse

n (mol): Stoffmenge

M (g/mol): molare Masse

c (mol/l): Konzentration

V (ml): Volumen

wobei die Indizes "1" für Ammoniumhydroxid resp. Stickstoff und "2" für Schwefelsäure stehen.

Der so berechnete Wert m_1 für Stickstoff ist nun noch durch das einpipettierte Volumen (30 ml) zu dividieren, um die Konzentration im Überlauf in g/ml anzugeben.

Die Stickstoffgehalte der Mikrobenfraktionen wurden mittels Elementaranalysator parallel zur Messung der ^{15}N -Konzentration bestimmt (Abschnitt 3.7.5), da der Probenumfang für eine Analyse nach Kjeldahl zu gering war. Im Sinne eines einheitlichen Analysenverfahrens kam diese Messmethode auch für die Futter- und Futterrest-Proben in Betracht. Die geringen Einwaagemengen für den Elementaranalysator und die damit verbundene relativ hohe Inhomogenität dieser Proben widersprachen jedoch diesem Vorhaben.

3.7.2 Detergenzienfasern

Auf der Grundlage der Arbeiten von VAN SOEST [182, 183] erfolgte die Bestimmung der Neutral-Detergenzien-Faser (NDF) und der Säure-Detergenzien-Faser (ADF) in den TMR und den Futterresten nach den amtlichen Methoden der VDLUFA 6.5.1 bzw. 6.5.2.

3.7.3 *In vitro* - Methoden

Gasbildung (Gb)

Der Begriff 'Gasbildung' beschreibt ein *in vitro*-Verfahren, das von MENKE et al. [131] definiert wurde und als VDLUFA-Methode 25.1 zur Kennzeichnung der Gasproduktion bei der Inkubation von Futtermitteln mit nativem Pansensaft angewandt wird. Die Analysen der Futtermittel erfolgte in der Landesanstalt für Landwirtschaft und Gartenbau (LLG) Sachsen-Anhalt in Halle/Lettin. Dieser Parameter kann zur Schätzung der Verdaulichkeit [159] und der Energiekonzentration [132, 157] des Futters genutzt werden.

Enzymatisch Lösbare Organische Substanz (ELOS)

Die Enzymatisch Lösbare Organische Substanz nach DE BOEVER et al. [47] ist ein weiteres, etabliertes *in vitro*-Verfahren. Der enzymatische Abbau erfolgt in 3 Inkubationsschritten:

1. 24 h bei 40 °C unter Einwirkung von 0,1 M Salzsäure, Pepsinzugabe zur Erleichterung der Kohlenhydrathydrolyse
2. 45 min bei 80 °C in der selben Lösung zum Abbau der Stärke
3. 24 h bei 40 °C unter Einwirkung einer Cellulase zum Abbau von Zellwänden

Die Analyse der ELOS erfolgte in der Landesanstalt für Landwirtschaft und Gartenbau (LLG) Sachsen-Anhalt in Halle/Lettin.

3.7.4 Physikalischer Brennwert

Für die Bestimmung des physikalischen Brennwertes in den Mischrationen, in den Futterresten nach der Inkubation und in den Kotproben aus den vorangegangenen Verdaulichkeitsversuchen stand das Bombenkalorimeter der Janka & Kunkel IKA-Analysentechnik C7000 isoperibolic zur Verfügung. 0,5 g der auf 0,5 mm Siebdurchgang vermahlene Probe wurden in einen Tiegel eingewogen und unter einem Überdruck an Sauerstoff verbrannt. Anhand der Temperaturänderung, die von Sensoren im Mantel der Bombe erfasst wird, kann auf die Energiekonzentration in der Probe geschlossen werden.

3.7.5 ^{15}N

Für die Analyse der Anreicherung von ^{15}N in den Proben stand das $^{15}/^{14}\text{N}$ Emissionsspektrometer NOI 7 der Fischer Analysen Instrumente GmbH (FAN), Leipzig zur Verfügung. Mit diesem Gerät ist es möglich, die ^{15}N -Gehalte relativ zu den ^{14}N -Gehalten zwischen natürlicher (0,3663 %) und 80 % Anreicherung zu bestimmen.

Emissionsspektrometrie beruht auf der Messung molekulspezifischer Wellenlängen des Lichtes, das abgegeben wird, wenn energetisch angeregte Gasionen in ihren Ursprungs- bzw.

energetischen Grundzustand zurückfallen. Die möglichen Stickstoff-Moleküle $^{14/14}N$, $^{15/14}N$ und $^{15/15}N$ können nach ihrer jeweiligen Wellenlänge von 297,68, 298,29 und 298,86 nm getrennt und anschließend detektiert werden. Anhand der Peakflächen des elektrischen Signals ist das Verhältnis von ^{14}N zu ^{15}N zu berechnen.

Die Überführung der hier verwendeten Festproben in den notwendigen Gaszustand erfolgte mit dem Elementaranalysator vario EL der Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, der zur vollautomatischen Quantifizierung der Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel konzipiert ist. Die in Zinntiegel eingewogenen und luftfrei verschlossenen Proben werden dazu bei ca. 1150 °C unter Sauerstoff-Überschuss verbrannt, die entstehenden Oxide an einer Kupfer-Säule reduziert und elementweise über spezifische Adsorptionssäulen getrennt. Die Desorption erfordert eine definierte Temperaturerhöhung in der Reihenfolge der zu messenden Gase. Die Detektion der Gase erfolgt nacheinander durch eine Wärmeleitfähigkeitsmesszelle. Der Strom des Stickstoffgases wurde vor der Messung getrennt und ein Teil davon dem NOI zugeführt.

Die Einwaagemasse zur Erzielung einer ausreichenden Menge an Stickstoff zur Messung des N-Gehaltes und der ^{15}N -Anreicherung richtete sich nach dem Stickstoffgehalt der Probe und lag in einem Bereich von

15 bis 30	mg	für	Futterreste
25 bis 50	mg	für	Salze des Überlaufes
~1,0	mg	für	NH_4Cl
2 bis 5	mg	für	alle Bakterienfraktionen.

3.7.6 Kurzkettige Fettsäuren

Die qualitative und quantitative Erfassung der gebildeten kurzkettigen Fettsäuren (Kettenlänge zwischen 2 und 6 Kohlenstoffatomen einschließlich Isomere) setzt die stoffliche Trennung voraus. Die Partikel- und Eiweiß-freie Überlaufflüssigkeit (Abschnitt 3.5.8) wurde zu diesem Zweck einem Gaschromatographen (Shimadzu GC 2010 mit Autosampler und -injektor) zugeführt, die enthaltenen Fettsäuren mittels stationärer Phase (regenerierte FFAP (HP)-Säule) in einem Heliumstrom (mobile Phase) voneinander getrennt und über einen FID detektiert.

Nähere Angaben zur verwendeten Methode:

Injektor	Split
Temperatur	270,0 °C
Injektionsvolumen	1,5 µl
Trägergas	Helium
Druck	25,7 kPa
Flussmenge gesamt	319,0 ml/min
Flussmenge Säule	4,16 ml/min
Flussgeschwindigkeit	35,0 cm/min

Säule		FFAP (HP)	
	Länge	28,0 m	
	Innendurchmesser	0,53 mm	
	Schichtdicke	1,0 µm	
	Temperaturprogramm	100 °C	0,0 min
		140 °C	2,0 min
		190 °C	2,0 min
Detektor		FID	
	Temperatur	290 °C	
	Flussmenge	Helium	30,0 ml/min
		Wasserstoff	40,0 ml/min
		Luft	400 ml/min
Analysenlaufzeit	Detektionszeit	12,5 min	
	Gesamtlaufzeit	16,0 min	

Die Bestimmung der Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren erfolgte über einen externen Standard (Originalprobe "Überlauf"), der an einer eigens dafür definierten Lösung der zu detektierenden Säuren als interner Standard geeicht wurde. Dieser Standard-Säuren-Mix wies ein Verhältnis von $C_2 : C_3 : isoC_4 : C_4 : isoC_5 : C_5 : C_6 = 15 : 15 : 1 : 3 : 3 : 3 : 1$ auf. Zur Erstellung einer Eichreihe wurden 0, 1, 2, 4 und 8 mg des Säuren-Mixes pro ml Originalprobe zugegeben. Diese Überlauf-Probe war zuvor mit 100 µl Ameisensäure pro 10 ml unter Anwesenheit von 100 µl Phosphorsäure pro 10 ml enteweißt worden (Abschnitt 3.5.8).

Anhand der Konzentrationsreihe konnten die Gehalte der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren in der Probe ohne Zusatz des Säuren-Mix eindeutig definiert und als Vergleichsmaßstab für alle zu messenden Proben herangezogen werden. Die Retentionszeiten und Konzentrationen der Fettsäuren der Standardprobe sind in Tabelle 24 (Anhang) dargestellt.

3.7.7 Aminosäuren

Für die Bestimmung des Aminosäurenmusters im Protein der Fraktionen der isolierten Mikroben wurde die VDLUFA-Methode 4.11.1 für Futtermittel angewendet.

Die Einwaagemenge richtete sich nach der notwendigen Stickstoffmenge (10 mg) und des gemessenen Stickstoffgehaltes in der jeweiligen Probe und betrug in der Regel 100 mg bzw. war begrenzt durch die Probenmenge, die zur Verfügung stand (SAB).

Die der sauren Hydrolyse vorangestellte Oxidation bzw. die Oxidation selbst verhinderte die Analyse der Aminosäuren Tryptophan (Try) bzw. Histidin (His) und Tyrosin (Tyr) [122]. Alle anderen Aminosäuren konnten mittels Ionenaustausch-Chromatographie (Amino Acid Analyzer LC 3000 von Eppendorf Biotronik) anhand eines externen Standards ("Amino acid standard solution for calibrating amino acid analyzer" von SIGMA; je 2,5 µmol Aminosäure pro ml Lösung, Cystin = 1,25 µmol Aminosäure pro ml Lösung) quantitativ bestimmt wer-

den. Weitere Details des Verfahrens können der Arbeit von TIMMLER & RODEHUTSCORD [193] entnommen werden.

3.8 Berechnungen und statistische Methoden

In die Auswertung sind alle Daten eingegangen, die vom 7. bis 14. Versuchstag erhoben worden sind. Diese Vorgehensweise beruht auf der Feststellung, dass spätestens mit dem 7. Tag nach dem Start der Inkubation eine stabile Situation in Hinblick auf den N-Umsatz gegeben ist (Abschnitt 4.4). Die Erreichung der Plateauanreicherung (maximale Anreicherung an ^{15}N) in den Referenzbakterien stellt die Grundlage zur Ableitung des täglich gebildeten Mikrobenproteins dar:

$$TB_{XP} = \frac{{}^{15}\text{N}_{in} - {}^{15}\text{N}_{out}}{{}^{15}\text{N}_{Plateau}} \cdot 6,25 \quad (7)$$

TB_{XP} (mg/d): Protein der Referenzbakterien

${}^{15}\text{N}_{in}$ (µg/d): Summe des gesamten Eintrages an ^{15}N in das System

${}^{15}\text{N}_{out}$ (µg/d): Summe des Austrages an ^{15}N aus dem System (ohne Mikrogen-N)

${}^{15}\text{N}_{Plateau}$ (µg ^{15}N /mg N): Plateauanreicherung der Referenzbakterien

6,25: Faktor zur Umrechnung von Stickstoff zu Protein

Der ^{15}N -Input setzt sich zusammen aus den ^{15}N -Konzentrationen im Futter und dem Puffer multipliziert mit der täglich zugeführten Menge. Zur Vereinfachung der Berechnung und aufgrund ungenauer Messergebnisse im Bereich der natürlichen Anreicherung mit ^{15}N wurde davon ausgegangen, dass im Futter der Anteil ^{15}N am Gesamt-N 0,3663 % betrug. Im Folgenden kann die Berechnung demnach auf Basis der ^{15}N -Anreicherung über das natürliche Maß hinaus erfolgen. Für welche Berechnungsgrundlage man sich entscheidet (Gesamt ^{15}N -Gehalte oder ^{15}N -Überschuss), ist zweitrangig, sofern diese Festlegung für die vollständige Berechnung beibehalten wird.

Der ^{15}N -Output ist die Summe aus den ^{15}N -Konzentrationen im Futterrest und dem partikelfreien Überlauf abzüglich der am Futterrest anhaftenden SAB multipliziert mit der täglichen Menge.

Ist die ^{15}N -Anreicherung der SAB bekannt, kann nach

$$N_{SAB \text{ im } FR} = \frac{{}^{15}\text{N}_{FR} \cdot N_{FR}}{{}^{15}\text{N}_{SAB}} \quad (8)$$

${}^{15}\text{N}_{FR}$: ^{15}N -Anreicherung im Futterrest in %

${}^{15}\text{N}_{SAB}$: ^{15}N -Anreicherung in den SAB in %

N_{FR} : N im Futterrest in g/d

die Menge an mikrobiellem Stickstoff im Futterrest ($N_{SAB \text{ im } FR}$ in g/d) berechnet werden. Die Schwierigkeit hierbei bestand in der genauen Messung der ^{15}N -Anreicherung in den Futterresten, v.a. bei einer "niedrigen" Ammoniumkonzentration im Puffer. Die Korrektur des ^{15}N -Austrages um den Anteil der SAB konnte nicht in jedem Fall vollzogen werden.

Der Abbau der Nährstoffe nach 48 stündiger Inkubation (in %) wurde berechnet nach:

$$Abbau_x = \frac{(Input_x - Output_x)}{Input_x} \cdot 100 \quad (9)$$

x : betrachteter Nährstoff

Input (g/ Futterbeutel): Eintrag mit dem Futter

Output (g/ Futterbeutel): Austrag mit dem Futterrest

Auch in diesem Fall muss berücksichtigt werden, dass am Futterrest Bakterien anhaften, die zwangsläufig zu einer Unterschätzung des Abbaus führen. Da von dieser Bakterienfraktion nur geringste Mengen isoliert werden konnten, war eine vollständige chemische Analyse nicht möglich. Anhand einer Mischprobe von isolierten SAB aus den Versuchen 9 bis 15 konnte ein mittlerer Aschegehalt von 12,0 % und ein Trockensubstanzgehalt von 93 % ermittelt werden. Der Anteil der SAB an der Organischen Substanz des Futterrestes (OS_{SAB} in g/d) wurde darauf aufbauend folgendermaßen geschätzt und korrigiert:

$$OS_{SAB} = \frac{N_{SAB \text{ im } FR}}{N_{SAB}} \cdot (100 - 12) \cdot 0,93 \quad (10)$$

$N_{SAB \text{ im } FR}$ (g/d): N der SAB im Futterrest

N_{SAB} (% der Originalsubstanz): N in den SAB

Diese Korrektur erfolgte nur bei der Betrachtung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese. Der Abbau der Rohnährstoffe nach Gleichung 9 ist ohne Korrektur der anhaftenden Mikroben definiert.

Für die statistische Auswertung der Daten wurde das Softwarepaket SAS für Windows, 1999- 2001 SAS Institute Inc., USA, Version 8.2 verwendet. Die Mittelwertvergleiche folgten der *proc glm* Prozedur als einfache Varianzanalyse. Ein $P \leq 0,05$ stellte die Grenze zum Erkennen eines signifikanten Unterschiedes dar.

Für die Ableitung multipler Regressionsgleichungen diente die *proc reg* Prozedur. Die Güte einer Regression wurde beurteilt nach dem Bestimmtheitsmaß r^2 und den partiellen P -Werten für die einzelnen Regressoren. Diese Form der Auswertung beruht auf folgenden Überlegungen:

1. Die Höhe des Einflusses eines Faktors kann bei der Ableitung multipler Regressionen mittels partiellem F - Test erfolgen [184, 58].
2. Der P - Wert für die einzelnen Regressoren liegt zwischen 0 und 1. Der Einfluss eines Faktors ist umso größer, je näher der P - Wert gegen 0 geht.
3. Es sind 3 voneinander abhängige Betrachtungsebenen verwendet worden:
 - Futterzusammensetzung (Anteile von Futtermitteln in der TMR in % der Trockensubstanz)
 - chemische Zusammensetzung des Futters (analysierte Rohnährstoffe in g/kg Trockensubstanz)

chemische Zusammensetzung des Futters nach 48 stündiger Inkubation (Abbau der Rohnährstoffe in %)

Die Betrachtung und Einbeziehung von Regressoren über die Grenzen der beschriebenen Ebenen hinweg ist denkbar. Dies würde jedoch Wechselwirkungen zwischen den Regressoren überdecken. Es kann allenfalls zur Eingruppierung eines Faktors genutzt werden. Dieser Form der Auswertung stand jedoch die geringe Zahl der Freiheitsgrade entgegen und kam daher kaum in Betracht.

Dem globalen P -Wert für die Funktion kam weniger Beachtung zu, weil die vordergründige Aufgabe im Erkennen einzelner Einflussfaktoren auf die Zielgrößen bestand.

4 Ergebnisse

Nicht alle Daten, die im folgenden Ergebnisteil angeführt werden, sind im Rahmen dieser Arbeit erhoben worden. Zum Verständnis der Zusammenhänge und zum Ableiten weiterer Kennzahlen zur Beurteilung der eingesetzten Mischrationen sind diese Ergebnisse jedoch erforderlich. So werden neben den Werten der chemischen Analyse auch Daten aus standardisierten Verdaulichkeitsversuchen mit Hammeln vorgestellt, die der Berechnung der Energiekonzentration der TMR als Bezugsgröße zur Darstellung von Effizienzen dienen.

Der pH-Wert im Fermenter und die Puffermenge pro Tag beschreiben die äußeren Einflussfaktoren auf das Fermentationsgeschehen.

Die Höhe des Abbaus der Rohnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie nach 48 stündiger Inkubation wurde zur Charakterisierung der Rationen und der Differenzierung zwischen unterschiedlichen Ammoniumkonzentrationen im Puffer herangezogen. Über eine Bilanzierung der ^{15}N -Anreicherung in allen Kompartimenten des RUSITEC-Systems war nachfolgend die Ableitung der Effizienz der mikrobiellen Aktivität möglich.

Die Muster der kurzkettigen Fettsäuren in der Überlauf-Flüssigkeit und die Aminosäuremuster des Proteins der einzelnen Mikrobenfraktionen ergänzen die Betrachtungen über die Wirkungen unterschiedlicher TMR auf die Stoffwechselprozesse der Mikroorganismen.

4.1 Verdaulichkeit der Rohnährstoffe und berechnete Energiekonzentration

Die in Tabelle 5 gezeigten Werte stellen die in standardisierten Versuchen mit Hammeln ermittelten Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe und Detergenzienfasern dar. Für die Organische Substanz konnten Verdaulichkeiten zwischen 61 und 84 % für die 16 verwendeten TMR berechnet werden (Gl. 1). Diese große Spannweite, die sich auch bei den Parametern Rohprotein (49 bis 83 %), Rohfett (45 bis 81 %), Rohfaser (57 bis 78 %), Neutrale- (52 bis 77 %) und Säure-Detergenzien-Faser (55 bis 79 %) widerspiegelt, zeigt die Variabilität der untersuchten Mischrationen an.

Die Verdaulichkeit der Bruttoenergie (GE) (56 bis 82 %), die anhand der gemessenen GE im Futter und Kot berechnet wurde (Gl. 1), bestätigt oben getroffene Aussage zur großen Variabilität im Abbau der betrachteten TMR.

Die ME lag in einem Bereich von 8,2 bis 11,9 MJ/kg T, wobei nur 5 Rationen den niedrigen Energiebereich $\ll 11$ MJ/kg T abdecken. Die berechnete NEL lag zwischen 4,8 und 7,4 MJ/kg T.

Tabelle 5: Verdaulichkeit (in %) der Rohnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie sowie berechnete Energiekonzentration (in MJ/kg T)

Versuchs- Nummer	TMR	Verdaulichkeit							ME ^a	NEL ^b
		OS	XP	XL	XF	NDF	ADF	GE		
3	A	80,6	78,6	75,1	69,9	65,6	65,3	78,9	11,8	7,3
4	B	77,3	75,4	77,2	58,7	64,2	58,5	75,5	11,5	7,0
5	C	78,9	76,1	76,3	60,5	71,9	73,2	77,2	11,5	7,1
5 und 12	D	79,7	77,9	75,9	68,6	68,4	66,5	77,6	11,6	7,1
6	E	68,6	55,4	55,6	61,2	62,6	61,7	66,6	9,6	5,7
6	F	75,8	73,3	67,4	76,7	77,0	78,1	72,9	10,7	6,4
7 und 12	G	80,5	76,1	71,3	77,5	76,0	79,3	78,2	11,4	7,0
7	H	80,6	68,6	80,4	72,0	73,7	70,5	78,6	11,5	7,1
8	I	69,1	57,5	57,1	57,4	61,1	60,1	66,2	9,7	5,8
8	J	78,8	79,0	63,3	59,9	67,3	66,7	76,4	11,4	7,0
9 und 14	K	80,0	78,4	79,8	70,7	62,3	63,2	78,5	11,8	7,2
9 und 14	L	76,6	77,8	71,1	59,9	51,6	54,5	75,0	11,2	6,8
10	M	61,0	48,5	45,1	62,4	66,3	55,4	56,2	8,2	4,8
11	N	84,0	82,7	76,9	76,4	73,6	78,2	81,9	11,9	7,4
13 und 15	O	68,5	55,4	63,1	60,5	64,8	61,0	65,9	9,6	5,7
13 und 15	P	78,4	77,2	80,5	64,7	57,2	59,7	77,7	11,7	7,1

NH_4^+										
niedrig	Mittelwert	76,2	71,1	69,8	66,1	66,5	65,7	74,0	11,0	6,6
	Minimum	61,0	48,5	45,1	57,4	51,6	54,5	56,2	8,2	4,8
	Maximum	84,0	82,7	80,5	77,5	77,0	79,3	81,9	11,9	7,4
	n	16	16	16	16	16	16	16	16	16
hoch	Mittelwert	76,1	71,7	70,5	67,6	65,0	64,7	73,9	10,9	6,6
	Minimum	61,0	48,5	45,1	59,9	51,6	54,5	56,2	8,2	4,8
	Maximum	84,0	82,7	80,5	77,5	76,0	79,3	81,9	11,9	7,4
	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8

^aberechnet nach GFE (1995,[68])

^bberechnet nach VAN ES (1978, [62])

4.2 Durchflussmenge des Puffers und pH - Wert

Die konstant an der Dosierpumpe eingestellte Durchflussmenge an Puffer pro Tag betrug ~600 ml (Abschnitt 3.1.3). Wie Tabelle 6 zeigt, liegt die Durchflussmenge im Mittel aller Versuche um ca. 30 ml niedriger als angestrebt wurde.

Die absolute Menge an Lösung, die dem System pro Tag zugeführt wurde, entspricht der Summe aus Durchflussmenge und Spülflüssigkeit für die Futterbeutel (80 ml) abzüglich der entnommenen Probe zur pH - Wert Bestimmung (30 ml).

Die mittleren Durchflussmengen der Tage 7 bis 14 für die einzelnen Fermentern können Tabelle 25 (Anhang) entnommen werden.

Betrachtet man die Menge des in die Fermenter eingespeisten Puffers gleicher TMR bei

Tabelle 6: Mittlere Durchflussmenge des Puffers (Tage 7 bis 14) und Spannweiten bei “niedriger” und “hoher” Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer (Angaben in ml/d)

NH_4^+	Mittelwert	Minimum	Maximum	n
alle	567	521	608	24
niedrig	565	522	608	16
hoch	572	521	608	8

“niedriger” und “hoher” Ammoniumkonzentration im Puffer, so sind z.T. signifikante Unterschiede zu erkennen (Anhang, Tab. 26).

Der pH- Wert in den Fermentern schwankte in einem sehr engen Rahmen zwischen 6, 9 und 7,3 im Mittel der betrachteten Versuchstage 7 bis 14 (Tab. 7). Die mittleren pH- Werte in den einzelnen Fermentern können Tabelle 27 (Anhang) entnommen werden.

Tabelle 7: Mittlere pH- Werte (Tage 7 bis 14) in den Fermentationsgefäßen und Spannweiten bei “niedriger” und “hoher” Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer

NH_4^+	Mittelwert	Minimum	Maximum	n
alle	7,1	6,9	7,3	24
niedrig	7,1	6,9	7,3	16
hoch	7,1	7,0	7,1	8

Der Vergleich der pH- Werte in den Versuchen mit “hoher” und “niedriger” Ammoniumkonzentration im Puffer zeigt nicht in jedem Fall einen niedrigeren pH- Wert bei “hoher” Ammoniumkonzentration (Anhang, Tab. 28).

4.3 Abbau der Rohnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie

Eine Übersicht des mittleren Abbaus der Rohnährstoffe, der Detergenzienfasern und der Bruttoenergie der Tage 7 bis 14 der einzelnen Fermenter zeigt Tabelle 29 im Anhang. Wie Tabelle 8 belegt, treten sowohl zwischen den TMR als auch im Vergleich der Ammoniumkonzentrationen große Unterschiede auf.

Der Abbau der Organischen Substanz bewegte sich in einem Rahmen zwischen 35 und 48 %. Für die Rohfaser, die NDF und ADF konnte ein Abbau von 9 bis 30 %, 3 bis 28 % bzw. 6 bis 23 % ermittelt werden.

Wie aus Abbildung 2 deutlich wird, sind Unterschiede im Abbau der OS zwischen “niedriger” und “hoher” Ammoniumkonzentration im Puffer nicht in jedem Fall auch nach der Korrektur um den Anteil der am Futterrest anhaftenden SAB gegeben (TMR D). Andererseits sind bei gleicher Höhe des Abbaus im unkorrigierten Fall nach Korrektur signifikante Unterschiede erkennbar (TMR P).

NH_4^+		niedrig						hoch					
Versuchs- Nummer	TMR	OS	XP	XF	NDF	ADF	GE	OS	XP	XF	NDF	ADF	GE
3	A	43,8 0,9	34,7 2,1	25,7 0,5	3,1 5,4	7,9 0,9	41,9 7,3						
4	B	40,5 0,4	34,4 0,3	21,1 1,0	8,0 1,8	5,5 4,2	36,7 ² 6,2						
5	C	45,7 0,3	36,9 0,3	14,5 1,9	12,1 4,3	6,7 1,1	41,7 ² 9,6						
5 und 12	D	44,9 ^a 1,2	39,8 ^a 0,7	11,6 ^a 1,5	8,1 2,6	9,8 ^a 3,8	38,8 13,3	42,2 ^b 1,2	26,0 ^b 0,9	16,1 ^b 1,6	3,0 4,5	16,9 ^b 1,1	39,2 3,0
6	E	35,7 0,8	41,2 1,0	9,6 1,1	3,9 3,6	5,9 1,5	35,1 1,3						
6	F	40,3 0,1	52,5 0,8	30,0 1,1	27,8 0,6	23,4 0,4	39,6 0,8						
7 und 12	G	46,2 1,0	59,8 ^a 0,9	22,6 ^a 0,7	22,4 2,2	20,5 ^a 0,6	44,9 4,1	46,4 0,4	63,0 ^b 1,0	25,9 ^b 1,8	19,2 1,8	15,5 ^b 2,1	45,7 1,7
7	H	42,2 0,8	59,9 0,3	20,9 2,0	13,6 2,0	13,6 4,4	40,4 2,0						
8	I	34,9 0,2	37,5 6,0	23,2 3,5	8,3 2,5	14,1 4,2	31,4 5,0						
8	J	38,2 0,5	36,3 2,0	29,1 3,5	15,6 1,9	12,6 1,3	36,2 1,9						

^{a,b}unterschiedliche Hochbuchstaben zwischen gleichen Parametern bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration zeigen signifikante Unterschiede an (P<0,05)

¹Tage 7 bis 12

²ohne Fermenter 1

Tabelle 8: Abbau der Rohrnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie (in %) bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer (Mittelwert \pm s)

NH_4^+		niedrig						hoch					
Versuchs- Nummer	TMR	OS	XP	XF	NDF	ADF	GE	OS	XP	XF	NDF	ADF	GE
9 und 14	K	41,3	25,2 ^a	22,9 ^a	14,0 ^a	16,1	38,8	42,0	36,9 ^b	12,9 ^b	18,9 ^b	15,6	39,9
		0,7	1,1	1,0	1,1	0,6	1,0	0,2	3,6	3,2	2,8	1,8	1,7
9 und 14	L	39,6 ^a	38,5	13,8	12,7 ^a	7,9	37,6	40,8 ^b	39,0	13,6	17,7 ^b	12,9	39,0
		0,5	1,8	2,3	1,5	5,3	2,3	0,4	1,2	0,4	1,5	1,5	0,4
10 ¹	M	36,1	45,2	10,8	14,0	7,2	35,0 ^a	36,1	44,4	9,3	11,4	11,7	33,6 ^b
		0,5	1,4	2,3	1,0	4,7	2,1	0,3	0,6	2,3	2,8	1,8	0,7
11	N	47,3	49,5	13,1	22,3	19,3	45,4	48,2	49,2	18,4	23,6	20,8	46,2
		1,3	1,0	2,8	0,9	1,1	2,5	1,2	1,7	4,3	1,9	2,4	3,0
13 und 15	O	38,4 ^a	55,5 ^a	12,9	17,3	16,1	37,4 ^a	36,4 ^b	48,8 ^b	15,3	18,8	18,5	34,5 ^b
		0,5	1,1	1,2	0,8	1,2	0,2	0,7	0,8	1,5	2,1	2,5	1,8
13 und 15	P	41,0	34,4	18,0	24,9	17,9	38,7	39,8	34,7	18,6	22,5	15,1	37,3
		1,0	1,2	3,2	0,9	2,1	2,2	0,3	0,4	0,3	1,8	2,7	1,2

^{a,b}unterschiedliche Hochbuchstaben zwischen gleichen Parametern bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration zeigen signifikante Unterschiede an (P<0,05)

¹Tage 7 bis 12

²ohne Fermenter 1

Da das Verhältnis des Abbaus der Nährstoffe zwischen den Mischrationen schwankt, bestehen auch Differenzen im Abbau der Bruttoenergie. Der berechnete Abbau der GE liegt in einem Bereich von 31 bis 46 % (Tab. 8).

Weiterhin bestand die Frage, welche Faktoren die Höhe des Abbaus der OS beeinflussen. Die Koeffizienten einer einfachen, linearen Korrelation unabhängig von der Ammoniumkonzentration im Puffer betragen in Bezug auf die Gehalte an ME, XP und XF in den TMR 0,77, 0,78 und -0,62. Abbildung 11 (Anhang) zeigt, dass bei einer Energiekonzentration

$\geq 11,0$ MJ ME /kg T der Abbau der OS in einem weiten Bereich zwischen 38 und 48 % liegt. Für den Faktor Rohfaser ist kein eindeutiger negativer Zusammenhang erkennbar. So weist z.B. die TMR G mit einem Rohfasergehalt von 233 g/kg T einen im Vergleich mit rohfasereräreren Rationen hohen Abbau der OS von 46 % auf.

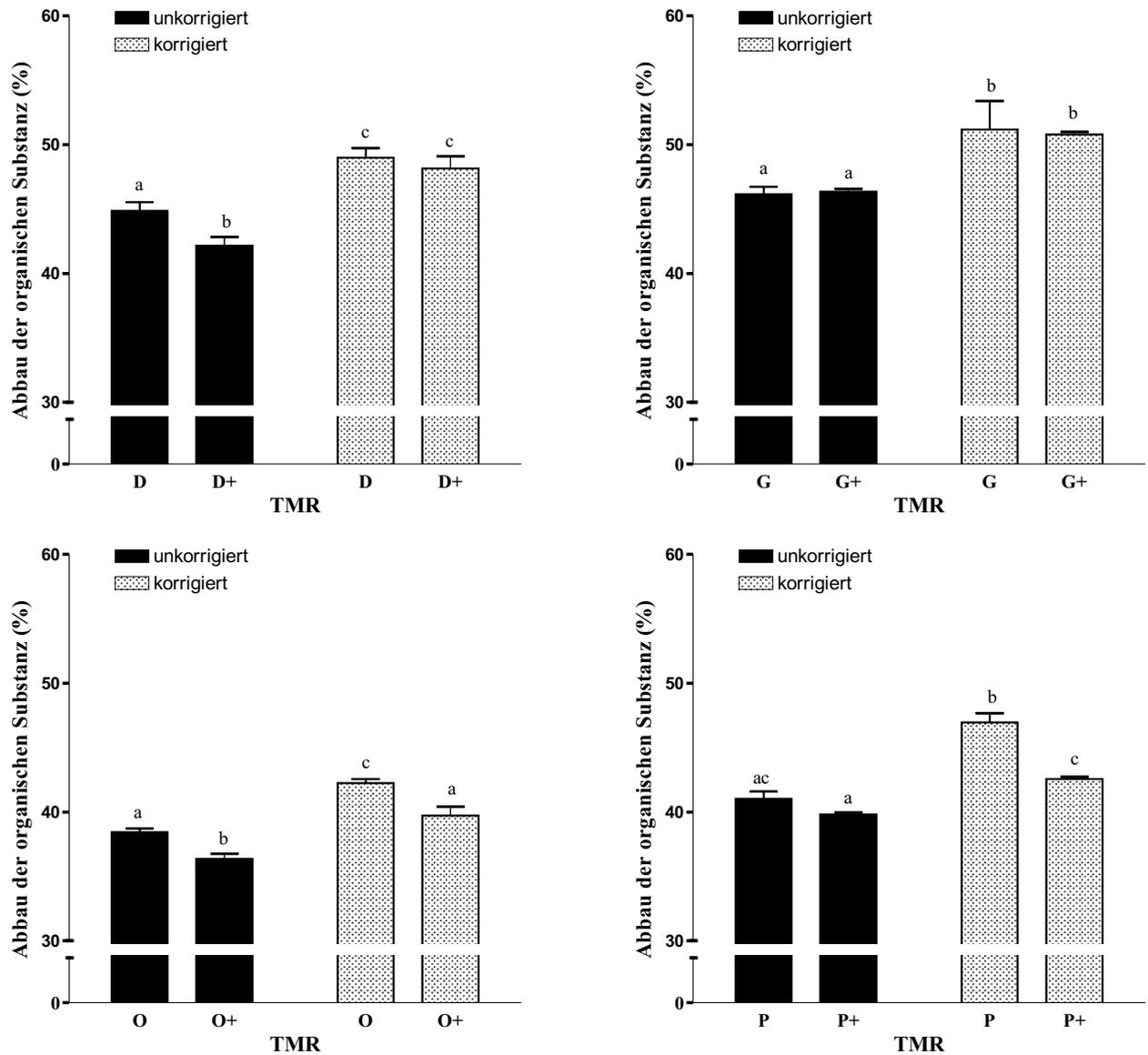


Abbildung 2: Vergleich des Abbaus der Organischen Substanz bei "niedriger" und "hoher" (+) Ammoniumkonzentration im Puffer und bei Korrektur um die am Futterrest anhaftenden SAB (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede bei $P \leq 0,05$)

Es liegt nahe, dass die Höhe des Abbaus der OS multifaktoriell beeinflusst ist. Zur Klärung dieser Hypothese wurde eine multiple Regression zur Schätzung des Abbaus der OS (in %) mit den Regressoren 'Gehalte an ME, XP und XF in den TMR' abgeleitet (Gl. 11). Das Bestimmtheitsmaß r^2 für diese Funktion beträgt 0,79 bei einer Standardabweichung der Schätzung $s_{y,x}$ von 4,9 %. Der multiple Einfluss der gewählten Regressoren wird durch den

globalen P - Wert $\ll 0,0001$ belegt.

$$\begin{aligned}
 \text{Abbau der OS} &= -4,0609 \\
 &+2,0767 \quad ME \\
 &+0,0266 \quad XF \\
 &+0,1002 \quad XP
 \end{aligned} \tag{11}$$

ME in MJ/kg T

XF in g/kg T

XP in g/kg T

4.4 ^{15}N - Anreicherung

Wie unter Abschnitt 3.6 erläutert, ist das Erreichen der Plateauphase der ^{15}N - Anreicherung in den Mikroben die Voraussetzung zur Berechnung der gebildeten, mikrobiellen Proteinmenge. In Abbildung 3 ist die Dynamik der ^{15}N - Anreicherung in den TB der ausgewählten TMR bei unterschiedlicher Ammoniumkonzentration im Puffer über den gesamten Versuchszeitraum dargestellt.

Für die TMR O sind bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer die Gleichgewichtsbedingungen am Tag $7 = 2 \cdot \log_{50} e^c = 2 \cdot 3,5$ eingestellt. Diese Plateauphase ist für TMR P schon nach 6 Tagen erreicht. Bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer sind ähnliche Zeitverläufe zu erkennen. Auffallend sind die unterschiedlichen maximalen Steigungen der Rationen, insbesondere bei "niedriger" Ammoniumkonzentration (0,45 versus 0,78).

Insgesamt belegt diese Darstellung, dass die Probensammlung zur Quantifizierung der mikrobiellen Proteinsynthese ab Tag 7 gerechtfertigt ist.

Zur Bilanzierung der ^{15}N - Menge, die pro Tag in die einzelnen Kompartimente des Systems einfließen, war die Bestimmung der ^{15}N - Konzentration im Überlauf und den Referenzbakterien notwendig, wenn man von einem konstanten Input über den Puffer ausgeht.

Zur Korrektur der abgebauten OS wurde die ^{15}N - Konzentration in den SAB und den Futterresten bestimmt. Zusätzlich erfolgte die Messung der ^{15}N - Anreicherung in den jeweils am Versuchsende aus der Fermenterflüssigkeit gewonnenen LAB. Alle Daten dazu können Tabelle 30 (Anhang) entnommen werden. Bei einem Vergleich der gemessenen ^{15}N - Anreicherungen in den Mikrobenfraktionen fällt auf, dass die ^{15}N - Konzentrationen der LAB in jedem Fall zwischen denen der TB und SAB liegen.

Die Spannweite der gemessenen ^{15}N - Konzentrationen ist in Tabelle 9 abzulesen. Wie erwartet, ist die ^{15}N - Anreicherung in allen Kompartimenten bei einer "hohen" Ammoniumkonzentration im Puffer höher als bei "niedriger" Ammoniumkonzentration. Für 3 Rationen konnte die ^{15}N - Konzentration im Überlauf aufgrund des geringen Stickstoffgehaltes nicht gemessen werden. Ähnliches gilt für die Messung der ^{15}N - Anreicherung im Futterrest von 4 Rationen. Im Bereich der natürlichen Anreicherung war das verwendete Emissionsspektro-

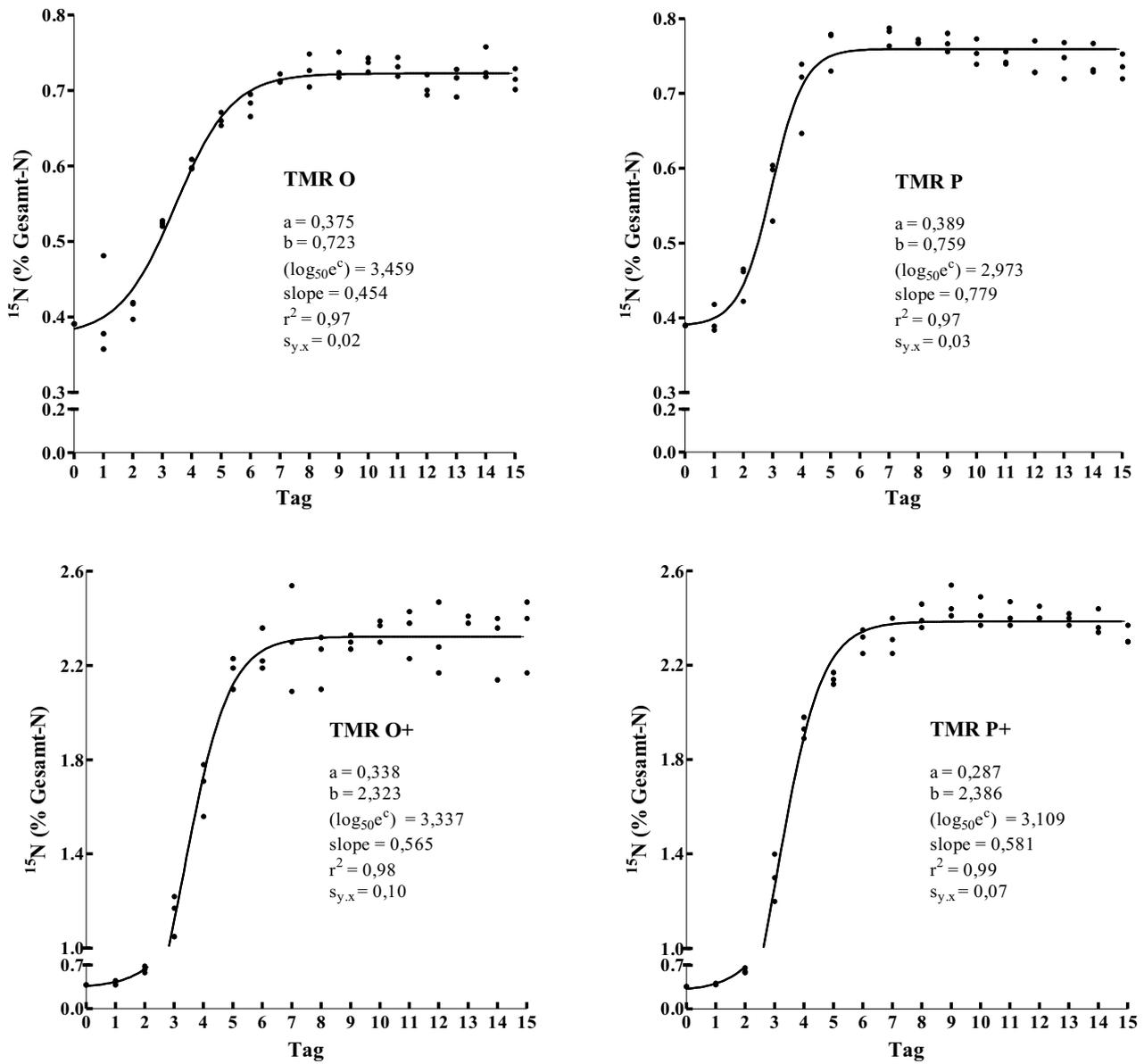


Abbildung 3: Dynamik der ^{15}N -Anreicherung in den Referenzbakterien bei “niedriger” (oben) und “hoher” (unten) Ammoniumkonzentration im Puffer

$(y = a + \frac{(b-a)}{(1+10^{((\log_{50}e^c - x) \cdot \text{slope})})})$ mit $a = y_{\min}$, $b = y_{\max}$, $c = \frac{1}{2}y_{\max}$ und $\text{slope} = \text{maximaler Anstieg}$)

meter zu unsensibel, um verlässliche Messwerte zu erhalten.

Tabelle 9: ^{15}N -Konzentration (% des Gesamt-N) der Mikrobenfraktionen, im Überlauf und in den Futterresten

NH_4^+	Kompartiment	Mittelwert	Minimum	Maximum	n
niedrig	TB	0,67	0,52	0,86	16
	SAB	0,46	0,41	0,51	16
	LAB	0,55	0,48	0,62	16
	Überlauf ^a	0,75	0,43	1,02	13
	Futterrest ^b	0,39	0,38	0,40	12
hoch	TB	1,95	1,40	2,39	8
	SAB	0,99	0,72	1,26	8
	LAB	1,44	1,03	1,80	8
	Überlauf	2,71	1,71	3,39	8
	Futterrest	0,51	0,41	0,56	8

^aohne TMR A, B, D, da aufgrund der niedrigen Stickstoffkonzentration keine genaue Messung möglich war

^bohne TMR K, L, M, N, da im Bereich der natürlichen Anreicherung keine genaue Messung möglich war

4.5 Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese

Die absolute Höhe des gebildeten Mikrobenproteins, abgeleitet aus dem inkorporierten Stickstoff (Anhang, Tab. 31), ist zur Bewertung einer Futterration wenig geeignet. Deutliche qualitative Unterschiede der TMR in Bezug auf die Roh Nährstoffgehalte (Tab. 4), den Abbau der Roh Nährstoffe nach 48 stündiger Inkubation (Tab. 8), die Verdaulichkeit und die berechnete ME (Tab. 5) erfordern eine Betrachtung auf Basis der Effizienz zur korrekten Einordnung einer Ration.

Als Bezugsgrößen des gebildeten Mikrobenproteins pro Tag wurden der Abbau der OS, die Verdaulichkeit der OS und die ME gewählt (Tab. 10). Die abgebaute OS ist um den geschätzten Anteil der SAB korrigiert worden. Für die TMR *K*, *L*, *M* und *N* konnte diese Korrektur nicht vorgenommen werden, da die ^{15}N -Konzentrationen in den Futterresten nicht sicher gemessen werden konnten. Es wird davon ausgegangen, dass der Anteil der SAB an der OS der Futterreste vernachlässigbar gering war. Für die TMR *A*, *B* und *D* konnten die Effizienzen nicht berechnet werden, da für die ^{15}N -Anreicherung in den Überläufen keine Messwerte vorliegen.

Je kg abgebaute OS wurden zwischen 141 und 286 g Mikrobenprotein gebildet. Mit Ausnahme der Ration *G* konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer festgestellt werden.

In Bezug zur verdaulichen OS bzw. ME einer TMR wurden zwischen 73 und 178 g bzw. 4,9 und 11,1 g Protein von den Mikroben synthetisiert. Bei 3 Mischrationen sind deutliche, statistisch gesicherte Differenzen zwischen den gewählten Ammoniumkonzentrationen im Puffer

Tabelle 10: Berechnete Effizienzen der mikrobiellen Proteinsynthese (Mittelwert \pm s)

NH_4^+		niedrig			hoch		
		TB_{XP} je					
Versuchs- Nummer	TMR	aOS^a	vOS^b	ME^c	aOS^a	vOS^b	ME^c
3 ^d	A						
4 ^d	B						
5 ^e	C	286 6,8	178 4,8	11,1 0,30			
5 ^d und 12	D				206 9,9	125 10,3	7,9 0,65
6	E	202 9,9	116 2,9	7,7 0,20			
6	F	237 16,0	138 12,2	8,7 0,76			
7 und 12	G	205 ^A 20,2	131 22,9	8,3 1,45	168 ^B 7,8	106 5,2	6,7 0,33
7	H	165 8,4	92 7,2	5,9 0,46			
8	I	141 9,6	73 5,3	4,9 0,35			
8	J	188 8,6	99 8,0	6,3 0,51			
9 und 14	K	203 22,5	105 12,3	6,6 0,78	198 7,5	118 4,2	7,5 0,27
9 und 14	L	202 19,4	105 ^A 9,4	6,7 ^A 0,60	215 12,9	130 ^B 8,4	8,3 ^B 0,54
10 ^f	M	173 11,6	102 ^A 6,9	6,6 ^A 0,45	210 23,6	135 ^B 16,6	8,8 ^B 1,08
11	N	232 7,9	131 8,0	8,3 0,51	247 29,6	149 22,0	9,5 1,40
13 und 15	O	146 6,6	90 4,4	5,8 0,28	157 10,8	91 8,2	5,9 0,53
13 und 15	P	179 6,2	107 ^A 1,9	6,8 ^A 0,12	170 6,0	94 ^B 3,2	5,9 ^B 0,20
Mittelwert		197	113	7,2	196	118	7,5
Minimum		141	73	4,9	157	91	5,9
Maximum		286	178	11,1	247	149	9,5
s%		20,0	23,6	22,2	15,2	17,1	17,6

^{A,B} unterschiedliche Hochbuchstaben zwischen gleichen Parametern bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration zeigen signifikante Unterschiede an (P<0,05)

^a g gebildetes Mikrobenprotein je kg abgebauter Organische Substanz (Gl. 9)

^b g gebildetes Mikrobenprotein je kg verdauter Organische Substanz (Gl. 1)

^c g gebildetes Mikrobenprotein je MJ Umsetzbare Energie [68]

^d keine Angaben, da Messwerte zur Berechnung fehlen

^e 2 Fermenter

^f Tage 7 bis 12

zu erkennen. Zu beachten ist hierbei, dass die Verdaulichkeit der OS im Tierversuch ermittelt und die ME aus den verdaulichen Rohnährstoffen berechnet wurde.

Die dargestellten extremen Unterschiede in der Effizienz werfen natürlich die Frage nach den Ursachen auf. Zur Klärung wurden multiple Regressionsgleichungen abgeleitet. Die partiellen P-Werte der Regressoren können als Gradmesser des Einflusses eines Faktors auf die Effizienz dienen (Abschnitt 3.8). Der globale P-Wert drückt den Grad des Einflusses aller eingesetzten Regressoren auf die Zielgröße aus.

Die Effizienz der Synthese, beschrieben als g Mikrobenprotein je kg abgebaute OS, unterscheidet sich, wie gezeigt, abgesehen von einer Ausnahme (TMR G) nicht bei den

Tabelle 11: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organischer Substanz (g/kg, $n = 21$)

Gleichung	1		2		3		4	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	-0,4776	0,99	-421,8008	0,35	-433,5817	0,38	-265,1303	0,58
OS ^c			0,3549	0,34	0,3671	0,38	0,2459	0,53
XP ^c	0,9812	<0,01	1,2778	<0,01	1,2857	0,01	1,1294	0,02
XF ^c	0,1374	0,39	0,3582	0,21	0,3649	0,24	0,2493	0,41
XL ^c					-0,0602	0,94		
GS ^d							-0,3473	0,35
MS ^e								
C_2/C_3 ^f								
P_{global}		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01
r^2		0,57		0,59		0,59		0,62
$s_{y,x}$ %		10,6		10,6		11,0		10,7

Gleichung	5		6		7		8	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	-483,9755	0,30	-519,7778	0,25	-364,1457	0,45	-28,2463	0,90
OS ^c	0,4270	0,28	0,4435	0,24	0,3350	0,39	0,0458	0,84
XP ^c	1,2399	0,01	1,2583	<0,01	1,1117	0,02	0,8096	<0,01
XF ^c	0,3402	0,24	0,3486	0,21	0,2410	0,42		
XL ^c							0,7687	0,35
GS ^d					-0,3435	0,35	-0,4832	0,16
MS ^e	0,1634	0,45						
C_2/C_3 ^f			12,5440	0,24	12,4571	0,24	16,3352	0,15
P_{global}		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01
r^2		0,61		0,63		0,65		0,66
$s_{y,x}$ %		10,8		10,5		10,5		10,4

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P-Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

verschiedenen Ammoniumkonzentrationen im Puffer. Daher scheint es in diesem Fall gerechtfertigt zu sein, den gesamten Datenpool zur Ableitung von Regressionsgleichungen zu nutzen (Tab. 11). Der Faktor Rohprotein übt einen signifikanten Einfluss bei der Schätzung der Effizienz aus, wie an den partiellen P-Werten $\leq 0,05$ zu erkennen ist. Mit der Anzahl der einbezogenen Regressoren steigt erwartungsgemäß das Bestimmtheitsmaß r^2 (Gleichungen 1 bis 3). Dies geht in Abhängigkeit vom zusätzlich verwendeten Faktor nicht in jedem Fall mit einer höheren Genauigkeit der Schätzung einher, wie an den Standardabweichungen der Schätzungen $s_{y,x}\%$ zu erkennen ist. Offensichtlich hat neben dem XP v.a. die analysierte Rohfaser den größten Einfluss auf die Zielgröße. Bezieht man Faktoren aus weiteren Betrachtungsebenen, wie den Anteil einer Silage in der Ration oder das Verhältnis der prozentualen Anteile der gebildeten kurzkettigen Fettsäuren, in die Schätzung ein (Gleichungen 4 bis 8), dann erweisen sich die Regressoren "Grassilage" und " C_2/C_3 " als wirkungsvolle Einflussgrößen auf die Güte der Regression.

Die Genauigkeit der Schätzungen zur Bestimmung der Menge an Mikrobenprotein (g) je kg verdauliche OS und je MJ ME ist im Vergleich geringer ($s_{y,x} \geq 11,9\%$) (Anhang, Tab. 32 und 33). Wie bereits erwähnt, sind die Bezugsgrößen im Verdaulichkeitsversuch ermittelt worden. Als potenzielle Einflussgrößen können anhand der dargestellten Regressionen die Faktoren XP, XF und das Verhältnis C_2/C_3 ausgemacht werden. Der Anteil Maissilage verschlechtert im Vergleich zur Nutzung des Anteiles Grassilage in der Ration die Güte der Schätzungen.

Für die je nach verwendeter Ammoniumkonzentration im Puffer getrennten Datensätze sind ebenfalls multiple Regressionen abgeleitet worden. Eine kleine Auswahl ist in den Tabellen 34 bis 39 (Anhang) dargestellt. Die Güte der Schätzungen ist hier höher, da durch die Reduzierung des Datensatzes die Varianz sinkt.

Die Effizienzen der mikrobiellen Proteinsynthese bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer sind in erster Linie vom Gehalt an Rohprotein und Rohfett in der Ration abhängig. Als weitere Einflussfaktoren kommen der Gehalt an Maissilage in der Ration und das C_2/C_3 Verhältnis in Frage. Im Gegensatz dazu ist bei "hoher" Ammoniumkonzentration neben dem Rohprotein und dem Rohfett nur der Anteil der Grassilage in der Ration geeignet, die Schätzgüte zu erhöhen. Nicht dargestellt sind Regressionsgleichungen, die Faktoren aller drei Betrachtungsebenen beinhalten. Diese Schätzungen weisen mit einem Bestimmtheitsmaß von $\geq 0,98$ bei einer $s_{y,x} \leq 5\%$ ein hohes Maß an Genauigkeit auf. Die niedrige Zahl der untersuchten Mischrationen ($n = 8$) begrenzt jedoch die Interpretation der Ergebnisse.

Es bleibt festzuhalten, dass bei Einsatz von Mischrationen unterschiedlicher Zusammensetzung deutliche Unterschiede in der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese zu verzeichnen sind. Diese Differenzen können nicht eindeutig der Ammoniumkonzentration in der Pufferlösung zugeordnet werden.

Als ein Einflussfaktor auf die Höhe der Effizienz konnte der Parameter "Rohprotein" her-

ausgearbeitet werden. Weiterhin kommen je nach Betrachtungsansatz die Parameter "Anteil Gras- bzw. Maissilage in der Ration" und das Verhältnis der prozentualen Anteile der gebildeten Essig- und Propionsäure in Frage.

4.6 Kurzkettige Fettsäuren

Im Allgemeinen werden die Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren in mmol/l angegeben (Anhang, Tab. 40). Da in vorliegender *in vitro*-Untersuchung weder die Futtereinwaagen (g T/d) noch die täglichen Durchflussmengen an Puffer (ml/d, Abschnitt 4.2) konstant waren, sind die gemessenen Konzentrationen nicht vergleichbar. Aus diesem Grund wurde die Summe der Konzentrationen von Essig- (C_2), Propion- (C_3) und Buttersäure (C_4) gleich 100 % gesetzt und die relativen Anteile dieser 3 kurzkettigen Fettsäuren als Grundlage für die weiteren Ableitungen genutzt. Die Summe von C_2 , C_3 und C_4 machten zwischen 83 und 91 % an der Gesamtmenge der analysierten, kurzkettigen Fettsäuren aus.

Tabelle 12 zeigt deutliche Unterschiede im Verhältnis der Fettsäuren zueinander zwischen den untersuchten TMR. Die Standardabweichungen vom Mittelwert liegen zwischen 8,1 und 14,4 % bei "niedriger" und 13,1 und 20,8 % bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer.

Auffällig sind die signifikanten Unterschiede des Fettsäurenmusters innerhalb einer TMR bei unterschiedlicher Ammoniumkonzentration im Puffer. Für die Buttersäure konnten bei der Hälfte der 8 Vergleiche statistisch gesicherte Differenzen festgestellt werden. Der relative Anteil der Propionsäure stimmt in keinem Fall überein. Die Richtung der Änderung eines Fettsäurenanteils ist unabhängig von der Ammoniumkonzentration im Puffer. Bei Mischrationen mit einem hohen Anteil an Konzentratfuttermitteln (D und N) erhöht sich der Essigsäureanteil bei einer höheren Ammoniumkonzentration. TMR, die aus einer größeren Anzahl von Futtermitteln zusammengesetzt sind (K , L und P), weisen dagegen eine Absenkung des C_2 -Anteiles auf.

Die abgeleiteten Regressionsgleichungen zur Schätzung des Fettsäurenmusters einschließlich der P-Werte der partiellen und globalen F-Tests sind in Tabelle 13 wiedergegeben. Die Einbeziehung des gesamten Datenmaterials ignoriert die Tatsache, dass eine veränderte Ammoniumkonzentration im Puffer eine Verschiebung des Fettsäurenmusters nach sich zieht. Einfache, lineare Korrelationen zwischen den Fettsäuren und den hier verwendeten Einflussgrößen bestehen bei der Betrachtung aller Versuche nicht. Auf der Ebene der analysierten Rohnährstoffe scheinen das Rohprotein, die Rohfaser und das Rohfett gleichrangige Faktoren zur Schätzung zu sein (mittlere P-Werte = 0,31, 0,29 und 0,29).

Die alleinige Verwendung der Daten aus den Versuchen mit "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer hat demgegenüber den Vorteil, dass bei ausreichender n-Zahl für alle TMR die gleichen Versuchsbedingungen vorlagen. Einfache lineare Korrelationen hatten einen deutlich negativen Effekt des Rohfasergehaltes auf den Anteil an Propionsäure gezeigt

Tabelle 12: Relative Anteile der kurzkettigen Fettsäuren (in %) bei “niedriger” und “hoher” Ammoniumkonzentration (NH_4^+) im Puffer (Mittelwert $\pm s$)

NH_4^+		niedrig			hoch		
Versuchs- Nummer	TMR	C_2	C_3	C_4	C_2	C_3	C_4
3	A	50,2 1,3	35,8 1,9	14,0 2,2			
4	B	49,2 0,7	39,2 1,9	11,6 1,5			
5	C	51,0 1,1	36,6 0,6	12,4 0,6			
5 und 12	D	59,5 ^a 0,9	29,7 ^a 0,7	10,8 0,2	66,1 ^b 0,3	23,7 ^b 0,7	10,2 0,6
6	E	62,1 0,5	24,4 1,0	13,5 0,9			
6	F	54,9 0,6	31,9 1,5	13,2 1,0			
7 und 12	G	51,8 ^a 0,6	29,8 ^a 1,1	18,4 ^a 1,4	53,3 ^b 0,6	32,8 ^b 0,3	13,9 ^b 0,3
7	H	48,2 1,2	36,3 2,0	15,5 0,9			
8	I	56,7 0,8	28,0 0,5	15,3 0,4			
8	J	55,2 0,8	30,1 0,8	14,7 0,3			
9 und 14	K	58,7 ^a 0,9	28,9 ^a 1,6	12,4 ^a 1,0	49,2 ^b 0,3	35,4 ^b 0,1	15,4 ^b 0,3
9 und 14	L	51,9 ^a 1,9	33,2 ^a 1,3	14,9 0,5	48,5 ^b 0,9	36,2 ^b 0,6	15,3 0,6
10 ^a	M	60,7 0,6	25,7 ^a 0,8	13,6 ^a 0,4	61,0 0,8	23,9 ^b 0,5	15,1 ^b 0,8
11	N	51,7 ^a 1,2	32,6 ^a 0,3	15,7 0,9	56,5 ^b 0,6	28,4 ^b 0,5	15,1 0,6
13 und 15	O	51,2 ^a 0,4	36,5 ^a 1,2	12,3 0,9	49,3 ^b 0,5	39,2 ^b 0,1	11,5 0,5
13 und 15	P	49,9 ^a 0,7	36,1 ^a 0,7	14,0 ^a 0,1	43,9 ^b 0,3	43,8 ^b 0,7	12,3 ^b 0,9
Mittelwert		53,9	32,2	13,9	53,5	32,9	13,6
Minimum		47,2	23,2	10,0	43,7	23,2	9,6
Maximum		62,4	40,7	19,5	66,4	44,4	15,9
s%		8,1	13,5	14,4	13,1	20,8	14,6

^{a,b}unterschiedliche Hochbuchstaben zwischen gleichen Parametern bei “niedriger” und “hoher” Ammoniumkonzentration zeigen signifikante Unterschiede an ($P < 0,05$)

^aTage 7 bis 12

($r = -0,68$). Bei einem multiplen Ansatz kristallisieren sich die Faktoren "Anteil Mais-silage", "Rohfasergehalt" und "Abbau der OS" als die Einflussgrößen der jeweiligen Ebene heraus (Tab. 14).

Aufgrund der geringen Zahl von Versuchen sind die Daten der Mischrationen, die bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden, weniger aussagekräftig. Hier ist es v.a. die OS, die sowohl auf der Ebene der analysierten Rohnährstoffe als auch beim Abbau nach 48 stündiger Inkubation einen im Vergleich größeren Einfluss auf die Regressanden ausübt. Es besteht eine positive Korrelation zwischen dem Anteil Propionsäure und der analysierten OS ($r = 0,73$). Der Abbau der OS ist korreliert mit den Anteilen von Essig- und Buttersäure ($r = 0,66$ bzw. $0,68$).

Tabelle 13: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Musters der kurzkettigen Fettsäuren ($n = 24$)

	C_2		C_3		C_4		Mittelwert
		P =		P =		P =	P =
Intercept	57,8518	<0,01	26,9258	<0,01	15,3474	<0,01	<0,01
AWS ^a	0,0591	0,43	-0,0818	0,23	0,0231	0,41	0,35
MS ^b	-0,1291	0,23	0,1404	0,16	-0,0098	0,81	0,40
GF ^c	-0,0362	0,76	0,0613	0,57	-0,0275	0,53	0,62
P_{global}		0,18		0,05		0,66	
r^2		0,21		0,32		0,08	
$s_{y,x}$ %		9,5		14,5		14,0	
Intercept	80,2012	0,49	60,0749	0,57	-39,3732	0,34	0,47
OS ^d	-0,0439	0,65	0,0021	0,98	0,0411	0,24	0,63
XP ^d	0,0611	0,55	-0,1137	0,23	0,0522	0,16	0,31
XF ^d	0,0419	0,56	-0,0862	0,20	0,0432	0,10	0,29
XL ^d	-0,1484	0,40	0,2151	0,19	-0,0665	0,29	0,29
P_{global}		0,34		0,11		0,47	
r^2		0,20		0,31		0,16	
$s_{y,x}$ %		9,9		14,9		13,7	
Intercept	67,9948	<0,01	22,8302	0,10	8,9120	0,05	0,08
OS _{abg} ^e	-0,1880	0,54	0,1428	0,64	0,0532	0,62	0,60
XP _{abg} ^f	-0,0900	0,47	0,0386	0,76	0,0507	0,24	0,49
XF _{abg} ^g	-0,1510	0,44	0,1173	0,55	0,0315	0,64	0,54
P_{global}		0,59		0,83		0,52	
r^2		0,09		0,04		0,11	
$s_{y,x}$ %		10,3		17,1		13,8	

^a Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^b Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^c Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^d Angaben in g/kg T

^e abgebaute Organische Substanz in %

^f abgebautes Rohprotein in %

^g abgebaute Rohfaser in %

Tabelle 14: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Musters kurzkettiger Fettsäuren in Abhängigkeit von der Ammoniumkonzentration im Puffer

NH_4^+	niedrig ($n = 16$)							hoch ($n = 8$)						
	C_2		C_3		C_4		MW ^a	C_2		C_3		C_4		MW ^a
		P =		P =		P =	P =		P =		P =		P =	P =
Intercept	53,8299	<0,01	31,0310	<0,01	15,2755	<0,01	<0,01	65,1012	0,02	19,6234	0,25	15,4004	0,01	0,09
AWS ^b	0,0027	0,97	-0,0450	0,57	0,0423	0,28	0,61	0,1372	0,49	-0,1366	0,41	0,0003	0,99	0,63
MS ^c	-0,1560	0,17	0,1146	0,29	0,0419	0,42	0,29	-0,1230	0,71	0,2592	0,37	-0,1324	0,10	0,39
GF ^d	0,0524	0,67	-0,0026	0,98	-0,0520	0,38	0,68	-0,1671	0,62	0,1411	0,61	0,0228	0,73	0,66
P_{global}		0,27		0,24		0,74			0,73		0,41		0,26	
r^2		0,27		0,29		0,10			0,25		0,48		0,60	
$s_{y,x}$ %		7,82		12,7		14,3			15,7		20,8		12,3	
Intercept	67,0166	0,61	59,6357	0,61	-26,2640	0,63	0,62	414,3336	0,35	-178,6755	0,61	-134,6978	0,40	0,45
OS ^e	-0,0217	0,84	-0,0082	0,94	0,0297	0,53	0,77	-0,3739	0,34	0,2414	0,44	0,1318	0,36	0,38
XP ^e	0,0101	0,93	-0,0507	0,61	0,0407	0,39	0,64	0,0149	0,96	-0,1167	0,64	0,1011	0,38	0,66
XF ^e	0,0350	0,64	-0,0719	0,30	0,0361	0,26	0,40	-0,1596	0,57	0,0598	0,79	0,0989	0,37	0,58
XL ^e	-0,0638	0,73	0,1056	0,52	-0,0421	0,59	0,61	0,2758	0,69	-0,0071	0,99	-0,2676	0,34	0,67
P_{global}		0,79		0,46		0,77			0,38		0,25		0,77	
r^2		0,13		0,26		0,14			0,67		0,76		0,37	
$s_{y,x}$ %		8,90		13,5		14,6			12,0		16,4		17,7	
Intercept	84,0825	<0,01	8,3203	0,54	7,3981	0,24	0,39	35,5400	0,41	63,3965	0,14	0,8879	0,90	0,48
OS _{abg} ^f	-0,5187	0,08	0,4645	0,13	0,0621	0,64	0,28	0,7133	0,55	-1,0610	0,34	0,3511	0,13	0,34
XP _{abg} ^g	-0,1224	0,31	0,0625	0,62	0,0578	0,32	0,42	-0,0433	0,91	-0,0817	0,81	0,1252	0,11	0,61
XF _{abg} ^h	-0,2029	0,22	0,1180	0,50	0,0821	0,30	0,34	-0,6030	0,60	1,0485	0,33	-0,4430	0,07	0,33
P_{global}		0,15		0,39		0,55			0,90		0,70		0,18	
r^2		0,35		0,22		0,16			0,12		0,27		0,67	
$s_{y,x}$ %		7,39		13,3		13,8			17,0		24,6		11,2	

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Das Verhältnis der gebildeten kurzkettigen Fettsäuren ändert sich in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der TMR und der Ammoniumkonzentration in der Pufferlösung. Ein einflussreicher Einfluss auf alle betrachteten Fettsäuren konnte nicht ausgemacht werden. Es wurde gezeigt, dass die analysierten Rohnährstoffe und deren Abbau eher einen Einfluss auf das Fettsäurenmuster ausüben, als die Anteile einzelner Futtermittel oder Futtermittelgruppen.

4.7 Aminosäurenmuster des Mikrobenproteins

Wie unter Abschnitt 3.7.7 dargestellt, stand zur Analyse der Aminosäurenmuster des Proteins in den isolierten Mikrobenfraktionen keine spezielle Methode zur Verfügung. Daher wurde eine für Futtermittel etablierte Methode genutzt. Die Aminosäuren (AS) Tyrosin, Histidin und Tryptophan konnten mit diesem Verfahren nicht bestimmt werden.

Die gemessenen Aminosäuregehalte (% der Originalsubstanz) wurden mit Hilfe der N-Gehalte in den Mikroben (% der Originalsubstanz) in g AS je 16 g N umgerechnet. Die Summe aller AS einschließlich der freien N-Verbindungen muss für diese Form der Konzentrationsangabe 100 ergeben. Dies war nicht in jedem Fall gegeben, obwohl die Konzentrationen der oben genannten, nicht analysierten AS als Schätzung eingingen und ein Fehlerpotenzial von $\pm 15\%$ toleriert wurde.

Aus diesem Grund wird in vorliegender Arbeit von der Darstellung des Aminosäurenmusters in g AS je 16 g N abgewichen (Anhang, Tab. 41, 42 und 43). Die Ergebnisse sind als Verhältnis der einzelnen AS zueinander angegeben, wenn Methionin (Met) = 1 ist. Methionin wurde als Bezugsbasis gewählt, da diese schwefelhaltige Aminosäure zu den erstlimitierenden Aminosäuren beim Wiederkäuer gerechnet wird [162, 190, 100, 75] und bei der hier verwendeten Analysenmethode sicher gemessen werden konnte³. Die Berechnung der dimensionslosen Faktoren erfolgte nach:

$$\frac{g \text{ AS}/16g \text{ N}}{g \text{ Met}/16g \text{ N}} \quad (12)$$

Die regressionsanalytische Auswertung zur Abschätzung möglicher Einflussfaktoren auf das Aminosäurenmuster des Mikrobenproteins folgte den unter Abschnitt 3.8 dargestellten Überlegungen. Eine Empfehlung von Schätzgleichungen zur Bestimmung des Aminosäurenmusters der Mikrobenfraktionen stand nicht zur Diskussion.

4.7.1 Vergleich der Mikrobenfraktionen

Mittels einfacher Varianzanalyse mit dem fixen Faktor "Mikrobenfraktion" wurde untersucht, ob sich die isolierten Bakterienfraktionen TB, SAB und LAB hinsichtlich ihres Aminosäurenmusters unterscheiden. Tabelle 15 zeigt eine Übersicht der Mittelwerte über alle untersuchten

³Die maximale Abweichung der 2 Messungen einer Probe betrug für die TB 9,0 %. Im Mittel aller Versuche und Fermenter wurden Differenzen zwischen wiederholten Messungen von 3,7 % ermittelt.

Mischrationen der einzelnen Mikrobenfraktionen unabhängig von der Ammoniumkonzentration im Puffer einschließlich der Signifikanzangaben. Diese allgemeine Vorgehensweise ist sicher nur dann gerechtfertigt, wenn von einer Konstanz des Aminosäurenmusters des Mikrobenproteins unabhängig von der Rationszusammensetzung ausgegangen wird. Die Standardabweichungen der einzelnen Aminosäuren liegen für die TB zwischen 3,1 und 9,1 %, für die LAB zwischen 3,8 und 10,9 % und für die SAB zwischen 3,7 und 20,4 %.

Tabelle 15: Mittelwerte der Aminosäurekonzentrationen (g Aminosäure je 16 g N) und der Faktoren aus dem Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 ($\pm s$; $n = 24$)

Aminosäure	g Aminosäure je 16 g N				Verhältnis, wenn Methionin = 1			
	TB	LAB	SAB	P_{global}	TB	LAB	SAB	P_{global}
Alanin	6,7 ^a 0,24	6,7 ^a 0,35	6,5 ^b 0,33	0,02	3,4 0,19	3,3 0,16	3,4 0,19	0,10
Arginin	4,5 0,28	4,3 0,36	4,4 0,53	0,32	2,3 ^a 0,17	2,1 ^b 0,17	2,3 ^{ab} 0,34	0,03
Asparaginsäure	9,8 0,37	9,8 0,44	9,8 0,55	0,77	5,0 ^{ab} 0,23	4,8 ^a 0,18	5,0 ^b 0,42	0,02
Cystin	0,8 ^a 0,05	0,8 ^a 0,09	1,0 ^b 0,20	<0,01	0,4 ^a 0,03	0,4 ^a 0,04	0,5 ^b 0,09	<0,01
Glutaminsäure	10,8 ^a 0,40	10,9 ^a 0,46	11,9 ^b 1,03	<0,01	5,5 ^a 0,27	5,3 ^a 0,24	6,1 ^b 0,75	<0,01
Glycin	4,5 0,21	4,4 0,17	4,5 0,16	0,09	2,3 ^a 0,10	2,1 ^b 0,08	2,3 ^a 0,14	<0,01
Isoleucin	4,3 0,23	4,4 0,21	4,5 0,23	0,19	2,2 ^a 0,11	2,2 ^a 0,06	2,3 ^b 0,17	<0,01
Leucin	6,3 ^a 0,20	6,4 ^a 0,25	6,9 ^b 0,37	<0,01	3,2 ^a 0,14	3,1 ^a 0,11	3,6 ^b 0,28	<0,01
Lysin	6,3 ^{ab} 0,42	6,5 ^a 0,44	6,1 ^b 0,46	0,02	3,2 0,22	3,2 0,22	3,2 0,28	0,81
Methionin	2,0 ^{ab} 0,10	2,0 ^a 0,11	1,9 ^b 0,14	0,02	1	1	1	
Phenylalanin	4,0 ^a 0,20	4,1 ^a 0,33	4,4 ^b 0,43	<0,01	2,0 ^a 0,10	2,0 ^a 0,16	2,3 ^b 0,20	<0,01
Prolin	2,9 ^a 0,27	3,0 ^a 0,21	3,6 ^b 0,40	<0,01	1,5 ^a 0,16	1,4 ^a 0,10	1,9 ^b 0,27	<0,01
Serin	3,3 ^a 0,10	3,2 ^a 0,14	3,5 ^b 0,25	<0,01	1,7 ^a 0,08	1,6 ^a 0,07	1,8 ^b 0,18	<0,01
Threonin	4,5 ^a 0,15	4,3 ^b 0,19	4,3 ^b 0,16	<0,01	2,3 ^a 0,10	2,1 ^b 0,08	2,2 ^a 0,12	<0,01
Valin	5,2 0,20	5,2 0,28	5,3 0,30	0,21	2,6 ^a 0,11	2,5 ^b 0,10	2,7 ^c 0,18	<0,01

^{a,b}unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb einer Betrachtungsweise und Zeile, $P \leq 0,05$

Zwischen den TB und den am letzten Inkubationstag aus den Fermenterhalten isolierten LAB bestehen hinsichtlich des Aminosäurenmusters (g AS je 16 g N) im Mittel aller Versuche

keine Unterschiede. Lediglich bei der Betrachtungsweise der Verhältnisse der Aminosäuren untereinander sind bei Arginin, Glycin, Threonin und Valin signifikante Unterschiede zwischen den Fraktionen zu erkennen. Das mittlere Aminosäurenmuster des Proteins der SAB zeigt hingegen deutliche Unterschiede zu den LAB und zu den TB. Übereinstimmungen konnten nur bei den Aminosäuren Arginin, Asparaginsäure, Glycin, Isoleucin und Valin (in g AS je 16 g N) bzw. Alanin und Lysin (Verhältnis zu Methionin) beobachtet werden.

Bei der Trennung des Datenpools in TMR, die bei "niedriger" bzw. "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden, ergibt sich ein ähnliches Bild (Anhang, Tab. 44 und 45). Die eindeutige Trennung der Bakterienfraktionen anhand des Aminosäurenmusters fällt jedoch mit verringertem Datenumfang zunehmend undeutlicher aus.

Betrachtet man die Konzentrationen der Aminosäuren in den Fraktionen der Mikroben bei Einsatz einer "niedrigen" Ammoniumkonzentration im Puffer (Anhang, Tab. 44), dann sind bei 8 der 15 Aminosäuren signifikante Unterschiede zwischen den TB bzw. LAB und den SAB erkennbar. Das Muster der Verhältnisse der Aminosäuren zu Methionin zeigt dagegen eine deutliche Abgrenzung der SAB zu den beiden anderen Mikrobenfraktionen. Lediglich für Alanin, Arginin und Lysin sind keine Unterschiede sichtbar. Beachtet werden muss jedoch, dass zwischen den TB und den LAB für die Aminosäuren Alanin, Glycin, Serin und Threonin signifikante Unterschiede bestehen.

Die Interpretation der mittleren Aminosäurenmuster des Proteins der Mikrobenfraktionen aus den 8 TMR, die mit "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden, ist aufgrund der geringen n-Zahl mit Bedacht vorzunehmen (Anhang, Tab. 45). Die Fraktion der SAB unterscheidet sich nur für Leucin, Prolin und Threonin von den TB und für Glutaminsäure, Leucin, Prolin und Serin von den LAB. Für das Muster der Verhältnisse der Aminosäuren ergeben sich gleiche Signifikanzverhältnisse mit Ausnahme von Threonin.

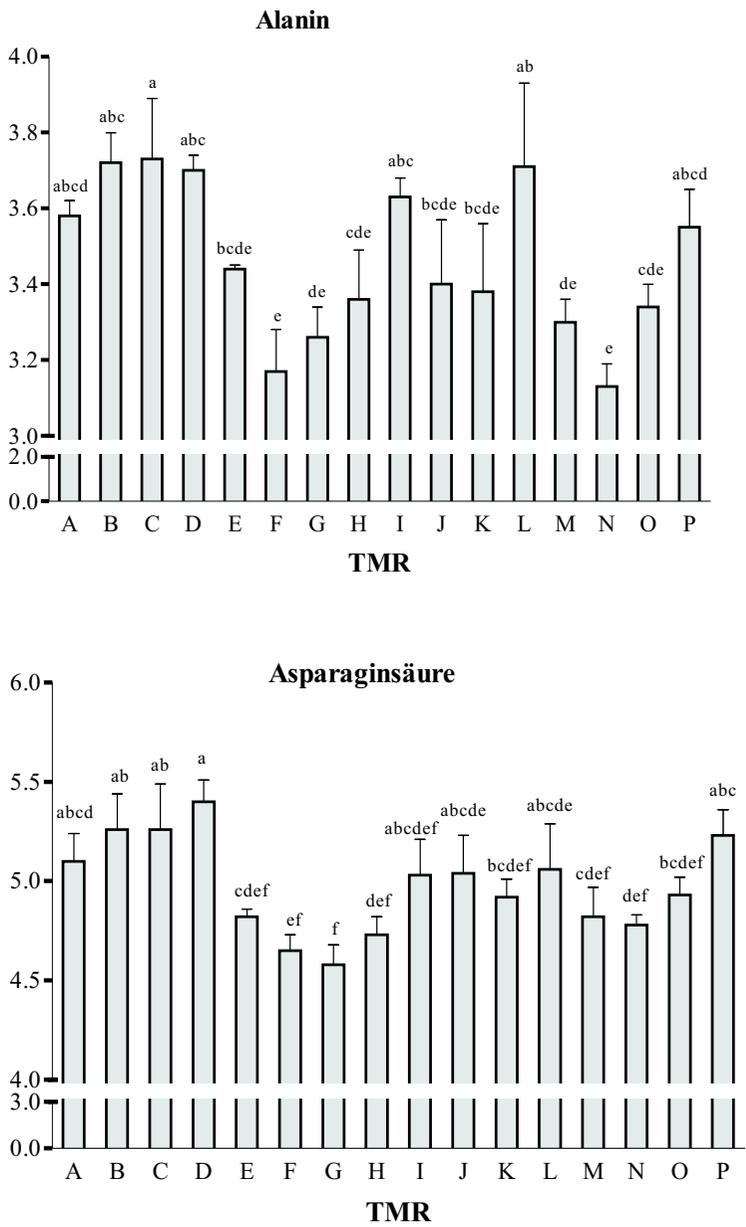
Es bleibt festzuhalten, dass offensichtlich nur geringe Unterschiede in der Aminosäurezusammensetzung des Proteins der Fraktionen TB und LAB bestehen. Die vom Futterrest isolierten SAB weisen dagegen ein anderes Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin auf. Hervorzuheben sind auch Unterschiede zwischen den dargestellten Betrachtungsweisen "Konzentration der Aminosäure in g/16 g N" und "Verhältnis der Aminosäure zu Methionin".

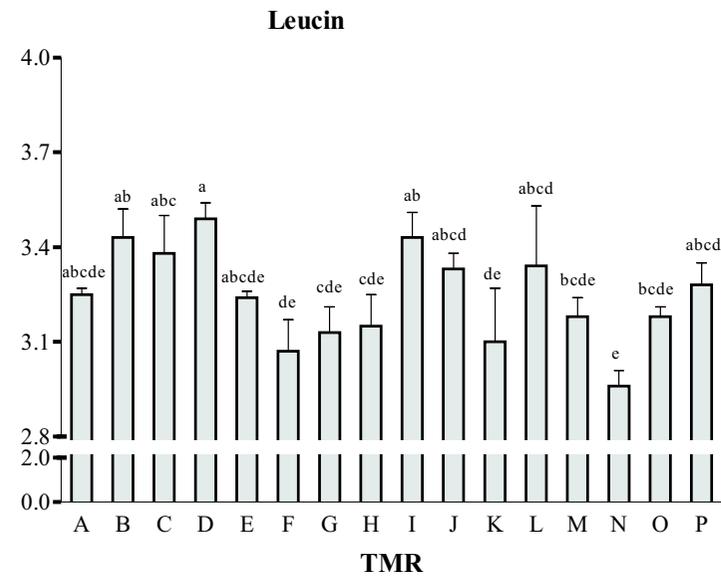
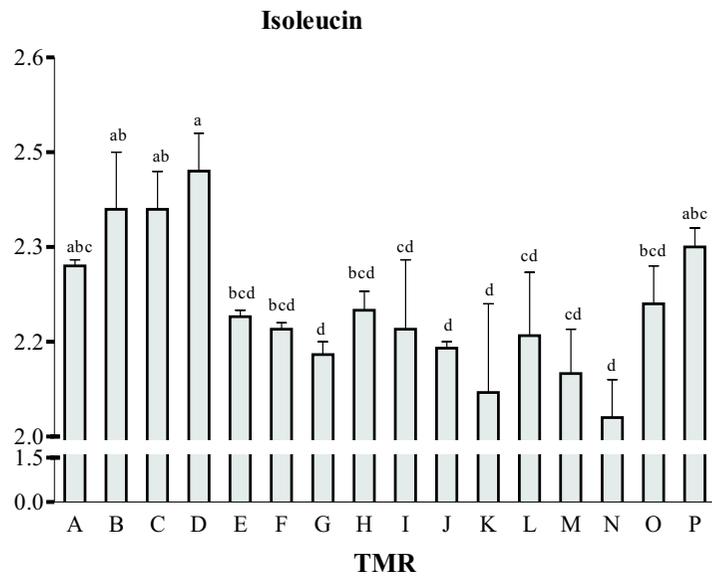
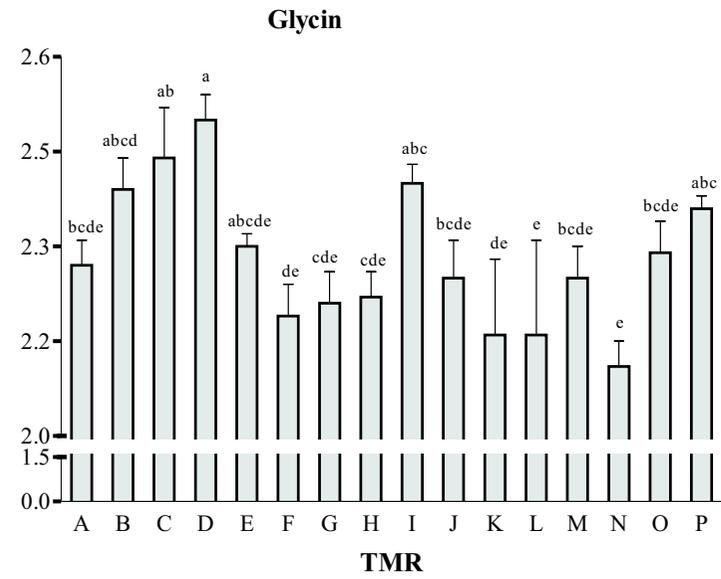
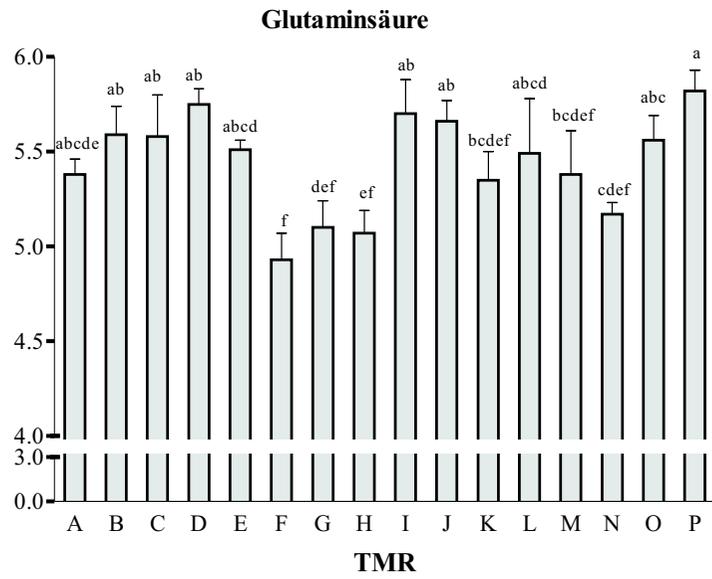
4.7.2 TB

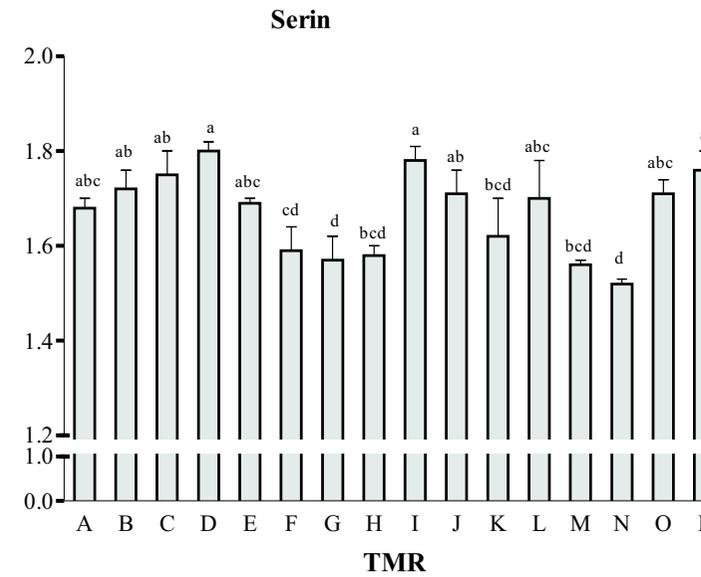
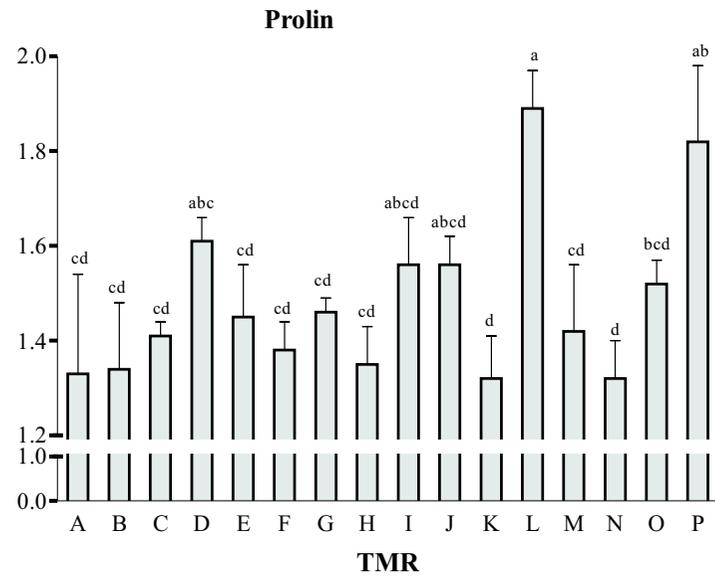
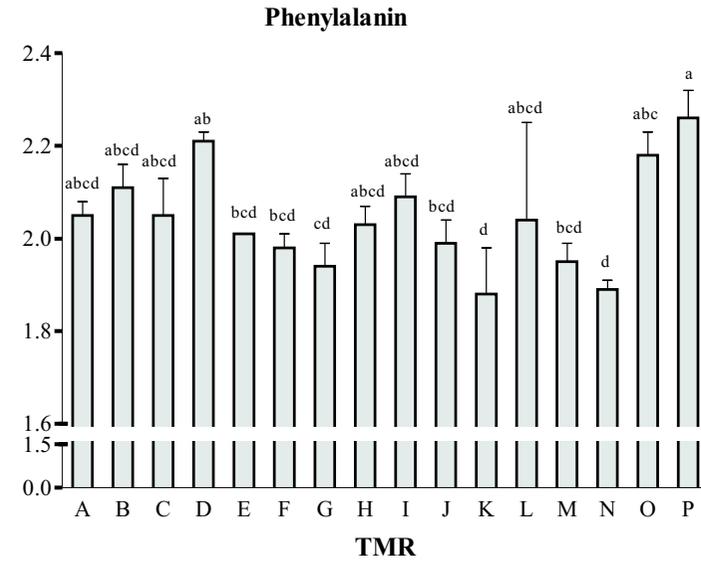
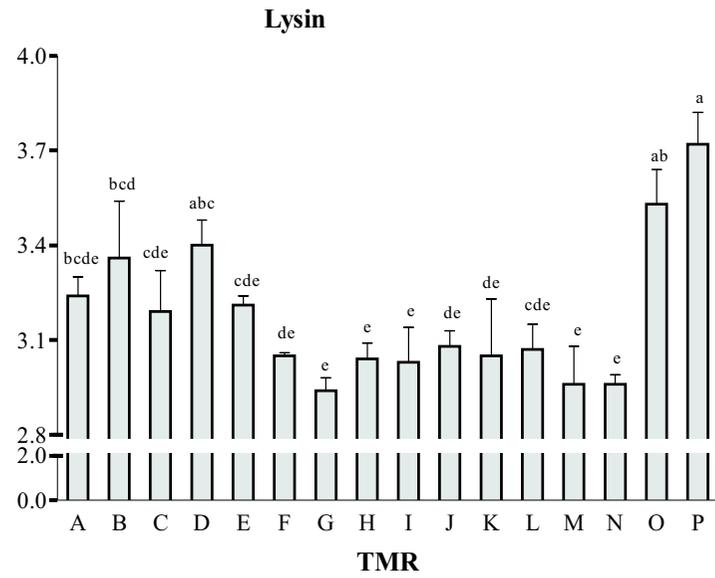
Im zweiten Schritt war zu klären, wie sich die Zusammensetzung des Mikrobenproteins zwischen den untersuchten TMR verhält. Dabei wurde zum Erhalt der Übersichtlichkeit die getrennte Betrachtung der Versuche mit "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration in der Pufferlösung gewählt.

Wie in Abbildung 4 zu erkennen ist, sind die Aminosäurenmuster des Proteins der TB zwischen den bei "niedriger" Ammoniumkonzentration untersuchten TMR nicht identisch.

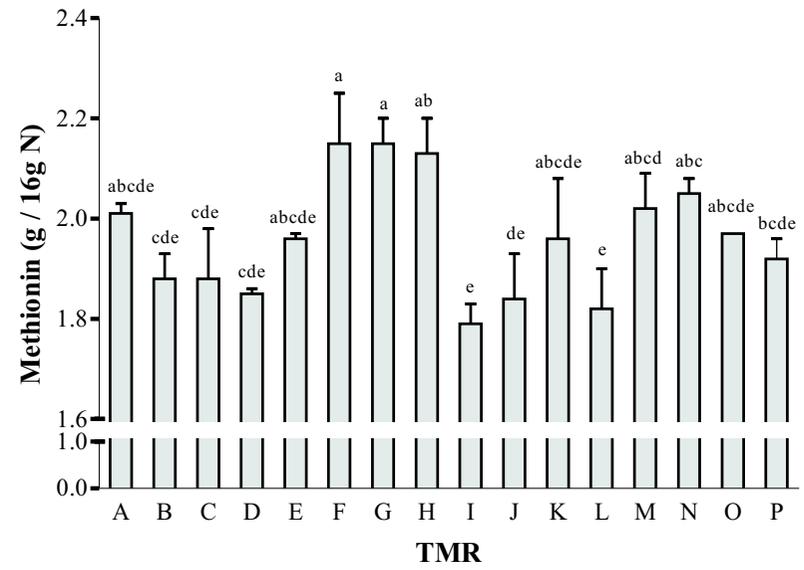
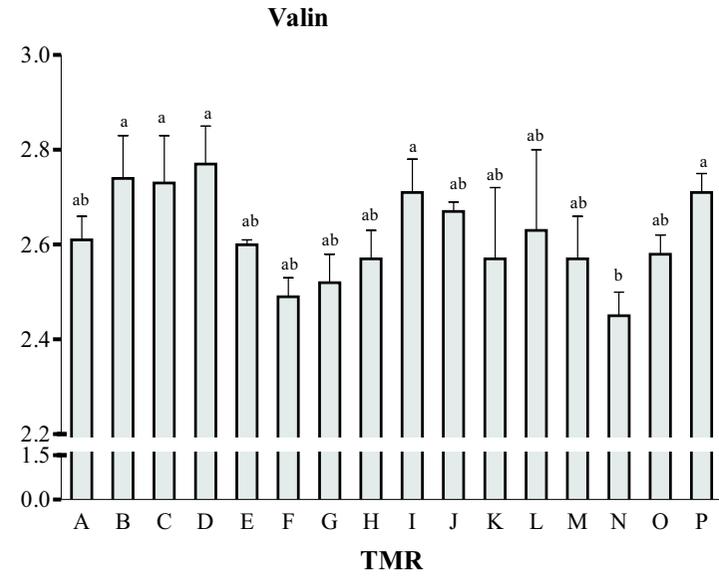
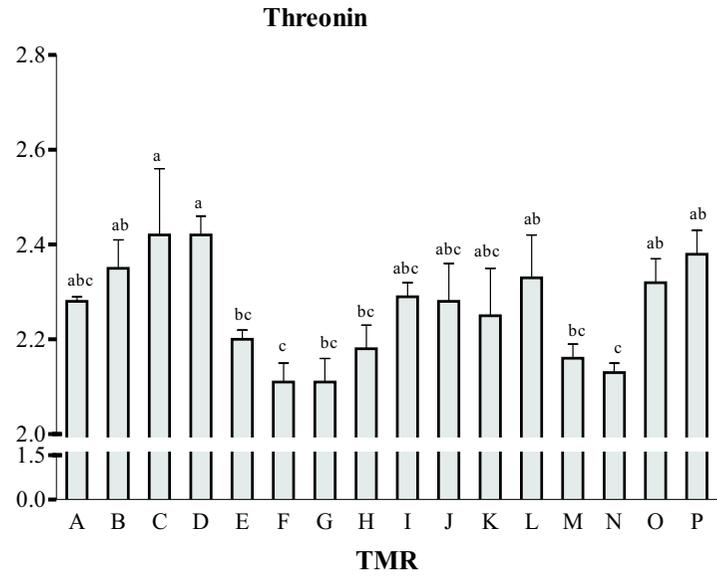
Abbildung 4: Zusammensetzung des Proteins der Referenzbakterien der einzelnen TMR bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)







Fortsetzung Abbildung 4



TMR, die sich nur durch unterschiedliche Anteile der gleichen Futtermittelchargen in der Mischung voneinander abheben, weisen keine Unterschiede im Aminosäurenmuster des Proteins der TB auf (Vergleich TMR E und I sowie G und H). Mischrationen, die sowohl von der Futtermittelgrundlage als auch vom Rohnährstoffgehalt und der Energiekonzentration nicht unterschiedlicher sein könnten (TMR M und N), zeigen ebenfalls ein identisches Aminosäurenmuster. Andererseits weisen TMR, die hinsichtlich ihrer Rohnährstoffzusammensetzung und Energiekonzentration vergleichbar sind, gravierende Differenzen auf (TMR D und G).

Der Vergleich der TMR hinsichtlich des Methioningehaltes (g/16 g N) des Proteins der TB führt zu gleich lautenden Aussagen (Abb. 4). Lediglich die Übereinstimmung des Aminosäurenmusters bei den TMR E und I trifft nicht zu.

Die 8 bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer untersuchten TMR zeigen eine weniger ausgeprägte Variabilität der Aminosäurenmuster des Proteins der TB (Abb. 5). Für Alanin, Glycin, Leucin, Phenylalanin und Serin bestehen keine Unterschiede zwischen den Mischrationen. Auffällig ist die Abgrenzung der energiearmen, Grassilage-reichen Ration M^+ von den TMR D^+ und P^+ , die mit Anteilen von 30 bzw. 40 % der Trockensubstanz deutlich höhere Maissilageanteile in der TMR aufweisen. Für die Aminosäuren Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin und Threonin bestehen signifikante Unterschiede. Die identischen Aminosäurenmuster der TMR M und N bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer wurden bei 5,0 mmol NH_4^+ /l nicht nachgewiesen. Bei Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin und Prolin zeigen sich statistisch gesicherte Differenzen.

Unterschiede in der Methioninkonzentration bestehen nur zwischen den TMR M^+ und D^+ .

Das wirft die Frage auf, ob die Ammoniumkonzentration im Puffer einen Einfluss auf die Aminosäurezusammensetzung des Proteins der Referenzbakterien ausübt. Wie in Tabelle 16 ersichtlich, weist keine der 8 in den Vergleich einbezogenen TMR ein identisches Aminosäurenmuster bei unterschiedlicher Ammoniumkonzentration im Puffer auf. Eine gerichtete Steigerung bzw. Absenkung einer AS in Relation zu Methionin konnte nicht beobachtet werden. Die Anteile von Lysin, Phenylalanin und Prolin waren bei der Hälfte der Mischrationen verändert. Eine Affinität zu Mischrationen ähnlicher Struktur und Zusammensetzung kann nicht ausgemacht werden, da alle Vergleichs-TMR von der Veränderung des Aminosäurenmusters betroffen sind und keine Korrelationen zu Futtermitteln, Energiekonzentrationen oder Rohnährstoffgehalten bestehen. Signifikante Unterschiede in der Methioninkonzentration bestanden nur bei den TMR G und L.

Mittels multipler Regressionsanalyse wurde deshalb versucht, die Faktoren zu erkennen, die neben der Ammoniumkonzentration einen Einfluss auf das Aminosäurenmuster der TB ausüben. Für gesicherte Schätzgleichungen sind eine große Variabilität aller Faktoren und eine hohe Zahl an Versuchen notwendig. Daher spielt die Betrachtung der abgeleiteten Regressionen auf der Grundlage der 8 bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüften TMR keine Rolle, soll aber der Vollständigkeit halber dargestellt werden (Anhang, Tab. 46).

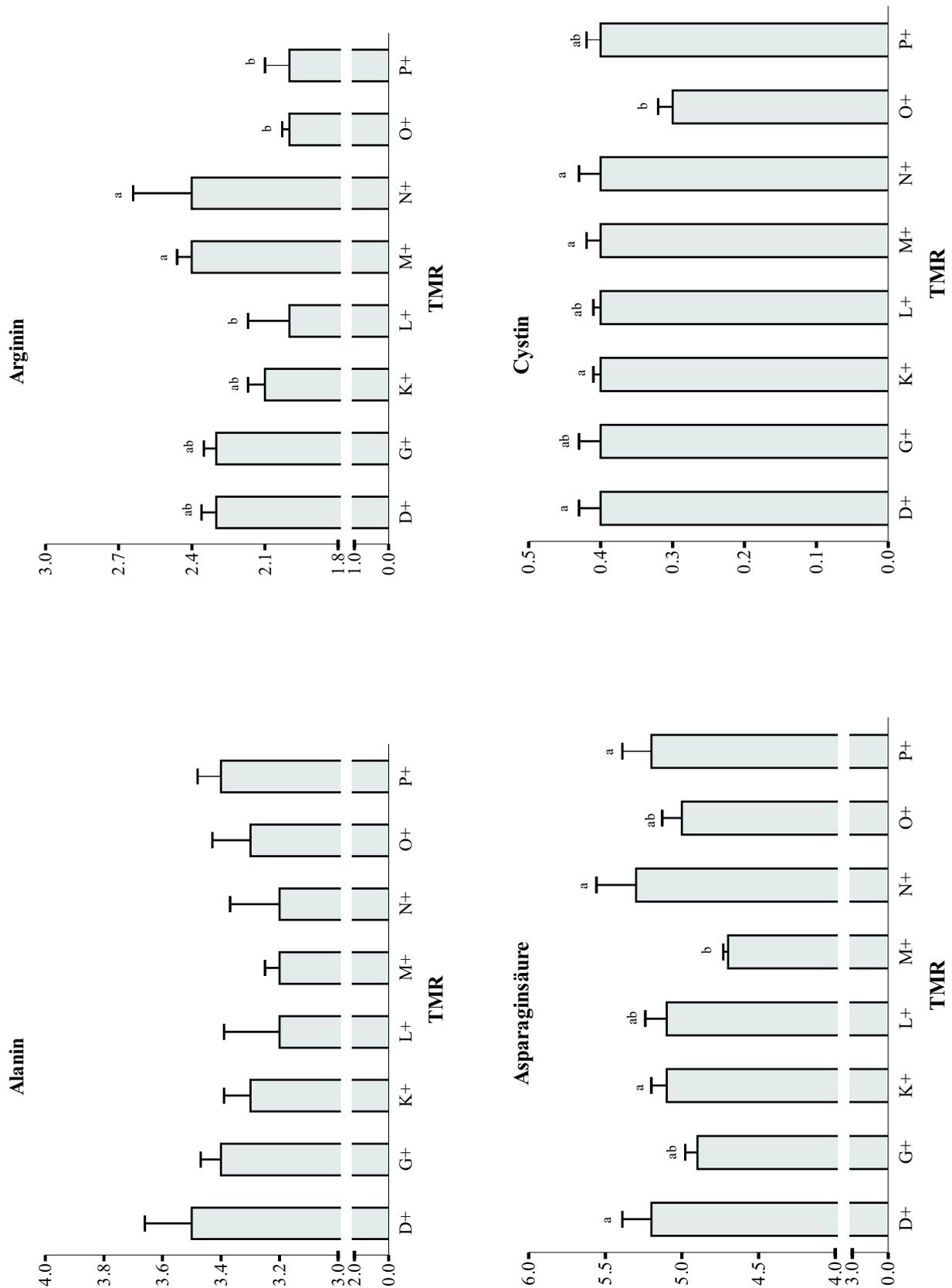
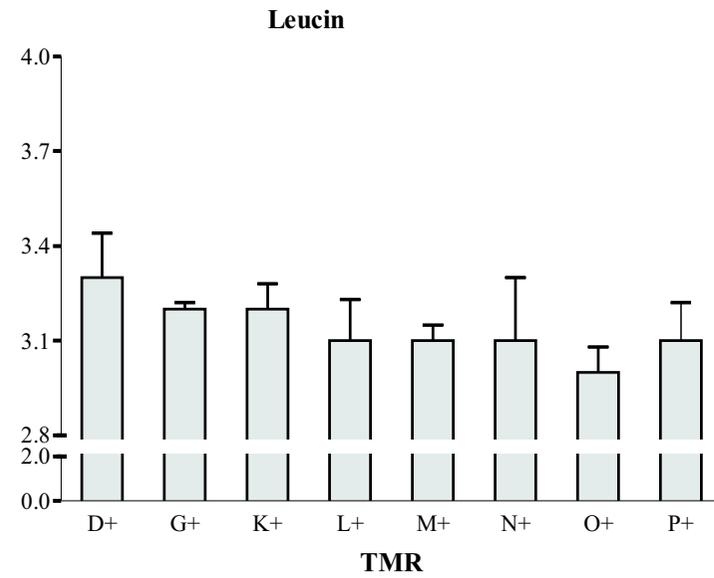
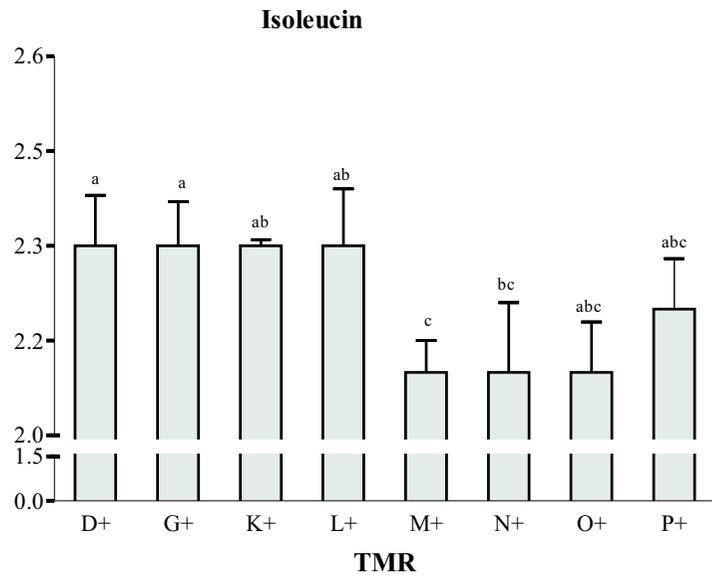
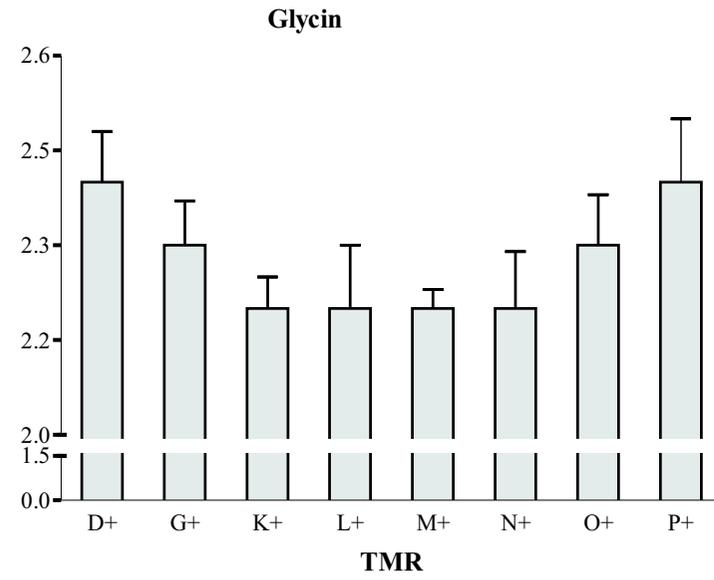
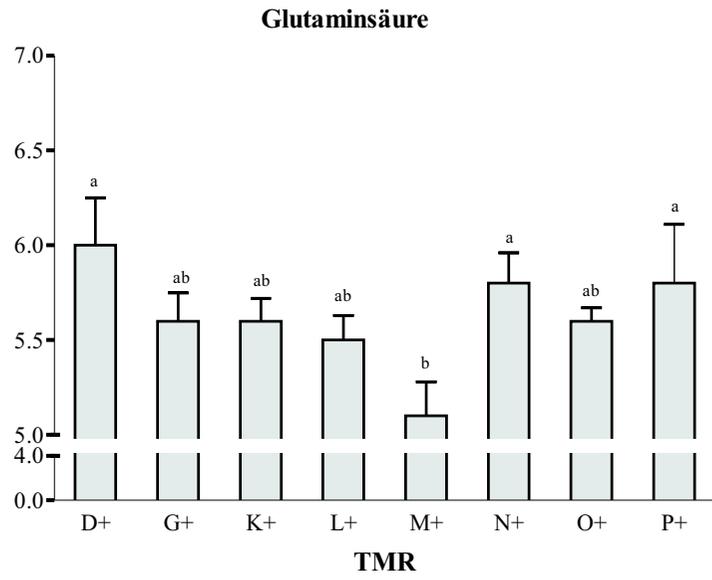
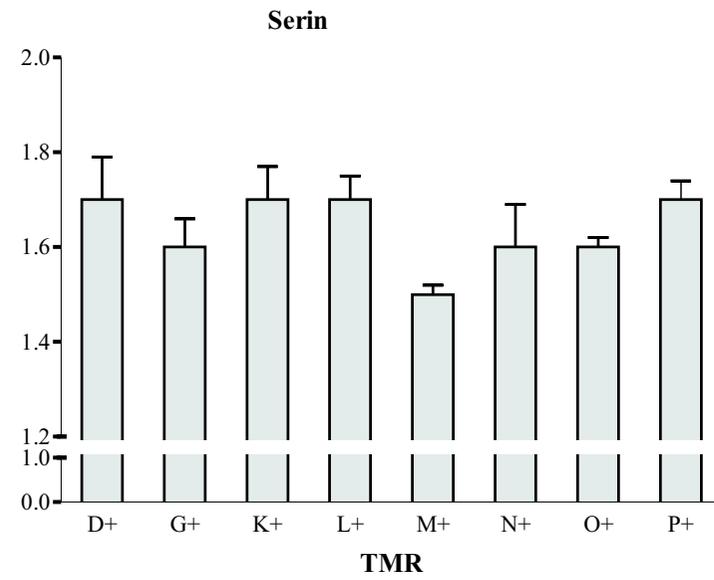
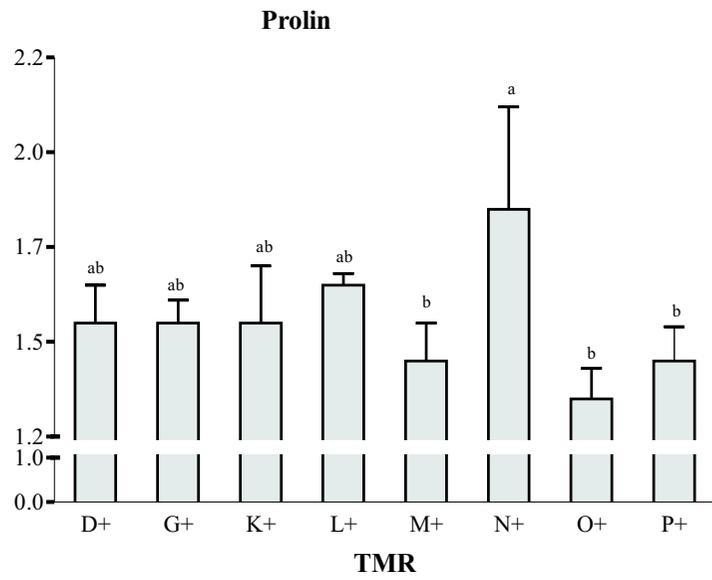
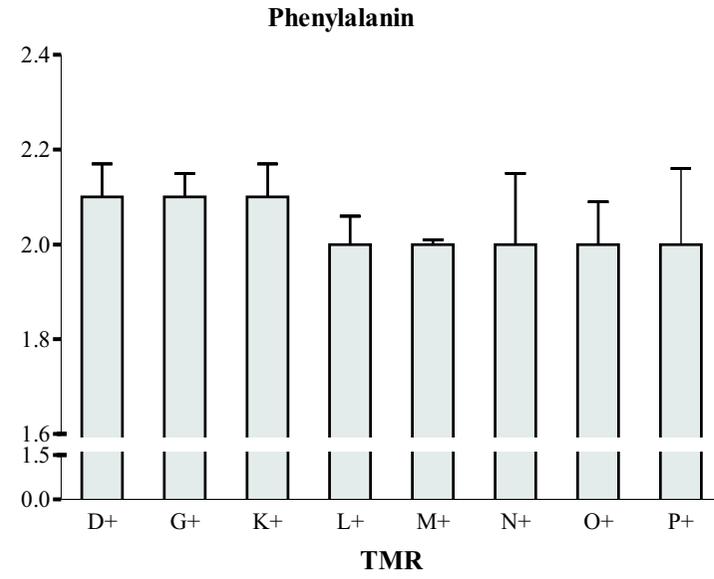
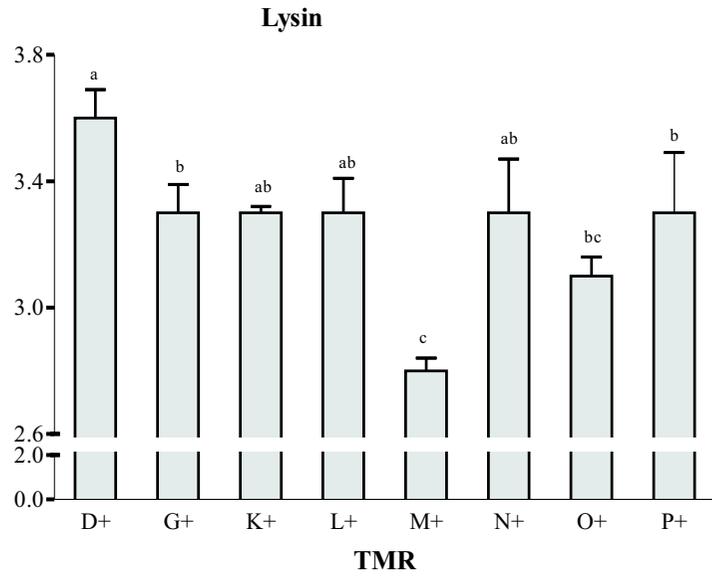


Abbildung 5: Zusammensetzung des Proteins der Referenzbakterien der einzelnen TMR bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b}unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)





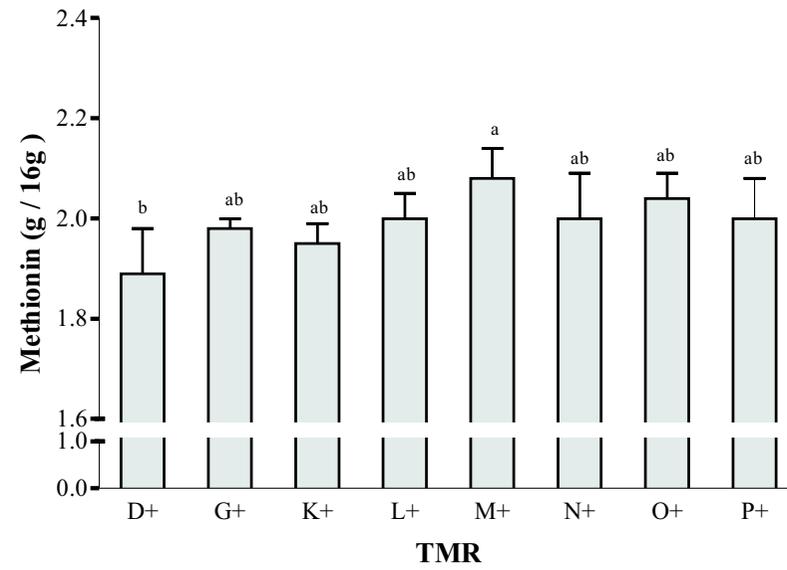
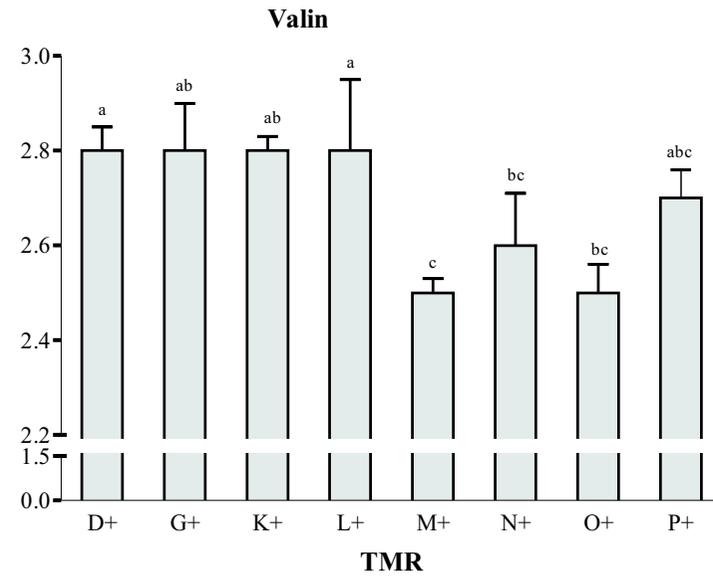
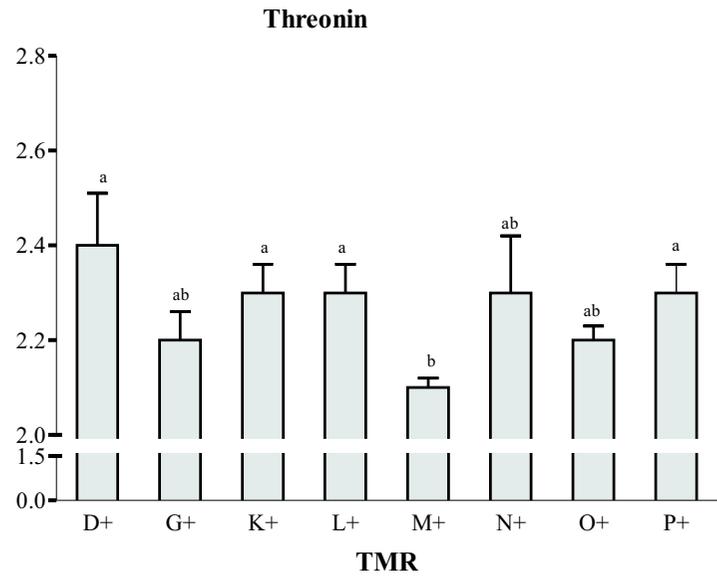


Tabelle 16: Muster des Verhältnisses der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1 und Methioninkonzentration im Protein der Referenzbakterien bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$)

TMR ¹	D	D ⁺	G	G ⁺	K	K ⁺	L	L ⁺	M	M ⁺	N	N ⁺	O	O ⁺	P	P ⁺
Alanin	3,7 0,04	3,5 0,16	3,3 0,08	3,4 0,07	3,4 0,18	3,3 0,09	3,7 ^a 0,22	3,2 ^b 0,19	3,3 0,06	3,2 0,05	3,1 0,06	3,2 0,17	3,3 0,06	3,3 0,13	3,5 0,10	3,4 0,08
Arginin	2,4 0,08	2,3 0,06	2,2 0,07	2,3 0,05	2,3 0,19	2,1 0,07	2,3 0,10	2,0 0,17	2,3 0,05	2,4 0,06	2,2 0,05	2,4 0,24	2,2 ^a 0,03	2,0 ^b 0,03	2,2 ^a 0,05	2,0 ^b 0,10
Asparaginsäure	5,4 0,11	5,2 0,19	4,6 ^a 0,10	4,9 ^b 0,08	4,9 0,09	5,1 0,10	5,1 0,23	5,1 0,14	4,8 0,15	4,7 0,03	4,8 ^a 0,05	5,3 ^b 0,26	4,9 0,09	5,0 0,13	5,2 0,13	5,2 0,19
Cystin	0,5 0,05	0,4 0,03	0,4 0,03	0,4 0,03	0,4 0,01	0,4 0,01	0,4 0,04	0,4 0,01	0,4 0,02	0,4 0,02	0,4 0,03	0,4 0,03	0,4 ^a 0,02	0,3 ^b 0,02	0,5 ^a 0,02	0,4 ^b 0,02
Glutaminsäure	5,7 0,08	6,0 0,25	5,1 ^a 0,14	5,6 ^b 0,15	5,4 0,15	5,6 0,12	5,5 0,29	5,5 0,13	5,4 0,23	5,1 0,18	5,2 ^a 0,06	5,8 ^b 0,16	5,6 0,13	5,6 0,07	5,8 0,11	5,8 0,31
Glycin	2,5 0,04	2,4 0,08	2,2 0,05	2,3 0,07	2,2 0,12	2,2 0,05	2,2 0,15	2,2 0,10	2,2 0,05	2,2 0,03	2,1 0,04	2,2 0,09	2,3 0,05	2,3 0,08	2,4 0,02	2,4 0,10
Isoleucin	2,4 0,06	2,3 0,08	2,1 ^a 0,02	2,3 ^b 0,07	2,1 ^a 0,14	2,3 ^b 0,01	2,2 0,10	2,3 0,09	2,1 0,07	2,1 0,05	2,0 0,06	2,1 0,11	2,2 0,06	2,1 0,08	2,3 0,03	2,2 0,08
Leucin	3,5 0,05	3,3 0,14	3,1 0,08	3,2 0,02	3,1 0,17	3,2 0,08	3,3 0,19	3,1 0,13	3,2 0,06	3,1 0,05	3,0 0,05	3,1 0,20	3,2 ^a 0,03	3,0 ^b 0,08	3,3 0,07	3,1 0,12
Lysin	3,4 0,08	3,6 0,09	2,9 ^a 0,04	3,3 ^b 0,09	3,1 0,18	3,3 0,02	3,1 0,08	3,3 0,11	3,0 0,12	2,8 0,04	3,0 ^a 0,03	3,3 ^b 0,17	3,5 ^a 0,11	3,1 ^b 0,06	3,7 ^a 0,10	3,3 ^b 0,19
Phenylalanin	2,2 ^a 0,02	2,1 ^b 0,07	1,9 ^a 0,05	2,1 ^b 0,05	1,9 ^a 0,10	2,1 ^b 0,07	2,0 0,21	2,0 0,06	2,0 0,04	2,0 0,01	1,9 0,02	2,0 0,15	2,2 ^a 0,05	2,0 ^b 0,09	2,3 0,06	2,0 0,16
Prolin	1,6 0,05	1,5 0,10	1,5 0,03	1,5 0,06	1,3 0,09	1,5 0,15	1,9 ^a 0,08	1,6 ^b 0,03	1,4 0,14	1,4 0,10	1,3 ^a 0,08	1,8 ^b 0,27	1,5 ^a 0,05	1,3 ^b 0,08	1,8 ^a 0,16	1,4 ^b 0,09
Serin	1,8 0,02	1,7 0,09	1,6 0,05	1,6 0,06	1,6 0,08	1,7 0,07	1,7 0,08	1,7 0,05	1,6 ^a 0,01	1,5 ^b 0,02	1,5 0,01	1,6 0,09	1,7 ^a 0,03	1,6 ^b 0,02	1,8 0,04	1,7 0,04
Threonin	2,4 0,04	2,4 0,11	2,1 ^a 0,05	2,2 ^b 0,06	2,3 0,10	2,3 0,06	2,3 0,09	2,3 0,06	2,2 ^a 0,03	2,1 ^b 0,02	2,1 0,02	2,3 0,12	2,3 ^a 0,05	2,2 ^b 0,03	2,4 0,05	2,3 0,06
Valin	2,8 0,08	2,8 0,05	2,5 ^a 0,06	2,8 ^b 0,10	2,6 0,15	2,8 0,03	2,6 0,17	2,8 0,15	2,6 0,09	2,5 0,03	2,4 0,05	2,6 0,11	2,6 0,04	2,5 0,06	2,7 0,04	2,7 0,06
Methionin ²	1,9 0,01	1,9 0,09	2,2 ^a 0,05	2,0 ^b 0,02	2,0 0,12	2,0 0,04	1,8 ^a 0,08	2,0 ^b 0,05	2,0 0,07	2,1 0,06	2,1 0,03	2,0 0,09	2,0 0,00	2,0 0,05	1,9 0,04	2,0 0,08

^{a,b}unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb einer Betrachtungsweise und Zeile, $P \leq 0,05$

¹⁺ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

² in g/16 g N

Für keine der 3 beschriebenen Betrachtungsebenen kristallisiert sich ein einzelner Faktor heraus, der für die Schätzung des Musters der Aminosäuren insgesamt von Bedeutung ist. Der multiple Ansatz auf der Ebene der analysierten Rohnährstoffe ist jedoch für die Ableitung gut geeignet ($P_{global} = 0,16$). Auch die Schätzung der Methioninkonzentration weist auf dieser Ebene eine hohe Güte auf ($r^2 = 0,88$; $s_{y.x} = 1,5\%$).

Eine globale Ableitung aus dem gesamten Datenpool unabhängig von der jeweils verwendeten Pufferlösung ignoriert den Faktor "Ammoniumkonzentration" als Einflussgröße auf das Verhältnis einzelner Aminosäuren zu Methionin. Da nur zwei Abstufungen in der NH_4^+ -Konzentration vorgenommen wurden, ist von einer geringen Variabilität dieses Faktors auszugehen. Eine Übersicht der Regressionsgleichungen einschließlich der partiellen und globalen P-Werte auf der Basis des gesamten Datenpools zur Bestimmung des Verhältnisses einer AS zu Methionin ist in Tabelle 47 (Anhang) dargestellt. Auf der Ebene der Rationszusammensetzung kristallisiert sich deutlich der Faktor "Anteil Grassilage" als Einflussgröße heraus. Auf der Basis der analysierten Rohnährstoffe konnte kein spezifischer Einflussfaktor für alle Aminosäuren ausgemacht werden. Der Abbau des Rohproteins scheint auf der 3. Vergleichsebene jedoch auf die meisten Aminosäuren den größten Einfluss auszuüben. Die Ableitungen zur Schätzung der Methioninkonzentration sind in allen Ebenen sehr ungenau ($r^2 \leq 0,42$; $s_{y.x} \geq 4\%$).

Die Ableitung von Schätzgleichungen aus dem Datenpool der TMR, die unter gleichen Bedingungen, d.h. bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden, zeigt ein ähnliches Bild (Tab. 17). Der Anteil Grassilage in % der T scheint die Einflussgröße zu sein, die zur Ableitung des Verhältnisses der Aminosäuren zu Methionin geeignet ist. Mit Ausnahme von Arginin, Glycin und Lysin deuten P-Werte $\leq 0,2$ die Bedeutung dieses Faktors an. Auch der mittlere, globale P-Wert von 0,16 weist im Vergleich zu den zwei anderen Betrachtungsebenen auf einen deutlich höheren Einflussgrad hin. Für die Ebene der analysierten Rohnährstoffe kann kein Vorteil eines Faktors erkannt werden. Das abgebaute Rohprotein weist im Mittel gegenüber dem Abbau der OS und der XF niedrigere P-Werte auf.

Abschließend kann eingeschätzt werden, dass das Aminosäurenmuster des Proteins der Referenzbakterien sowohl zwischen den Mischrationen als auch zwischen den zwei untersuchten Ammoniumkonzentrationen variiert. Eine gerichtete Erhöhung bzw. Erniedrigung der Konzentration einer Aminosäure in Abhängigkeit der Rationszusammensetzung ist nicht zu erkennen. Potenzielle Einflussgrößen auf das Aminosäurenmuster sind laut regressionsanalytischer Auswertung die Parameter "Anteil Grassilage in der Ration" und "Abbau des Rohproteins".

Tabelle 17: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäuremusters des Proteins der Referenzbakterien bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 16$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,3640	<0,01	2,6193	<0,01	5,2114	<0,01	0,4400	<0,01	5,6169	<0,01	2,2510	<0,01	2,1259	<0,01
GS ^b	-0,0107	<0,01	-0,0010	0,75	-0,0087	0,02	-0,0012	0,01	-0,0072	0,14	-0,0016	0,48	-0,0028	0,17
MS ^c	-0,0058	0,08	-0,0048	0,26	-0,0043	0,35	-0,0005	0,33	-0,0024	0,69	0,0012	0,68	0,0008	0,75
GF ^d	0,0082	0,03	-0,0019	0,70	0,0024	0,64	0,0005	0,42	0,0018	0,79	0,0007	0,83	0,0021	0,50
P_{global}		<0,01		0,38		0,02		0,02		0,16		0,53		0,20
r^2		0,71		0,22		0,56		0,56		0,34		0,16		0,31
$s_{y,x}$ %		3,48		7,05		3,54		5,11		4,37		4,96		4,63
Intercept	-2,2682	0,63	-3,8349	0,36	2,6066	0,63	0,2700	0,67	5,5317	0,40	3,1087	0,36	2,2720	0,46
OS ^e	0,0062	0,14	0,0056	0,13	0,0035	0,44	0,0002	0,65	0,0019	0,73	-0,0003	0,92	0,0004	0,89
XP ^e	0,0009	0,82	0,0029	0,42	-0,0009	0,84	0	0,98	-0,0054	0,34	-0,0019	0,51	-0,0011	0,66
XF ^e	-0,0003	0,93	0,0038	0,13	-0,0029	0,35	-0,0004	0,24	-0,0034	0,36	-0,0013	0,51	-0,0014	0,42
XL ^e	-0,0025	0,70	-0,0085	0,16	-0,0034	0,65	0,0005	0,58	-0,0064	0,49	0	1,00	0,0029	0,50
P_{global}		0,12		0,22		0,09		0,06		0,22		0,85		0,56
r^2		0,46		0,38		0,50		0,54		0,38		0,11		0,22
$s_{y,x}$ %		4,97		6,55		3,96		5,47		4,39		5,35		5,14
Intercept	4,2237	<0,01	3,5412	<0,01	5,6018	<0,01	0,4535	<0,01	7,2215	<0,01	2,5757	<0,01	2,1334	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0018	0,88	-0,0235	0,03	0,0056	0,69	0,0025	0,05	-0,0193	0,18	-0,0015	0,85	0,0057	0,48
XP _{abg} ^g	-0,0131	0,03	-0,0061	0,16	-0,0161	0,02	-0,0024	<0,01	-0,0171	0,01	-0,0037	0,29	-0,0027	0,44
XF _{abg} ^h	-0,0075	0,31	-0,0004	0,95	-0,0100	0,25	-0,0018	0,02	-0,0149	0,09	-0,0042	0,37	-0,0027	0,57
P_{global}		0,12		0,08		0,09		<0,01		0,03		0,61		0,73
r^2		0,37		0,42		0,40		0,71		0,52		0,14		0,10
$s_{y,x}$ %		5,15		6,07		4,14		4,13		3,72		5,04		5,30

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,2456	<0,01	2,9052	<0,01	1,8655	<0,01	1,3073	<0,01	1,6552	<0,01	2,2683	<0,01	2,6536	<0,01
GS ^b	-0,0056	0,04	-0,0043	0,31	-0,0027	0,16	-0,0068	0,04	-0,0032	0,04	-0,0043	0,01	-0,0031	0,07
MS ^c	-0,0034	0,32	0,0040	0,47	0,0016	0,53	-0,0047	0,26	-0,0014	0,49	-0,0010	0,60	-0,0010	0,64
GF ^d	0,0037	0,34	0,0042	0,50	0,0030	0,29	0,0071	0,15	0,0022	0,33	0,0023	0,30	0,0013	0,58
<i>P</i> _{global}		0,11		0,23		0,12		0,19		0,09		0,01		0,08
<i>r</i> ²		0,38		0,30		0,37		0,32		0,40		0,61		0,41
<i>s</i> _{y,x} %		4,01		6,62		4,73		10,7		4,47		3,25		3,08
Intercept	-0,3027	0,94	7,6648	0,18	2,3713	0,44	-3,6394	0,46	-0,6916	0,76	1,6481	0,51	1,5145	0,54
OS ^e	0,0038	0,28	-0,0025	0,60	0,0003	0,91	0,0047	0,27	0,0025	0,20	0,0012	0,57	0,0016	0,45
XP ^e	0,0004	0,91	-0,0079	0,11	-0,0023	0,37	0,0020	0,64	0	1,00	-0,0013	0,55	-0,0010	0,64
XF ^e	0,0005	0,84	-0,0057	0,09	-0,0014	0,42	0,0015	0,61	0,0002	0,89	-0,0016	0,28	-0,0008	0,59
XL ^e	-0,0030	0,60	0,0083	0,29	0,0024	0,57	0,0043	0,54	0	0,99	0,0010	0,77	-0,0005	0,89
<i>P</i> _{global}		0,49		0,20		0,52		0,66		0,29		0,14		0,31
<i>r</i> ²		0,25		0,40		0,24		0,18		0,34		0,44		0,33
<i>s</i> _{y,x} %		4,61		6,39		5,44		12,2		4,91		4,04		3,43
Intercept	3,9582	<0,01	3,5822	<0,01	2,2626	<0,01	2,1920	<0,01	2,0956	<0,01	2,5659	<0,01	3,0338	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0080	0,42	-0,0013	0,94	-0,0031	0,70	-0,0103	0,41	-0,0048	0,40	0,0011	0,87	-0,0032	0,60
XP _{abg} ^g	-0,0077	0,08	-0,0046	0,52	-0,0007	0,85	-0,0039	0,46	-0,0046	0,08	-0,0062	0,05	-0,0057	0,04
XF _{abg} ^h	-0,0035	0,54	-0,0085	0,39	-0,0035	0,47	-0,0066	0,37	-0,0021	0,53	-0,0048	0,23	-0,0026	0,47
<i>P</i> _{global}		0,26		0,78		0,86		0,57		0,25		0,18		0,18
<i>r</i> ²		0,27		0,08		0,06		0,15		0,28		0,33		0,32
<i>s</i> _{y,x} %		4,34		7,54		5,79		12,0		4,90		4,26		3,31

^a Mittelwert der P-Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Fortsetzung Tabelle 17

	Mittelwert ^a	Methionin
		P=
Intercept		1,8253 <0,01
GS ^b	0,17	0,0046 0,02
MS ^c	0,46	0,0044 0,07
GF ^d	0,46	-0,0018 0,48
P_{global}	0,16	0,02
r^2		0,55
$s_{y,x}\%$		4,49
Intercept		5,2100 0,09
OS ^e	0,51	-0,0035 0,18
XP ^e	0,63	-0,0006 0,82
XF ^e	0,48	-0,0004 0,82
XL ^e	0,62	0,0043 0,31
P_{global}	0,34	0,22
r^2		0,38
$s_{y,x}\%$		5,48
Intercept		1,1405 <0,01
OS ^f _{abg}	0,54	0,0095 0,14
XP ^g _{abg}	0,23	0,0082 0,01
XF ^h _{abg}	0,40	0,0050 0,18
P_{global}	0,37	0,02
r^2		0,54
$s_{y,x}\%$		4,54

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

4.7.3 LAB

Mit Ausnahme von Prolin treten für alle Aminosäuren des Proteins der LAB signifikante Unterschiede zwischen den 16 TMR auf, wenn sie bei einer "niedrigen" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden (Anhang, Abb. 12). Mischrationen, die aus gleichen Futtermittelchargen in unterschiedlichen Anteilen konzipiert wurden (TMR C und D sowie G und H), weisen identische Aminosäurenmuster auf. Für die TMR E und I konnten nur für Glutaminsäure und Alanin signifikante Unterschiede festgestellt werden. Die TMR M und O unterscheiden sich trotz großer Differenzen im Anteil an Maissilage in der Ration nur in 3 der 14 Aminosäuren. Die in der Futtermittelzusammensetzung konträren Mischrationen B und F zeigen bis auf die Aminosäuren Alanin, Cystin, Prolin und Serin deutliche Unterschiede im Aminosäurenmuster.

Die TMR M⁺ und O⁺, die sich nur durch unterschiedliche Anteile der eingesetzten Silagen voneinander abheben, weisen auch bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer in 10 der 14 Aminosäuren und in der Methioninkonzentration Übereinstimmungen auf (Anhang, Abb 13). Rationen, die sich sowohl in der Zusammensetzung als auch der Konzentration der Rohnährstoffe und Energie stark unterscheiden (M und N), zeigen nur bei den Aminosäuren Alanin und Glutaminsäure signifikante Differenzen.

Der Vergleich der Aminosäurenmuster des Proteins der LAB bei unterschiedlicher Ammoniumkonzentration im Puffer ist in Tabelle 18 dargestellt. Für keine der 8 TMR konnten identische Muster nachgewiesen werden. Besonders die Mischrationen G sowie D und P weisen in 7 bzw. 5 der 14 Aminosäuren signifikante Unterschiede auf. Die Variabilität zeigt sich auch darin, dass alle Aminosäuren von Veränderungen durch die Ammoniumkonzentration im Puffer beeinflusst sind. Bei den TMR K und N unterscheiden sich nur 2 der 14 Aminosäuren nach Änderung der Ammoniumkonzentration im Puffer. Für die Methioninkonzentrationen konnten mit Ausnahme der TMR D keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Tabelle 18: Muster des Verhältnisses der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1 und Methioninkonzentration im Protein der LAB bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$)

TMR ¹	D	D ⁺	G	G ⁺	K	K ⁺	L	L ⁺	M	M ⁺	N	N ⁺	O	O ⁺	P	P ⁺
Alanin	3,2 ^a 0,12	3,5 ^b 0,01	3,3 0,03	3,3 0,06	3,3 0,16	3,2 0,02	3,3 0,13	3,3 0,08	3,2 0,09	3,0 0,09	3,1 ^a 0,11	3,3 ^b 0,10	3,4 0,10	3,4 0,03	3,3 ^a 0,06	3,6 ^b 0,18
Arginin	2,3 ^a 0,06	2,0 ^b 0,09	2,1 ^a 0,04	2,0 ^b 0,08	2,0 0,05	2,0 0,13	2,0 0,12	2,1 0,14	2,3 0,04	2,3 0,10	2,3 0,11	2,2 0,04	1,9 0,05	1,9 0,04	1,7 0,07	1,9 0,17
Asparaginsäure	4,9 0,18	5,1 0,02	4,5 ^a 0,12	4,8 ^b 0,03	4,8 0,18	4,8 0,08	4,6 ^a 0,13	5,0 ^b 0,09	4,7 0,08	4,6 0,11	4,9 0,16	4,9 0,06	4,8 0,09	4,8 0,07	4,8 0,12	5,2 0,27
Cystin	0,4 0,01	0,4 0,04	0,5 0,02	0,4 0,03	0,4 ^a 0,01	0,3 ^b 0,01	0,4 ^a 0,01	0,3 ^b 0,01	0,4 0,01	0,4 0,02	0,4 0,02	0,4 0,03	0,4 0,02	0,4 0,02	0,3 0,03	0,4 0,02
Glutaminsäure	5,3 ^a 0,19	5,9 ^b 0,07	5,0 ^a 0,11	5,4 ^b 0,05	5,3 0,20	5,3 0,03	5,2 0,14	5,4 0,08	5,3 0,13	5,1 0,08	5,5 0,12	5,6 0,09	5,4 0,11	5,2 0,12	5,4 0,08	5,7 0,22
Glycin	2,1 ^a 0,09	2,3 ^b 0,01	2,1 0,05	2,2 0,04	2,2 0,10	2,1 0,03	2,1 0,05	2,2 0,08	2,2 0,05	2,1 0,06	2,1 ^a 0,05	2,2 ^b 0,02	2,1 ^a 0,04	2,2 ^b 0,02	2,1 ^a 0,05	2,3 ^b 0,13
Isoleucin	2,2 0,07	2,2 0,07	2,1 0,05	2,1 0,06	2,2 0,08	2,1 0,10	2,2 0,05	2,1 0,08	2,2 0,08	2,2 0,08	2,2 0,03	2,2 0,05	2,1 0,02	2,2 0,03	2,0 ^a 0,02	2,2 ^b 0,06
Leucin	3,2 0,14	3,3 0,03	3,1 0,10	3,1 0,05	3,2 ^a 0,10	2,9 ^b 0,02	3,0 0,09	3,0 0,07	3,3 0,10	3,2 0,07	3,2 0,09	3,2 0,01	3,1 0,07	3,1 0,05	3,0 0,09	3,1 0,13
Lysin	3,3 0,27	3,3 0,05	2,8 0,03	2,9 0,07	3,3 0,16	3,2 0,07	3,1 0,11	3,4 0,20	3,5 ^a 0,03	3,4 ^b 0,05	3,5 0,17	3,2 0,01	3,2 ^a 0,11	2,8 ^b 0,03	3,2 0,10	3,0 0,12
Phenylalanin	2,0 0,10	2,2 0,06	2,0 ^a 0,05	2,1 ^b 0,03	1,9 0,09	1,8 0,06	1,8 0,05	1,8 0,05	2,3 ^a 0,05	2,2 ^b 0,05	2,2 0,05	2,1 0,04	2,0 ^a 0,03	1,7 ^b 0,03	1,9 ^a 0,05	1,7 ^b 0,09
Prolin	1,4 ^a 0,07	1,7 ^b 0,11	1,3 ^a 0,08	1,6 ^b 0,07	1,5 0,13	1,4 0,04	1,5 0,09	1,4 0,10	1,4 0,08	1,5 0,03	1,5 0,08	1,4 0,02	1,5 0,17	1,5 0,16	1,6 0,09	1,6 0,16
Serin	1,6 0,07	1,7 0,02	1,5 0,05	1,6 0,01	1,5 0,04	1,5 0,03	1,4 ^a 0,04	1,6 ^b 0,03	1,6 0,01	1,6 0,03	1,6 0,02	1,6 0,03	1,6 0,04	1,6 0,04	1,5 0,05	1,7 0,10
Threonin	2,1 0,08	2,2 0,03	2,0 ^a 0,04	2,1 ^b 0,02	2,1 0,08	2,1 0,03	2,0 ^a 0,04	2,1 ^b 0,03	2,2 ^a 0,02	2,1 ^b 0,05	2,2 0,06	2,2 0,03	2,2 0,03	2,2 0,05	2,1 ^a 0,01	2,3 ^b 0,10
Valin	2,5 0,09	2,7 0,08	2,3 ^a 0,08	2,6 ^b 0,03	2,6 0,12	2,5 0,04	2,5 0,06	2,7 0,11	2,5 0,10	2,4 0,10	2,5 0,04	2,6 0,09	2,7 ^a 0,07	2,6 ^b 0,04	2,6 0,04	2,7 0,16
Methionin ²	2,1 ^a 0,10	1,9 ^b 0,02	2,0 0,05	2,0 0,04	2,0 0,08	2,1 0,01	2,1 0,09	2,0 0,03	2,0 0,03	2,0 0,04	2,0 0,07	2,0 0,07	2,1 0,06	2,0 0,07	2,1 0,05	2,0 0,07

^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb einer Betrachtungsweise und Zeile, $P \leq 0,05$

¹⁺ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

² in g/16 g N

Betrachtet man die P-Werte der abgeleiteten Regressionen auf der Basis des gesamten Datenpools, so sind in keiner Betrachtungsebene Einzelfaktoren auszumachen, die einen erhöhten Einfluss auf das Aminosäurenmuster der LAB ausüben (Anhang, Tab. 48). Multiple Regressionen unter Einbeziehung aller analysierten Rohrnährstoffe weisen jedoch einen vergleichsweise niedrigen P-Wert auf.

Die Auswertung des Datenpools der 16 Mischrationen, die mit "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden, zeigt vergleichbare Ergebnisse (Anhang, Tab. 49). Für die Ebene der Rationszusammensetzung kann keine Betonung eines Faktors erkannt werden. Auf Basis der analysierten Rohrnährstoffe erweisen sich die Faktoren "XP" und "XF" als bedeutsam für die Schätzung des Aminosäurenmusters. Das Zusammenwirken aller vier Regressoren führt zu einem mittleren, globalen P-Wert von 0,13. Der Abbau der Rohfaser scheint ebenfalls einen größeren Einfluss auf die Schätzung auszuüben.

Das Aminosäurenmuster des Proteins der LAB bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer scheint vom Anteil an Maissilage in der Ration beeinflussbar zu sein (Anhang, Tab. 50). Für die anderen zwei Ebenen konnte kein Faktor ermittelt werden, der für die Schätzung aller Aminosäuren eine größere Bedeutung aufweist.

Das Aminosäurenmuster des Proteins der LAB weist kaum Unterschiede zu dem der TB auf (Abschnitt 4.7.1). So bleibt festzuhalten, dass auch diese Mikrobenfraktion je nach Rationszusammensetzung signifikante Unterschiede im Aminosäurenmuster des Proteins aufweist. Es ist nicht schlüssig, welche Faktoren die Ursache dieser Differenzen sind. Für die Schätzung der Verhältnisse der einzelnen Aminosäuren zu Methionin scheint die Kombination der analysierten Rohrnährstoffe in g/kg Trockensubstanz geeignet zu sein.

4.7.4 SAB

Die Isolierung der an die Futterpartikel assoziierten Bakterien (SAB) war nur am letzten Inkubationstag eines jeden Versuches möglich (Abschnitt 3.5.6). Die Menge der gewonnenen Mikrobenmasse erwies sich als äußerst begrenzt, so dass zur Analyse der Aminosäurenkonzentration nur in Ausnahmen Probenmaterial für eine Doppelbestimmung zur Verfügung stand. Im Regelfall war die Probenmenge selbst für nur eine vorschriftsmäßige Analyse zu gering (Anhang, Tab. 43). Trotzdem soll auf die Darstellung der Ergebnisse nicht verzichtet werden, da für diese Bakterienfraktion nur wenige Datenerhebungen vorliegen [158, 120, 105].

Die relativ unsichere Analyse bedingt größere Standardabweichungen innerhalb einer betrachteten Mischration (Anhang, Abb. 14). Unabhängig davon sind Unterschiede im Aminosäurenmuster des Proteins der SAB bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer zwischen den TMR erkennbar. Sie sind jedoch weniger ausgeprägt als bei den Referenzbakterien. So gilt auch hier die Feststellung, dass Mischrationen aus identischen Futtermittelchargen keine (TMR G und H) oder wenige (Leucin und Serin, TMR E und I) signifikante Unterschiede

im Aminosäurenmuster zeigen. TMR aus Futtermitteln unterschiedlicher Herkunft aber ähnlicher Roh Nährstoffgehalte (TMR D und G) oder aber stark differierender Zusammensetzung (TMR M und N) weisen nur in 2 von 14 Aminosäuren signifikante Unterschiede auf. In der Methioninkonzentration waren keine Unterschiede erkennbar.

Der Vergleich des Aminosäurenmusters des Proteins der SAB aus den Versuchen mit "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ist in Abbildung 15 (Anhang) dargestellt. Von den untersuchten Aminosäuren ist nur die Konzentration von Valin in Relation zu Methionin für die 8 TMR identisch. Auffällig sind die in 9 von 14 Aminosäuren signifikant niedrigeren Werte bei der TMR M⁺ im Vergleich mit D⁺. Der Methioningehalt des Proteins der SAB der TMR M⁺ war signifikant höher als bei der TMR D⁺. Diese deutlichen Unterschiede hatten sich auch beim Aminosäurenmuster der TB gezeigt (Abschnitt 4.7.2). Trotz unterschiedlicher Zusammensetzung und Energiekonzentration der TMR O⁺ und P⁺ sowie G⁺ und L⁺ sind die Anteile der Aminosäuren in Relation zu Methionin bis auf Phenylalanin identisch.

Der Faktor "Ammoniumkonzentration im Puffer" ist bei der Fraktion der SAB ebenfalls von Bedeutung (Tab. 19). Das Erkennen von Unterschieden im Aminosäurenmuster des Proteins der SAB zwischen "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ist durch die relativ große Streuung der Werte zwischen den 3 Fermentern erschwert.

Die Aminosäurenmuster des Proteins der SAB der Rationen G, N und O ändern sich nicht mit steigender NH_4^+ -Konzentration im Puffer. Für die Ration L dagegen wurde in 8 der 14 analysierten Aminosäuren signifikante Differenzen festgestellt. Die Methioninkonzentration wies Unterschiede bei den TMR G und P auf.

Korrelationen zwischen der Rationszusammensetzung und der Konzentration einer AS konnten nicht ermittelt werden. Von einem einfaktoriellem Einfluss eines Roh Nährstoffes auf die Aminosäurenmuster des Proteins der an Futterpartikeln anhaftenden Mikroben kann demnach nicht ausgegangen werden. Die mittels multipler Regression abgeleiteten Schätzgleichungen zur Berechnung des Aminosäurenmusters zeigen jedoch in Abhängigkeit vom verwendeten Datenpool unterschiedliche Haupteinflussgrößen.

Nutzt man den gesamten Datenpool unabhängig von der Ammoniumkonzentration im Puffer, so sind der prozentuale Anteil des Grundfutters in der Gesamtration, die analysierte Rohfaser und der Abbau der OS die wichtigsten Faktoren für die Abschätzung des Aminosäurenmusters im Protein der SAB (Anhang, Tab. 51).

Der Faktor "Rohfaser" ist auch bei Mischrationen, die bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden, von vergleichsweise großer Bedeutung (Anhang, Tab. 52). Die multiplen Ableitungen auf der Basis des Abbaus der Roh Nährstoffe nach der Inkubation weisen mit einem mittleren, globalen P-Wert von 0,18 auf einen gerichteten Einfluss der verwendeten 3 Regressoren auf das Aminosäurenmuster des Proteins der SAB hin.

Für die Schätzung der Verhältnisse der Aminosäuren zu Methionin, wenn Methionin = 1, aus Versuchen mit "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer kommen neben dem Faktor Rohfaser der Anteil von Maissilage und v.a. der Anteil des Grundfutters in der Mischration in

Tabelle 19: Muster des Verhältnisses der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1 und Methioninkonzentration im Protein der SAB bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer (\pm s)

TMR ¹	D	D ⁺	G	G ⁺	K	K ⁺	L	L ⁺	M	M ⁺	N	N ⁺	O	O ⁺	P	P ⁺
Alanin	3,1 0,10	3,3 0,12	3,4 0,18	3,1 0,15	3,6 0,50	3,4 0,16	3,5 ^a 0,06	3,1 ^b 0,01	3,4 0,20	2,9 0,31	3,1 0,22	3,3 0,15	3,6 0,36	3,6 0,32	3,5 0,15	3,6 0,11
Arginin	2,7 0,25	2,8 0,07	2,1 0,16	2,0 0,42	2,3 0,40	2,1 0,16	2,2 0,31	2,0 0,23	1,9 0,12	1,8 0,41	2,7 0,16	2,5 0,09	2,2 0,20	2,2 0,38	1,9 ^a 0,10	2,3 ^b 0,10
Asparaginsäure	5,6 0,26	5,7 0,19	4,5 0,16	4,4 0,16	5,2 0,67	5,0 0,15	5,1 0,35	4,7 0,13	4,9 0,28	4,4 0,49	5,6 0,40	5,7 0,18	5,0 0,69	5,0 0,62	5,0 0,09	5,3 0,12
Cystin	0,5 0,05	0,5 0,03	0,6 0,10	0,5 0,06	0,7 ^a 0,13	0,3 ^b 0,05	0,6 ^a 0,12	0,3 ^b 0,10	0,5 0,12	0,4 0,05	0,5 0,07	0,6 0,12	0,5 0,12	0,4 0,07	0,4 ^a 0,03	0,4 ^b 0,02
Glutaminsäure	6,7 0,43	7,3 0,21	5,1 0,28	5,7 0,54	6,8 0,94	6,1 0,17	6,5 0,44	5,8 0,09	5,6 0,46	4,9 0,65	7,3 0,69	7,5 0,30	6,1 0,71	5,6 0,57	6,3 0,12	6,5 0,06
Glycin	2,3 0,10	2,4 0,09	2,3 0,16	2,1 0,12	2,4 0,34	2,3 0,10	2,4 ^a 0,16	2,1 ^b 0,03	2,4 0,20	2,0 0,18	2,3 0,18	2,5 0,08	2,5 0,33	2,4 0,28	2,2 ^a 0,06	2,4 ^b 0,12
Isoleucin	2,4 0,07	2,4 0,09	2,2 0,19	2,1 0,09	2,4 0,25	2,6 0,09	2,4 ^a 0,16	2,0 ^b 0,05	2,4 0,25	2,2 0,30	2,5 0,21	2,6 0,10	2,4 0,31	2,4 0,31	2,1 0,09	2,4 0,17
Leucin	3,8 0,16	3,8 0,13	3,4 0,17	3,4 0,17	3,6 0,45	3,3 0,14	3,7 ^a 0,25	3,2 ^b 0,02	3,5 0,23	3,1 0,35	3,8 0,33	4,0 0,11	3,9 0,50	3,7 0,35	3,4 ^a 0,05	3,7 ^b 0,05
Lysin	3,1 ^a 0,01	3,5 ^b 0,08	2,8 0,19	3,0 0,12	3,5 0,44	3,2 0,39	3,3 ^a 0,12	3,1 ^b 0,06	3,1 0,14	2,7 0,44	3,2 0,17	3,3 0,13	3,3 0,31	2,8 0,27	3,5 0,21	3,2 0,04
Phenylalanin	3,8 0,16	3,8 0,13	2,3 0,06	2,4 0,16	2,1 0,37	2,0 0,14	2,1 0,10	2,0 0,15	2,2 0,08	2,1 0,15	2,3 0,24	2,6 0,13	2,5 0,30	2,1 0,09	2,1 0,05	2,1 0,09
Prolin	2,0 0,29	2,4 0,31	1,6 0,06	1,7 0,19	2,2 ^a 0,06	1,7 ^b 0,21	2,3 ^a 0,14	1,8 ^b 0,06	1,9 ^a 0,28	1,3 ^b 0,18	1,9 0,36	2,0 0,07	2,0 0,38	1,8 0,56	1,8 0,32	2,0 0,22
Serin	2,1 0,14	2,2 0,03	1,7 0,08	1,7 0,08	1,8 0,27	1,7 0,05	1,9 ^a 0,14	1,6 ^b 0,06	1,8 ^a 0,09	1,5 ^b 0,14	2,1 0,12	2,1 0,12	1,8 0,33	1,8 0,15	1,8 0,05	1,9 0,10
Threonin	2,3 0,04	2,3 0,05	2,1 0,12	2,0 0,03	2,4 0,29	2,2 0,08	2,3 0,10	2,1 0,06	2,3 0,19	2,0 0,24	2,2 0,05	2,3 0,11	2,3 0,33	2,3 0,18	2,3 0,04	2,3 0,08
Valin	2,7 0,05	2,8 0,11	2,6 0,22	2,6 0,15	2,9 0,32	2,8 0,05	2,9 ^a 0,20	2,5 ^b 0,06	2,8 0,13	2,7 0,38	2,9 0,14	3,0 0,07	3,1 0,47	2,7 0,29	2,8 0,02	2,8 0,09
Methionin ²	2,0 0,21	1,8 0,06	2,0 ^a 0,04	2,2 ^b 0,06	1,9 0,22	1,9 0,06	1,9 0,12	2,0 0,03	2,0 0,13	2,3 0,30	1,9 0,12	1,8 0,07	1,9 0,23	1,9 0,15	2,0 ^a 0,06	1,8 ^b 0,02

^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb einer Betrachtungsweise und Zeile, $P \leq 0,05$

¹⁺ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

² in g/16 g N

Frage (Anhang, Tab. 53). Der niedrige, mittlere, globale P - Wert von 0,14 hebt die Bedeutung der Faktoren der Betrachtungsebene "Anteil Futtermittel" hervor. Der Einfluss des Faktors "Maissilage" konnte schon bei der Ableitung von multiplen Regressionen zur Schätzung des Aminosäurenmusters der LAB bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer dargestellt werden (Abschnitt 4.7.3).

Unabhängig von der Rationszusammensetzung und der hier gewählten Ammoniumkonzentrationen im Puffer variieren die Muster der Aminosäuren im Protein der SAB. Die deutliche Differenzierung, wie sie bei den TB sichtbar wurde (Abschnitt 4.7.2), zeigt sich bei den an Futterpartikeln assoziierten Mikroben jedoch nicht. Als eine mögliche Ursache werden die analysenbedingten großen Streuungen innerhalb einer Behandlung angesehen. Mögliche Einflussfaktoren auf das Aminosäurenmuster des Proteins der SAB sind die Anteile des Grundfutters in der TMR und die analysierte Rohfaser.

5 Diskussion

Ziel der folgenden Diskussion ist es, die dargestellten Ergebnisse mit anderen *in vitro*-Untersuchungen zu vergleichen. Gleichzeitig soll, soweit dies möglich erscheint, die Beziehung zum Tier hergestellt werden. Es wird bewusst darauf verzichtet, beschreibende Daten, wie z.B. die Menge an gebildeten kurzkettigen Fettsäuren und die ^{15}N -Konzentration in den Kompartimenten, mit Literaturangaben zu vergleichen.

Die Vielzahl der Berührungspunkte mit anderen Themenkomplexen erschwert es, auf alle Fragen detailliert einzugehen und in jedem Fall Originalliteratur zu zitieren. Es wird daher in Einzelfällen auf repräsentative Übersichtsarbeiten verwiesen.

Schwerpunkt dieser Diskussion soll es sein, die verwendete *in vitro*-Methode kritisch zu hinterfragen und die Ergebnisse im Kontext mit den aufgetretenen Problemen zu betrachten. Dazu gehören auch die Bilanzierung des Stickstoffflusses im System, die Korrektur des Futterrestes um den Anteil der anhaftenden SAB und die Kalkulation der Menge an gebildeten Aminosäuren je Einheit abgebaute Organische Substanz.

Das Anliegen dieser Arbeit, Einflussfaktoren auf die Synthese und die Aminosäurezusammensetzung des mikrobiellen Proteins darzustellen, tritt dabei in den Hintergrund.

5.1 Methode

Das Ziel eines jeden Pansensimulations-Systems ist die möglichst genaue Nachstellung der physiologischen Abläufe im Vormagen eines Wiederkäuers. Schon in den 40er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde an der Erarbeitung einfacher Simulationen gearbeitet [119]. Heute verbreitet genutzte *in vitro*-Systeme gehen auf die Entwicklungen von AAFJES & NIJHOF [1], HOOVER et al. [83] und CZERKAWSKI & BRECKENRIDGE [44] zurück. Spätere Arbeiten [133, 192, 66] beschäftigen sich v.a. mit der Verbesserung der kontinuierlichen Pansensimulationen⁴, um die Verhältnisse im Tier detailgetreuer nachstellen zu können. Probleme bereiten aber weiterhin die Darstellung unterschiedlicher Passageraten der flüssigen und festen Phase [85] und die Erfassung der Absorption von Abbauprodukten durch die Pansenwand [3]. Unabhängig von den angesprochenen Unzulänglichkeiten fanden HANNAH et al. [78] keine signifikanten Unterschiede im Abbau der OS, dem XP und der Aminosäuren zwischen Milchkühen und einem kontinuierlichen Pansensimulations-System. Keine Übereinstimmung im Abbau der NDF konnte bei Mischrationen mit einem hohen Anteil an leicht löslichen Kohlenhydrate festgestellt werden [118]. Das Milieu in den Fermentern, beschrieben durch die Parameter pH-Wert, Redoxpotenzial und Konzentration kurzkettiger Fettsäuren ist nachgewiesenermaßen ähnlich zu dem im Pansen [133].

Das in dieser Untersuchung verwendete semi-kontinuierliche Pansensimulations-System

⁴Kontinuierliche Pansensimulationen nach HOOVER et al. ([83]) verfügen über eine automatisierte, regelmäßige Futterzuführung. Das zu fermentierende Substrat schwimmt frei im Pansensaft-Puffer-Gemisch. Erst im Überlauf erfolgt die Trennung des Futterrestes von der flüssigen Phase.

(RUSITEC, nach [44]) ist sehr einfach aufgebaut (Abb. 1). Die Einhaltung der pansenphysiologischen Parameter ist jedoch schwieriger umzusetzen als in einem kontinuierlichen System. Bedingt durch die nur einmal tägliche Futterzuführung, die dabei auftretende Luftzufuhr, den Verbleib des Futters über einen Zeitraum von 48 h, die auftretende Akkumulation der Stoffwechselprodukte und den konstanten Pufferfluss im Tagesverlauf ist ein Milieu in den Fermentern zu erwarten, das nicht dem im Pansen eines Tieres entspricht. GIZZI et al. [73] zeigten jedoch, dass zwischen dem Fermentationsgeschehen *in vivo* und *in vitro* keine Unterschiede hinsichtlich Abbau der Rohnährstoffe, Mikrobenzahl und Konzentration kurzkettiger Fettsäuren bestehen, wenn anaerobe Bedingungen eingehalten und pH-Werte eingestellt werden, die denen im Pansen entsprechen.

Der **pH-Wert** als wichtiges Kriterium zur Beurteilung der Abbauprozesse ist abhängig von der Durchflussmenge an Puffer pro Tag [84] bzw. dem Speichelfluss in Verbindung mit der Kauaktivität des Tieres [115]⁵. Weiterhin ist bei steigenden Anteilen von Konzentratfuttermitteln in der Ration und damit höheren Gehalten leicht löslicher Kohlenhydrate mit einem Absinken des pH-Wertes im Pansen zu rechnen [106, 116].

Die tägliche Messung des pH-Wertes diente in vorliegender Untersuchung ausschließlich der Kontrolle der Reaktion in den Fermentern, um größere Schwankungen zu erkennen. Die Einstellung eines physiologischen pH-Wertes bei gleichbleibender Pufferzusammensetzung aber stark schwankender Rationszusammensetzung ist nicht möglich. Es bestand daher der Anspruch, die Reaktion in den Gefäßen möglichst neutral zu gestalten. Wie Tabelle 27 (Anhang) zeigt, schwankten die täglich vor der Futterzuführung gemessenen pH-Werte in einem engen Bereich zwischen 6,9 und 7,3.

Zwischen mehreren Autoren besteht Konsens darüber, dass ein höherer pH-Wert den Abbau der OS, der Faserfraktionen (NDF und ADF) und des XP begünstigt [74, 28, 202, 38]. Die geringe Spannweite des pH-Wertes ließ keine Überprüfung dieser Angaben zu. Es konnte kein Zusammenhang zu dem Abbau eines Rohnährstoffes oder zu dem einer Detergenzienfaser erkannt werden ($r < 0,40$).

In der Mehrzahl der genannten Untersuchungen konnte ein Anstieg der Essigsäurebildung zuungunsten der Propionsäure beobachtet werden. In vorliegender *in vitro*-Untersuchung besteht keine Korrelation zwischen dem pH-Wert und der gebildeten Essigsäuremenge.

Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese ist nach Literaturangaben [28, 38] nicht oder nur leicht positiv von einem erhöhten pH-Wert beeinflusst. HOOVER et al. [84] halten einen pH-Wert von ca. 6,5 für das Optimum in Bezug auf den Abbau der Rohnährstoffe und das mikrobielle Wachstum.

Eine steigende **Durchflussmenge an Pufferlösung** pro Tag bei konstanter Passagerate des Futters erhöht die Menge an gebildeten kurzkettigen Fettsäuren [46], insbesondere die

⁵Puffermenge pro Tag und Speichelmenge pro Tag können nicht direkt miteinander verglichen werden, da der Speichelfluss diskontinuierlich im Tagesverlauf erfolgt.

Propionatproduktion [84]. Ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,56$ zwischen der Menge an gebildeter Propionsäure je kg T und der Durchflussrate (ml/d) in vorliegender Untersuchung unterstützt diese Feststellung. Dies ist jedoch nicht unabhängig von der Zusammensetzung des Futters. Die Inkubation von reinem Sojaprotein senkte die Produktion kurzkettiger Fettsäuren bei steigender Durchflussrate [130]. Bei zusätzlich steigenden Passageraten der festen Phase ist der Effekt der zunehmenden Bildung kurzkettiger Fettsäuren je Einheit abgebaute Trockensubstanz nicht mehr zu erkennen [40]. Bei gleichbleibendem Durchfluss an Puffer aber steigender Futterpassage pro Zeiteinheit ist ein Anstieg der Essigsäureproduktion bei einem Abfall der Gesamtproduktion kurzkettiger Fettsäuren zu verzeichnen [173].

Unabhängig von der Passagerate des Futters sind in einem weiten Bereich nur geringe Einflüsse der Puffermenge auf den Abbau der OS und des XP festgestellt worden [130]. Eine Verdreifachung der Durchflussrate von 0,33 auf 0,96 /d steigerte den Abbau der Trockensubstanz nur um 8 % [44]. Erst ab Durchflussraten ≥ 10 % pro Stunde sind sinkende Abbaubarkeiten zu erwarten. Die hier verwendete Rate an Pufferdurchfluss von 3,1 % des Fermenterinhaltens /h sollte also nicht begrenzend gewirkt haben. Ein Optimum des Abbaus der meisten Nährstoffe wird bei einer Pufferdurchflussrate zwischen 11 und 15 % pro Stunde und einer Passagerate des Futters von 22 h beschrieben [40, 84].

Von einer ‘Passagerate des Futters’ kann bei der hier verwendeten Pansensimulation nicht gesprochen werden. Die gesamte Futtermenge blieb unabhängig von Partikelgröße und deren spezifischem Gewicht, die als entscheidende Einflussgrößen auf den Abfluss aus dem Pansen gesehen werden [201, 59, 60], 48 h im Fermenter.

Auswirkungen eines erhöhten Pufferdurchflusses auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese sind nicht von der Hand zu weisen. So konnten mit steigender Durchflussrate höhere Bakterienmengen anhand von Diaminopimelinsäure (DAPA) gemessen werden [45]. Die Menge an Mikrobenstickstoff je Gramm abgebaute OS stieg an [130]. Dies kann jedoch wiederum nicht unabhängig vom pH-Wert gesehen werden. Sowohl bei einem niedrigen (= 4,5) als auch hohen (= 7,5) pH-Wert sank die Effizienz der Synthese mit steigender Pufferdurchflussrate [84]. Mit der vorliegenden Untersuchung wurde nur der neutrale bis leicht basische pH-Bereich abgedeckt. Es konnte hier kein Zusammenhang zwischen pH-Wert, Puffermenge pro Tag und der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese (hier g Mikrobenprotein je kg abgebaute OS) hergestellt werden (Anhang, Abb. 16).

Die Wechselwirkungen zwischen Pufferfluss und pH-Wert bei zusätzlicher Beeinflussung durch veränderte Futterzusammensetzung erlauben es nicht, quantitative Aussagen hinsichtlich der Wirkung des einen oder anderen Faktors auf die Fermentationsparameter zu treffen. Zur vergleichenden Beschreibung von Futtermitteln oder Rationen müssen daher die Umweltbedingungen definiert und eingehalten werden. Insofern sind die Schwankungen der Durchflussmenge an Puffer, wie sie aus den Standardabweichungen vom Mittelwert der Versuchstage 7 bis 14 abzulesen sind (Anhang, Tab. 25), Fehlerquellen dieser Untersuchung. Dies muss bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden. Die Ursachen dieser Variatio-

nen im Pufferdurchfluss finden sich in technischen Mängeln der Dosierpumpe, Abnutzung der verwendeten Schläuche im Laufe eines Versuches, Verstopfungen durch Auskristallisation von Salzen oder faserreiches Material und Feuchtigkeitseintritt in den Förderbereich der Pumpe.

Eine Absenkung des pH-Wertes in den Fermentern in einen Bereich, der den Bedingungen im Pansen entspricht, ist für zukünftige Untersuchungen anzuraten. Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die Höhe des Abbaus der Rohnährstoffe oder die Effizienz der mikrobiellen Synthese unabhängig vom pH-Wert konstant sind.

Kritisch zu hinterfragen ist ebenfalls der Einfluss der Anzahl der Durchmischungen des Futters pro Zeiteinheit. Die Zahl der Hübe pro Minute der Innenbehälter der Fermenter (Abschnitt 3.1.3) lässt sich nicht zwangsläufig mit der Anzahl der Pansenbewegungen vergleichen. Es sei jedoch darauf verwiesen, dass der Pansen einer Milchkuh in Abhängigkeit von der physikalischen Form des Futters nur 1–1,3/min einen vollständigen Kontraktionszyklus durchläuft [142]. Untersuchungen zur Höhe der Beeinflussung des Fermentationsgeschehens durch die Bewegungsintensität sind nicht bekannt.

Die **Ammoniumkonzentration im Puffer** ist eine weitere Variable, die Wirkungen auf die Fermentation ausüben könnte. Zur Abklärung wurden deshalb eine für *in vitro*-Versuche übliche NH_4^+ -Konzentrationen im Puffer ("hoch", 5,0 mmol/l) verwendet bzw. die Zufuhr von Ammonium auf das unbedingt notwendige Maß zur Markierung begrenzt ("niedrig", 0,7 mmol/l). Laut SATTER & SLYTER [172] sind *in vitro* keine Einschränkungen im Fermentationsgeschehen mit einer Ammoniumkonzentration im Puffer ≥ 50 mg/l zu erwarten. Dies ist eher als obere Grenze des Hemmungsbereiches der Mikroben anzusehen. *In vivo*-Untersuchungen ergaben, dass 20 bis 100 mg NH_4^+ /l Pansenflüssigkeit ein maximales Wachstum der Pansenmikroben erlauben [149, 180, 195, 156]. Im Gegensatz dazu wurde die maximale Fermentationsrate erst bei einer Ammoniumkonzentrationen von 88 bis 235 mg/l Pansensaft erreicht [90, 128]. Die kritischen Diskussionen weisen aber bereits darauf hin, dass die Abbaubarkeit der Kohlenhydrate und Proteine im Futter sowie der pH-Wert im Pansen die für einen maximalen Abbau der Rohnährstoffe notwendige Ammoniumkonzentration beeinflussen.

Nach diesen Überlegungen und in der Annahme, dass die NH_4^+ -Konzentration im Fermenter mit der gemessenen im Überlauf übereinstimmt, sind die hier ermittelten Gehalte zwischen 58 und 310 mg/l (Anhang, Tab. 31) nicht als begrenzender Faktor für die mikrobielle Aktivität und den Abbau der Rohnährstoffe anzusehen.

Eine gerichtete Änderung der in dieser Arbeit bestimmten Parameter der Fermentation (Abbau der Rohnährstoffe, Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese) ist bei Erhöhung der Ammoniumkonzentration im Puffer nicht zu erkennen (Abschnitte 4.3 und 4.5). Die Folge ist eine veränderte Reihenfolge der TMR bei Variation der NH_4^+ -Konzentration. Einige Beispiele für die Gruppierung der TMR sind in Tabelle 54 (Anhang) dargestellt. Hier zeigt sich,

dass die TMR N unabhängig von der Ammoniumkonzentration in jedem Fall die höchsten Werte aufweist. Die TMR O steht mit vergleichsweise niedrigen Werten des Abbaus der OS und der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese am Anfang der dargestellten Rangfolge. Verschiebungen der Rangfolge ergeben sich v.a. durch die gravierenden Veränderungen der Effizienzen bei den TMR G, M und P mit der Erhöhung der Ammoniumkonzentration im Puffer. Es muss daher geschlussfolgert werden, dass die Bewertung von Mischrationen im Zusammenhang mit der Ammoniumkonzentration im Puffer resp. Speichel gesehen werden muss, auch wenn bislang keine gerichtete Beeinflussung der Fermentationsparameter erkennbar ist.

Das mit dem stabilen Isotop ^{15}N angereicherte Ammoniumchlorid diene in erster Linie als **Marker** zur Quantifizierung der mikrobiellen Proteinsynthese nach der Bilanzierung des Stickstoffflusses im System. Für diese Art der Markierung sind Stoffe denkbar, die

- gleichmäßig verteilt sind,
- die Mikrogenmasse eindeutig qualifizieren, demnach nicht im Futter vorkommen, und
- einfach zu handhaben und zu messen sind.

Natürliche Marker, wie z.B. 2,6 - Diaminopimelinsäure (DAPA), D - Alanin, Ribonukleinsäure (RNA), Purin- und Pyrimidinbasen sowie das Aminosäurenmuster, wurden schon vielfach genutzt und haben den Vorteil, nicht extern zugeführt werden zu müssen. Nachteilig wirken sich jedoch die variablen Konzentrationen in den einzelnen Mikrogengruppen (DAPA: [158, 41, 6, 160]; Purinbasen: [35]) und das Vorkommen nicht - mikrobieller Purine [196] aus. Die Markierung des Mikrobenproteins mittels Isotopenmethode erfolgt überwiegend über das stabile ^{15}N . ^{35}S [17] und ^{32}P [137] werden vergleichsweise wenig eingesetzt.

Vergleiche unterschiedlicher Markierungen zeigten mehrfach, dass ^{15}N neben D - Alanin [197, 175] und den Gesamt - Purinbasen [22, 30, 34] am besten zur Quantifizierung des Mikrobenproteins geeignet ist.

Wann bei kontinuierlicher Infusion die Plateauanreicherung erreicht ist, wurde bisher nur in Experimenten am Tier untersucht. In Abhängigkeit von der ^{15}N - Anreicherung der Markierungssubstanz und den eingesetzten Futtermitteln werden Zeiträume von 3 bis 4 [124, 164, 171] bzw. 7 bis 8 Tagen [64] genannt. Das Erreichen der *stady state*-Bedingungen⁶ *in vitro* wurde bisher am konstanten Abbau der Trockensubstanz über mehrere Tage hinweg erkannt [44] oder beruht auf der nicht näher erläuterten Festlegung von 3 bzw. 5 Tagen nach Beginn der ^{15}N - Infusion [30, 129]. Es erscheint jedoch angebracht, bei der Nutzung von Markierungssubstanzen die Anreicherung täglich zu messen, um so den Zeitpunkt der Plateauanreicherung sicher abzuleiten zu können (Abschnitt 4.4). Vorliegende Ergebnisse zeigen,

⁶*Stady state* ist hier definiert als Zeitpunkt des Erreichens konstanter Fermentationsabläufe. Es muss also zeitlich nicht mit der ^{15}N - Plateauanreicherung in den Referenzbakterien übereinstimmen. Beide Begriffe werden jedoch genutzt, den Beginn der Probensammlung zu beschreiben.

dass unabhängig von der Energiekonzentration der Ration und deren Zusammensetzung sowie der Ammoniumkonzentration im Puffer die maximale ^{15}N -Anreicherung in den TB erst am 7. Tag erreicht ist. Eine Beprobung vor diesem Zeitpunkt ist zur Ermittlung der mikrobiellen Proteinsynthese mittels Marker abzulehnen.

Für die Berechnung der Proteinsynthese im Pansen wird die ^{15}N -Anreicherung einer repräsentativen Mikrobenfraktion genutzt (Gl. 7). "Repräsentativ" ist eine Fraktion dann, wenn sie alle Mikrobenspezies enthält, die im Pansen bei gleicher Fütterung vorkommen und das natürliche Verhältnis der Arten nicht durch die Methoden der Probengewinnung beeinflusst wird. Innerhalb einer Inkubationszeit von 24 h konnten keine Differenzen zwischen der Mikrobenpopulation im Pansen und im Fermenter festgestellt werden [72]. Bei einer längeren Inkubationsdauer, wie sie üblicherweise vorkommt, ist es fraglich, ob diese Übereinstimmung in jedem Fall gegeben ist.

Die Trennung der Mikrobenfraktionen in LAB und SAB erlaubt es, anhand der einzelnen ^{15}N -Anreicherungen das Potenzial der Proteinsynthese der einzelnen Speziesgruppen aus dem Ammoniumpool zu bestimmen. Da das Verhältnis von LAB zu SAB in der Regel nicht bekannt ist und die Anteile der Protozoen und pilzlichen Einzeller nur schwer erfasst werden können, wird zur Berechnung der Syntheseleistung der gemischten Mikrobenpopulation die Fraktion der Referenzbakterien (TB) herangezogen.

Unterschiedliche ^{15}N -Anreicherungen in den Mikrobenfraktionen zeigen die Präferenzen der Nutzung von Ammonium zur Proteinsynthese an [34]. Einige *in vivo*-Untersuchungen zeigten, dass die ^{15}N -Anreicherung der LAB höher ist als die der SAB [121, 165]. Andere Autoren konnten keine Unterschiede in der ^{15}N -Anreicherung der Mikrobenfraktionen feststellen [64, 153, 196]. *In vitro* wurden für die TB ^{15}N -Anreicherungen gemessen, die zwischen denen der LAB und SAB liegen [34, 33]. Dies spricht für die Verwendung der TB als Referenzmikroben zur Berechnung der mikrobiellen Proteinsynthese. Diese Ergebnisse konnten nicht bestätigt werden. Tabelle 30 (Anhang) zeigt, dass die Konzentration von ^{15}N der LAB in jedem Fall zwischen denen der TB und SAB liegt. Als Begründung dafür wird angenommen, dass durch die hier verwendete Methode der Gewinnung der Bakterienfraktionen im Falle der TB aus dem Überlauf die freien Bakterien in der flüssigen Phase, bei der Trennung der SAB von den Futterresten die partikelgebundenen Mikroben und beim Abtrennen der LAB aus dem Inhalt der Fermenter sowohl freie als auch partikelgebundene Bakterien bevorzugt werden. Schlussfolgernd wären also die LAB die 'eigentlichen Referenzbakterien'.

5.2 Abbau der Rohnährstoffe und Energie

Da die verwendeten TMR unterschiedliche Futtermittel enthielten und die Nährstoffverdaulichkeit große Differenzen aufwies (Abschnitt 4.1), konnte von Unterschieden im Abbau der Rohnährstoffe nach einer Inkubation von 48 h ausgegangen werden.

Der Abbau der OS ist im Vergleich zu anderen Arbeiten relativ niedrig (Abschnitt 4.3)

[2, 117, 129, 202]. Die z.T. hohen pH-Werte in den Versuchen und der vergleichsweise niedrige Pufferfluss pro Tag könnten eher zu einem vermehrten Abbau der Nährstoffe führen (Abschnitt 5.1). *In situ*-Untersuchungen hatten gezeigt, dass mit steigender Porengröße der Nylonbeutel mit einem erhöhten Abbau der Trockensubstanz zu rechnen ist [111]. Die gewählte Porengröße der Futterbeutel von 100 μm wirkt sich nach den Ergebnissen von CARRO et al. [32] positiv auf die Höhe des Abbaus der Trockensubstanz und der NDF im Vergleich zu niedrigeren (40 μm) und höheren (200 μm) Porengrößen aus.

Als Erklärung wurde außerdem in Betracht gezogen, dass eine Übertragbarkeit der *in vitro* ermittelten Daten zwischen kontinuierlichen und semi-kontinuierlichen Systemen nicht möglich ist. Dagegen spricht jedoch, dass frühere Untersuchungen mit der hier verwendeten RUSITEC einen höheren Abbau der OS zeigten [2, 32, 129].

Auch die eingesetzte Futtermenge von 15 g/d entsprach dem Optimum in Bezug auf die *in vitro*-Abbaubarkeit der Trockensubstanz [44].

Der Einsatz von Futtermitteln, deren Abbaubarkeit im Pansen durch chemische oder physikalische Behandlung reduziert ist, war auf wenige Ausnahmen (TMR B, C, D und H) begrenzt. Der Anteil eines "geschützten" Futtermittels lag hier maximal bei 12 % der gesamten Trockensubstanz.

Der tendenziell steigende Abbau der OS bei steigendem Rohproteingehalt wirft die Frage auf, ob ein Mangel an verfügbarem Stickstoff den Abbau der Rohnährstoffe hemmt. In den oben genannten Untersuchungen lagen die Rohproteingehalte der Rationen im Bereich der hier verwendeten TMR. Die Ammoniumkonzentration in der Pufferlösung scheidet als Ursache des geringeren Abbaus der OS ebenfalls aus. Wie gezeigt wurde (Abschnitt 4.3), ist keine gerichtete Erhöhung des Abbaus der Rohnährstoffe mit steigendem Ammoniumgehalt zu erkennen.

Eine Korrektur der abgebauten OS um den Anteil der an dem Futterrest anhaftenden Bakterien führt zu einem objektiveren Bild des tatsächlichen Abbaus. Die Grundlage der Korrektur bildet jedoch die Messung der ^{15}N -Anreicherung in den SAB und die Bestimmung deren OS (Abschnitt 3.8). Dies stand in den Vergleichsuntersuchungen nicht zur Verfügung.

Das "Waschen" der Futterbeutel nach der 48 stündigen Inkubation (Abschnitt 3.5.2) ist eine mögliche Fehlerquelle, die den Vergleich zwischen verschiedenen Versuchen erschwert. Durch ein intensiveres Spülen können vermehrt Futterpartikel ausgewaschen werden. So kann eine Überschätzung des Abbaus der OS induziert werden.

Eine endgültige Klärung der Ursachen des geringen Abbaus der OS in dieser Untersuchung steht noch aus.

Der ermittelte Abbau der Faserfraktionen ist im Vergleich mit anderen Untersuchungen deutlich niedriger [33, 76, 118], obwohl ein erhöhter pH-Wert fördernd auf den Abbau von NDF wirkt [74]. Nach Arbeiten von CARRO & MILLER [33] sinkt der Abbau der Faserfraktionen, wenn statt Aminosäuren, Peptiden oder Protein Ammonium in Form von NH_4Cl mit

der Pufferlösung zugeführt wird. Der Vergleich der TMR bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer (Tab. 8) kann dies nicht bestätigen. Bis auf die TMR K ist ein gleichbleibender bzw. steigender Abbau der XF mit höherer Ammoniumkonzentration zu verzeichnen.

Eine mögliche Ursache des niedrigen Abbaus der Rohfaser und der Detergenzienfasern könnte die Potenzierung möglicher Analysenfehler bei dem Bezug auf 1 kg T bei einer konstanten Futtereinwaage von nur 15 g/d Originalsubstanz sein.

Es sei noch einmal darauf verwiesen, dass die Angaben des Abbaus der Rohnährstoffe ohne Korrektur der am Futterrest anhaftenden Mikroben erfolgte. Die Kalkulation des Abbaus des Rohproteins ist jedoch von diesem Fehlerpotenzial überdurchschnittlich betroffen, da der Rohproteingehalt der Pansenmikroben in einem Bereich von 45 bis 60 % liegt. Folgendes Beispiel soll dies verdeutlichen:

T der SAB (T_{SAB}):	0,7 g/d
T des Futterrestes (T_{FR}):	8,5 g/d
Anteil T_{SAB} an T_{FR} :	8,2 %
Rohprotein im Futter:	2,5 g/d
Rohprotein im Futterrest:	1,5 g/d
abgebautes Rohprotein (Gl. 9):	40 %
Rohproteingehalt in den SAB:	48 %
tatsächlich abgebautes Rohprotein:	53 %

Bei einem Trockensubstanzanteil der SAB am Futterrest von 8 % wird der Abbau des XP um 13 % unterschätzt. Ein steigender Anteil an abgebautem Rohprotein oder höhere Rohproteinkonzentrationen in den SAB verstärken diesen Effekt.

Es ist keine Untersuchung bekannt, in denen der *in vitro*-Abbau der Bruttoenergie zur Beurteilung einer Mischration herangezogen wurde. Dieser Parameter wurde hier genutzt, weil der physikalische Brennwert einer Substanz mit geringem Aufwand bestimmt werden kann. Zudem vereinigt diese berechnete Größe den Abbau der Kohlenhydrate, Fette und Proteine in einem Wert.

Unterschiede des Abbaus der OS, der XF und des XP, die bei dem Vergleich von "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer auftraten (Tab. 8), sind bei Betrachtung des Abbaus der GE nicht zu erkennen. Signifikante Differenzen bestehen nur für die TMR M und O. Wie unter Abschnitt 4.5 dargestellt wurde, bestanden ebenfalls keine Unterschiede hinsichtlich des gebildeten Mikrobenproteins je Einheit abgebauter OS.

Eine Verschiebung der Höhe des Abbaus der einzelnen Rohnährstoffe ist demnach nicht zwingend mit einem Abfall der Energieversorgung der Mikroben und deren Syntheseleistung verbunden.

5.3 Stickstoffbilanz

Schon zu Beginn der 70 er Jahre des letzten Jahrhunderts wurde versucht, die Verteilung und den Fluss des Stickstoffs im Tier zu beschreiben [139]. Die Bestimmung der N-Menge, die dem Tier über den ruminohepatischen Kreislauf zur Verfügung gestellt wird, erfolgte jedoch nur über Differenzrechnung, nicht über direkte Messung [140].

Neuere N-Umsatzmessungen an wachsenden Jungrindern [67, 176, 102] ermöglichten ebenfalls keine auf Messdaten beruhende, vollständige Stickstoffbilanz. Der endogene Anteil des Proteins am Duodenum am Gesamtprotein wurde ausschließlich kalkuliert. SANDEK [171] erfasste diesen Anteil anhand der Markierung mit ^{15}N . Sie kam jedoch nicht umhin, den N-Ansatz des Tieres aus der Differenz von N-Aufnahme und N-Ausscheidung zu schätzen.

Untersuchungen mit der RUSITEC ermöglichen eine Erfassung und Messung aller Stickstoff-haltigen Komponenten und erlauben daher eine Bilanzierung und Abschätzung der Fehlerhöhe. Es sind jedoch keine Veröffentlichungen bekannt, die den Stickstofffluss und die Anteile der einzelnen Kompartimente am Gesamt-N darstellen.

Der N-Eintrag in das Pansensimulations-System (mg/d) setzt sich zusammen aus der Stickstoffkonzentration im Puffer und der Durchflussmenge sowie der Stickstoffkonzentration im Futter und der täglich zugeführten Futtertrockensubstanz. Die Stickstoffkonzentration im Puffer war konstant (9,8 mg N/l bzw. 69,0 mg N/l). Die mittlere Durchflussmenge pro Fermenter ist unter Abschnitt 4.2 zusammengefasst. Die Trockensubstanz der TMR und die Stickstoffkonzentration kann Tabelle 4 entnommen werden.

Zur Ermittlung des N-Austrages aus dem System (mg/d) benötigt man die Stickstoffkonzentrationen in den Futterresten und dem Überlauf, die Überlaufmenge sowie die Menge an inkorporiertem Mikrobenstickstoff. Tabelle 31 (Anhang) fasst die Daten für die einzelnen Fermenter pro Versuch zusammen. Dabei ist zu beachten, dass die Menge an mikrobiell gebundenem Stickstoff direkt von den anderen N-Fractionen abhängt (Gl. 7). Da auch der Futterrest als Stickstoffträger in diese Berechnung eingeht, wurde in diesem Fall keine Korrektur um den Anteil der SAB vorgenommen. D.h. die Stickstoffmenge im Futterrest beinhaltet die N-Menge der SAB. Die Stickstoffmenge der Mikroben umfasst ausschließlich die berechnete N-Menge in den Referenzbakterien.

Für die Versuche 3, 4 und 5 wurden keine Bilanzen erstellt. Die Ammoniumkonzentration im Überlauf war zu niedrig für eine sichere Messung. So konnte die mittlere, tägliche Stickstoffmenge der TB nicht bestimmt werden.

Eine ausgeglichene Bilanz zeichnet sich dadurch aus, dass die Differenz aus Eintrag und Austrag aus dem System gleich 0 ist. Wie Tabelle 55 (Anhang) zeigt, ist der berechnete N-Austrag mit Ausnahme des Versuches 12, TMR G^+ , größer als der N-Eintrag. Die Differenz beträgt bis zu 37 % des in das System hineingegebenen Stickstoffs. Ursachen dieser extrem hohen Abweichungen können sein:

1. Fehler bei der Analyse der Stickstoffkonzentrationen im Futter, im Futterrest, im Überlauf und in den TB
2. Messfehler bei der Bestimmung der ^{15}N - Konzentration im Ammoniumchlorid, im Überlauf und in den TB
3. ungenaue Einwaage des Ammoniumchlorids zur Herstellung der Pufferlösung
4. Wägefehler bei der Bestimmung der Durchflussmenge an Puffer pro Tag
5. Potenzierung durch gleich gerichtete Wirkung der Fehler 1 bis 4

Allein diese Aufzählung potenzieller Ungenauigkeiten macht deutlich, wie schwierig die genaue Kalkulation des Stickstoffumsatzes in einem biologischen Medium ist. Dazu kommt, dass die gebildete Menge an Mikroben - Stickstoff nicht gemessen werden konnte. Es fehlen bisher geeignete Isolationstechniken, die eine vollständige Erfassung der im Überlauf vorhandenen Mikrobenmasse ermöglichen.

5.4 Mikrobielle Proteinsynthese

Es ist allgemein anerkannt, dass die Menge des im Pansen synthetisierten Proteins von der zur Verfügung stehenden Energie abhängt (Übersicht in [37]). Diese Energie entstammt den Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen der eingesetzten Futtermittel. Die Menge und Verfügbarkeit dieser Nährstoffe beeinflussen demnach die mikrobielle Proteinsynthese (Übersicht in [186]).

Für Rinder konnte in Deutschland aus Versuchen mit mehr als 60 Rationen eine mittlere Effizienz der mikrobielle Proteinsynthese von 10,1 g Protein je MJ ME und 156 g Protein je kg verdauliche OS abgeleitet werden [69]. Eine Zusammenfassung von 69 Untersuchungen von STERN & HOOVER [185] ergab eine Variation von 63 bis 307 g Mikrobenprotein je kg verdauliche OS. Als Ursachen dieser Variabilität werden diskutiert [19, 163, 51]:

- das Verhältnis von Grund- zu Konzentratfutter [36]
- die Art und Qualität der Futtermittel [88, 191, 203, 71]
- die Höhe der Trockensubstanzaufnahme [198]
- die Stickstoffversorgung [90, 99, 114, 195]
- die Phosphor- [164, 129] und Schwefelversorgung
- die Fütterungsfrequenz [16, 21]
- die Verfügbarkeit verschiedener N - Quellen [123, 169, 39, 179, 98]

- die Energieversorgung [95, 147, 12] und
- die Synchronisation von Stickstoff- und Energieangebot [97, 79, 138, 5].

Die bestehenden Wechselwirkungen zwischen den aufgeführten Einflussgrößen auf die mikrobielle Proteinsynthese erschweren es, quantitative Aussagen der Auswirkungen für eine Mischration zu treffen. Es ist nicht möglich zu unterscheiden, ob ein beobachteter Effekt direkt auf ein eingesetztes Futtermittel oder auf den Synergismus der Rationskomponenten zurückzuführen ist [51]. Die Nutzung multipler Ableitungen vermittelt einen Hinweis darauf, welche Variablen den potenziell größten Einfluss auf die Effizienz der mikrobiellen Syntheseleistung ausüben könnten.

Betrachtungen zu den in Mischrationen eingesetzten Silagen ergaben, dass für Maissilagen im Vergleich zu Gras- oder Luzernesilagen eine höhere Effizienz erreicht wird [88, 71]. Der positive Effekt von Maissilage zeigte sich auch in den hier dokumentierten Regressionsgleichungen (Tab. 11 und Tab. 32 bis 39, Anhang). Die Regressionskoeffizienten für den Anteil der Grassilage an der gesamten Trockensubstanz wiesen dagegen jeweils negative Vorzeichen auf.

Auf der Basis der Nährstoffkonzentration im Futter wurde eine Beziehung zwischen dem Rohproteingehalt in der TMR und der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese erkannt (Anhang, Abb. 17). Der Korrelationskoeffizient zwischen XP und dem inkorporierten Mikroben-N betrug 0,78. GABEL [67] erkannte bei geringer Varianz im Rohfasergehalt der Ration nur bis zu einer Rohproteinkonzentration von 9 % eine Steigerung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese. Bei wachsenden Rindern konnte bei gleichzeitig sinkender Rohprotein- und Energiekonzentration in der TMR kein Effekt auf die N-Menge mikrobiellen Ursprungs je kg verdauliche OS festgestellt werden [104].

Eine Hypothese zur Erklärung der nachgewiesenen Unterschiede im Fermentationsgeschehen ist eine durch die variable Rationszusammensetzung hervorgerufene Änderung der Zusammensetzung der Mikrobenpopulation und der Mikrobenkonzentration im Pansen. Die Änderung der Spezieszusammensetzung bei Einsatz unterschiedlicher Futtermittel ist schon seit langem bekannt [25, 26] und vielfach beschrieben worden (Übersicht in [48]). Dabei ist es entscheidend, welche Kohlenhydrat- und Proteinfractionen in den Futtermitteln vorkommen, wie deren Löslichkeit und Abbaubarkeit einzuschätzen ist und inwieweit ein gleichzeitiges Angebot von Stickstoff und Energie (Synchronisation) realisiert wird (Übersichten in [87, 23]).

Die grobe Einteilung der Kohlenhydrate erfolgt anhand anerkannter Analysemethoden [54]. In Mittel- und Westeuropa wird von einer Trennung in Rohfaser, Stärke und Zucker ausgegangen. Die Abgrenzung in dem in Nordamerika und Großbritannien genutzten System erfolgt nach Strukturkohlenhydraten (NDF und ADF) und leicht löslichen Fraktionen. Grundlage beider Bewertungssysteme ist die Einschätzung der Abbaukinetik und der Abbaubarkeit der Kohlenhydrate, wie aus dem Modell von SNIFFEN et al. [181] deutlich wird.

Bei der Bewertung der Verfügbarkeit des Futterprotein wird ähnlich vorgegangen. Auch hier sind Abbaugeschwindigkeit und die Menge des abgebauten Futterproteins Kenngrößen für die Beurteilung eines Futterproteins. Die Einteilung in drei [143] bzw. fünf [181] Fraktionen erfolgt nach der Löslichkeit in Detergenzienlösungen. Darauf aufbauend kann der Anteil unabgebauten Futterproteins (UDP) bei unterschiedlichen Passageraten geschätzt werden [177].

Von einer routinemäßigen Anwendung dieser, kurz umrissenen Bewertungssysteme für Kohlenhydrate und Protein kann derzeit jedoch nicht ausgegangen werden.

Ein Optimum der mikrobiellen Proteinsynthese ist erst dann erreicht, wenn sowohl Kohlenhydrate als auch Stickstoff gleichzeitig verfügbar sind. Beispielhaft sollen zu Fragen der Synchronisation nur die Arbeiten von STOKES et al. [187, 188] erwähnt werden, die sowohl *in vivo* als auch mit Hilfe eines kontinuierlichen Pansensimulations-Systems ein Optimum des Verhältnisses von leicht löslichen Kohlenhydraten und abbaubarem Protein anstreben. Anteile von ≥ 24 % der T an löslichen Kohlenhydraten in der Ration wirken sich demnach in Verbindung mit mehr als 9 % der T an abbaubarem Protein positiv auf die mikrobielle Proteinmenge aus.

In verschiedenen *in vivo*-Untersuchungen wird darauf verwiesen, dass die Menge an gebildetem Mikrobenprotein in erster Linie von der Abbaubarkeit des Futterproteins abhängt, sofern die Energieversorgung nicht limitiert ist [77, 187]. Es ist auch klar, dass der überwiegende Teil (42 bis 100 %) des in die Mikroben inkorporierten Stickstoffs aus dem Ammoniumpool stammt [155, 7, 124, 141]. Die direkte Aufnahme von freien Aminosäuren und Peptiden [8] ist eher von untergeordneter Bedeutung für die Proteinsynthese der Pansenmikroben [199]. Dies lässt den Rückschluss zu, dass eine Erhöhung der Ammoniumkonzentration in den Fermentern die Syntheseleistung der Mikroben fördert. In vorliegender Untersuchung kann diese Hypothese nicht bestätigt werden. Die Korrelation zwischen der N-Menge im Überlauf (mg/d) und dem Mikrobenprotein je Einheit abgebaute OS (g/kg) weist unabhängig vom verwendeten Datenpool Korrelationskoeffizienten $\leq 0,30$ auf.

In vitro-Untersuchungen bestätigten die Aussage der Abhängigkeit der mikrobiellen Proteinsynthese von der Verfügbarkeit unterschiedlicher N-Quellen aus dem Futter [86, 188]. Eine Korrelation zwischen dem Abbau des Futterrohproteins und der Effizienz der Proteinsynthese der Mikroben bestand in vorliegender Studie nicht ($r = -0,18$). Als mögliche Ursache wurde der Anteil der SAB in den Futterresten und die damit verbundene Unterschätzung des Abbaus des Rohproteins vermutet. Wie Abbildung 18 (Anhang) jedoch zeigt, besteht auch zwischen der korrigierten, abgebauten Rohproteinmenge und der mikrobiell gebildeten Proteinmenge kein enger Zusammenhang.

Für die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese in g Mikrobenprotein je kg abgebaute OS wird *in vivo* ein Bereich von 87,5 bis 381 angegeben [9]. LÜPPING [113] hat in einer Literaturübersicht die Daten aus Versuchen mit Einzelfuttermitteln und Mischrationen zu-

sammengetragen und konnte einen Bereich von 60 bis 440 g Mikrobenprotein je kg abgebaute OS eingrenzen. Ergebnisse aus *in vitro*-Untersuchungen zeigen eine ähnliche Streubreite im selben Bereich [2, 29, 12, 33, 38].

Wie Abbildung 6 zeigt, besteht auch in dieser Studie ein enger Zusammenhang zwischen dem gebildeten Mikrobenprotein und der Menge an abgebauter OS ($r = 0,75$). Die Steigung der Geraden definiert die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese und liegt hier bei 400 g Mikrobenprotein je kg abgebaute OS. Dies steht nicht im Widerspruch mit dem unter Abschnitt 4.5 genannten Bereich von 141 und 286 g Mikrobenprotein je kg abgebaute OS. Zum Einen wurde für diese Werte der Anteil der SAB am Futterrest korrigiert, und zum Anderen zeigt die dargestellte lineare Funktion ein negatives Intercept.

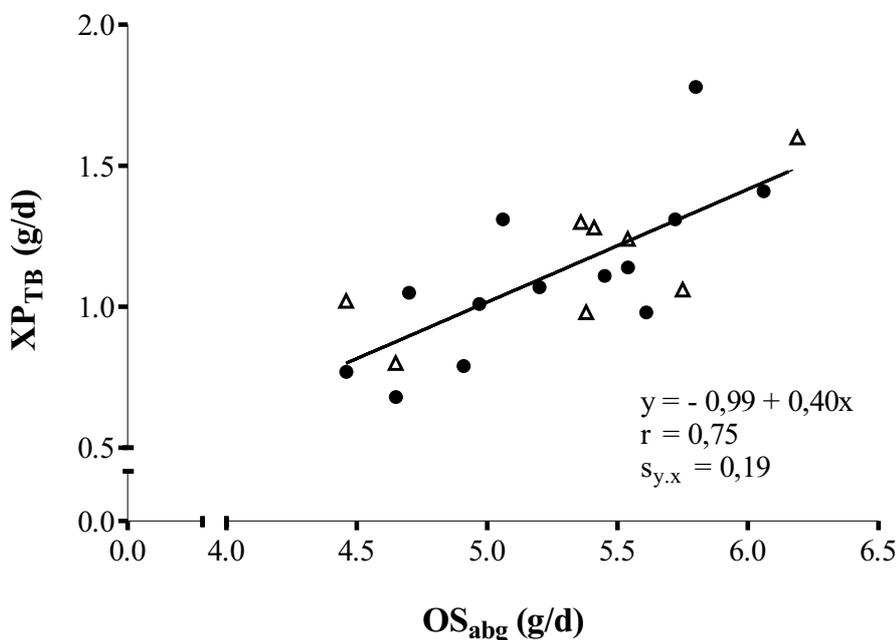


Abbildung 6: Beziehung zwischen abgebauter Organischer Substanz und dem gebildetem Mikrobenprotein pro Tag ('offene' Dreiecke kennzeichnen die Wertepaare der TMR, die bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden)

Modelle zur Schätzung der mikrobiellen Proteinmenge beruhen meistens auf der Ableitung einer Schätzfunktion aus einem gegebenen Datenpool nach dem Modell der kleinsten Abweichungsquadrate [15], das auch hier verwendet wurde. Diese Modelle sind insofern unflexibel, da sie nur einen begrenzten Aussagebereich haben und die Wechselwirkungen zwischen den Mikroorganismen des Pansen sowie deren Interaktionen mit den verwendeten Futtermitteln nicht berücksichtigen können [52]. Komplexere Ansätze nutzen dagegen die Eigenschaften der Futtermittel und die Verfügbarkeit der Nährstoffe für die Mikroorganismen als variable Faktoren [181, 52, 63]. Dies ermöglicht eine höhere Genauigkeit der Schätzungen [13].

Die Schwierigkeiten, anhand der vorliegenden Datenlage eindeutige Einflussfaktoren auf die Syntheseleistung der Mikroben herauszuarbeiten, werden auf die willkürliche Auswahl

der TMR zurückgeführt. Die verwendeten Mischrationen weisen zwar große Unterschiede hinsichtlich ihrer Nährstoffzusammensetzung und ihres Abbauverhaltens auf. Die verwendeten Futtermittel entstammen jedoch unterschiedlichen Chargen, wurden in variablen Anteilen eingesetzt und umfassten eine breite Palette an Silagen und Konzentraten. Dieses unsystematische Vorgehen erlaubt es bei der begrenzten Anzahl der Versuche offensichtlich nicht, die Höhe des Einflusses einzelner Rationskomponenten zu quantifizieren.

5.5 Aminosäurenmuster der Mikrobenfraktionen

Die Kenntnis der Menge des gebildeten Mikrobenproteins pro Einheit abgebaute OS bzw. ME ermöglicht allenfalls die Abschätzung der Proteinmenge, die dem Wiederkäuer zur Absorption zur Verfügung steht. Ohne Berücksichtigung des Aminosäureanteiles am Rohprotein (im Mittel 73 %), der Absorbierbarkeit (~ 85 %) und der intermediären Verwertung der AS (60 bis 82 %) [69] sowie der Zusammensetzung des am Dünndarm anflutenden Proteins ist die Einschätzung der Versorgung des Wiederkäuers mit AS nicht möglich. Daher gibt es Bemühungen, das Aminosäurenmuster des am Dünndarm anflutenden Proteins bei Einsatz unterschiedlicher Futtermittel zu schätzen [67, 146, 167, 143].

Die verschiedenen Mikrobenfraktionen weisen signifikante Unterschiede in der Aminosäurezusammensetzung ihres Proteins auf [158, 134, 189, 120, 105]⁷. Dies wurde in *in vitro*-Versuchen bestätigt [11, 166]. Das Verhältnis der Mikrobenfraktionen zueinander schwankt jedoch und entzog sich bisher einer näherer Charakterisierung der Ursachen und deren quantitativen Auswirkungen [120, 166]. Daher wird ein repräsentatives Mikrobengemisch zur Qualifizierung des Aminosäurenmusters des Proteins genutzt. Bisher wurden keine Differenzierungen zwischen den aus dem Überlauf (TB) oder der Fermenterflüssigkeit (LAB) isolierten Mikroben gemacht. Die vorliegenden Daten lassen keinen eindeutigen Schluss zu, ob diese beiden Mikrobenfraktionen identisch (Abschnitt 4.7.1) und die nachgewiesenen Unterschiede ausschließlich auf die Isolationsverfahren zurückzuführen sind.

Uneinigkeit besteht darüber, inwieweit das gebildete Protein der gesamten Mikrobenpopulation ein konstantes Aminosäurenmuster aufweist (Übersicht in [37]). Gehen ältere Untersuchungen noch davon aus, dass die Aminosäurezusammensetzung des Mikrobenproteins relativ konstant ist [158, 134, 18, 82, 94, 189], so weisen neuere Daten auf Differenzen hin [93, 35, 105].

Der Einsatz verschiedener Futtermittel [105], unterschiedliche Rohfasergehalte der Rationen [166] oder N-Quellen [10] veränderten das Aminosäurenmuster des Proteins der Mikrobenpopulation. BACH & STERN [11] fanden bei Abstufungen des Anteiles unabgebauten Futterproteins und der Methioninkonzentration in Mischungen gleicher Futtermittel keine Unterschiede im Aminosäurenmuster des Proteins der Mikroben. Dem gegenüber steht die

⁷Den Betrachtungen liegen unterschiedliche Techniken der Isolation der Mikrobenfraktionen zugrunde. Ein übergreifender Vergleich der Aminosäurenmuster scheidet daher aus.

Untersuchung von CALSAMIGLIA et al. [29], die bei Einsatz verschiedener Proteinträger deutliche Unterschiede in der synthetisierten Aminosäurenmenge (in g/d) ermittelten. Vorliegende *in vitro*-Untersuchung führte ebenfalls zu dem Schluss, dass die Zusammensetzung der Ration einen Einfluss auf das Aminosäurenmuster des mikrobiellen Proteins ausübt (Abschnitt 4.7.2). Selbst wenn ein Analysenfehler von 10 % unterstellt wird, kann nicht von einer konstanten Aminosäurezusammensetzung des Mikrobenproteins ausgegangen werden.

Die Restriktion der aufgenommenen Futtermenge bei gleicher Rationszusammensetzung führte zu keiner Veränderung des Musters der betrachteten Aminosäuren [174]. Der Einsatz gleicher Futtermittel in unterschiedlichen Rationsanteilen scheint ebenfalls keinen Einfluss auf das Aminosäurenmuster des Proteins der Mikroben auszuüben [36], wie auch die dargestellten Ergebnisse unter Abschnitt 4.7.2 induzieren.

Die Qualifizierung der Ursachen der aufgetretenen Differenzen im Aminosäurenmuster des Mikrobenproteins gestaltet sich schwierig. Es ist unklar, ob die Abweichungen nur auf Analysen- und Methoden-bedingte Fehler zurückzuführen sind [37], oder ob die Einflüsse der Rationszusammensetzung aufgrund kompensatorischer Effekte nicht deutlich zu erkennen sind.

Diese Unklarheiten erschweren natürlich auch die Kalkulation der mikrobiell gebildeten Protein- und Aminosäurenmenge. Ein Beispiel soll dies verdeutlichen:

		Mittelwert	Minimum	Maximum
Lysin in TB	g/16 g TB-N	6,3	5,4	7,1
XP_{TB}^a	g/d	1,1	0,7	1,8
Lysin	mg/d	69	38	128
$\frac{XP_{TB}^b}{OS_{abg}}$	g/kg	197	141	286
$\frac{Lysin^c}{OS_{abg}}$	g/kg	12,4	7,6	20,3

^a Rohprotein der Referenzbakterien

^b Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz

^c Lysin aus dem Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz

Bei einer mittleren Futteraufnahme von 25 kg T pro Tier und Tag, einem unterstellten Gehalt von 90 % OS und einem Abbau der OS im Pansen von 50 % bedeutet dies eine Spannweite der kalkulierten Lysinmenge aus dem Mikrobenprotein von 85,5 bis 228 g/d.

Dies zeigt deutlich, wie wichtig das Erkennen der Ursachen der Differenzen im Aminosäurenmuster des Mikrobenproteins ist. Seien sie nun auf analytische und methodische Fehler oder auf rationsbedingte Einflüsse zurückzuführen.

6 Thesen

1. Mit dem verwendeten Pansen-Simulationssystem ist es möglich, natürliche Fermentationsprozesse über einen längeren Zeitraum darzustellen. Zur vergleichenden Beschreibung von Futtermitteln ist es notwendig, die externen Parameter (pH-Wert, Puffer- und Futtermenge) konstant zu halten.
2. Für die Übertragung der *in vitro*-Ergebnisse auf die Verhältnisse im Tier ist die Optimierung des Pansensimulationssystem hinsichtlich pH-Wert im Fermenter, Passageraten der flüssigen und festen Phase, Durchmischung des Fermenterinhalt und Absorption der Stoffwechselendprodukte erforderlich.
3. Die Bestimmung der Menge des gebildeten Mikrobenproteins erfolgte mittels ^{15}N -Markierung und Bilanzierung der ^{15}N -Anreicherung in den Kompartimenten. Die maximale ^{15}N -Anreicherung in den Referenzbakterien ist erst am 7. Inkubationstag erreicht. Eine vorzeitige Probengewinnung führt zu einer Unterschätzung der mikrobiellen Syntheseleistung.
4. Die ^{15}N -Anreicherung in den Kompartimenten ist abhängig von der ^{15}N -Konzentration im Puffer und unterscheidet sich zwischen den Mikrobenfraktionen. Die ^{15}N -Anreicherung steigt in der Reihenfolge $\text{SAB} < \text{LAB} < \text{TB}$. Dies zeigt die unterschiedlichen Affinitäten der einzelnen Mikrobenfraktionen zur Nutzung des NH_4^+ als Stickstoffquelle an.
5. Die vollständige Bilanzierung des Stickstoffflusses im RUSITEC anhand der Messung der Stickstoffkonzentration in allen Kompartimenten zeigt ein hohes Fehlerpotenzial der verwendeten Methoden an. Untersuchungen, die einzelnen N-haltigen Kompartimente mittels Differenzbildung zu quantifizieren, können diese Fehlerhöhe nicht abschätzen. Die Anwendung sensiblerer Messmethoden könnte zumindest den Analysenfehler minimieren.
6. Die eingesetzten TMR wiesen große Variationen in der Rohnährstoffkonzentration, der Verdaulichkeit der Rohnährstoffe und der Energiekonzentration auf. Die *in vitro*-Inkubation zeigte, dass die verwendeten Mischrationen Unterschiede im Abbau der Rohnährstoffe, dem Muster der gebildeten Fettsäuren, der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese und dem Aminosäuremuster des Mikrobenproteins aufwiesen. Auf dieser Grundlage war es möglich, regressionsanalytische Auswertungen zur Bestimmung möglicher Einflussgrößen auf die Fermentationsparameter durchzuführen.
7. Die Ammoniumkonzentration im Puffer beeinflusst die Höhe des Abbaus der Rohnährstoffe. Damit verbunden sind ungerichtete Änderungen in der Bildung kurzkettiger Fettsäuren, der Menge an gebildetem Mikrobenprotein und des Aminosäuremuster

des Mikrobenproteins. Unterschiede hinsichtlich der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese traten nicht auf. Dies lässt den Schluss zu, dass die Änderung der Höhe des gebildeten Mikrobenprotein im gleichen Maße erfolgt wie die Änderung des Abbaus der OS.

Zum Erhalt der Vergleichbarkeit von Daten ist eine Standardisierung des *in vitro*-Verfahrens anzustreben.

8. Die abgebaute OS nach 48 stündiger Inkubation (in %) kann anhand der Energiekonzentration der Ration (ME in MJ/kg T) und den Gehalten an Rohprotein und Rohfaser (jeweils in g/kg T) hinreichend genau geschätzt werden ($r^2 = 0,79$; $s_{y.x} = 4,9\%$):

$$\begin{aligned} \text{Abbau der OS} &= - 4,0609 \\ &+ 2,0767 \text{ ME} \\ &+ 0,0266 \text{ XF} \\ &+ 0,1002 \text{ XP} \end{aligned}$$

9. Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese schwankt in einem weiten Bereich von 141 bis 286 g Mikrobenprotein je kg abgebaute OS für die untersuchten TMR. Es besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der gebildeten Menge an Mikrobenprotein und der abgebauten OS ($r = 0,75$).
10. Ein erhöhter Einfluss auf die Höhe der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese scheint vom Rohproteingehalt der Ration auszugehen. Multiple Regressionen zur Schätzung der Effizienz unter Verwendung der Weender Rohnährstoffe weisen eine mittlere Genauigkeit auf ($r^2 \leq 0,60$). Die Anteile der eingesetzten Mais- oder Grassilage können zur Erhöhung der Schätzgenauigkeit herangezogen werden.
Die Ergebnisse weisen auf eine multifaktoriell bedingte Veränderung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese bei dem Einsatz unterschiedlicher TMR hin.
11. Das Muster der kurzkettigen Fettsäuren zeigt deutliche Unterschiede zwischen gleichen Mischrationen, die bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden. Dies weist auf einen veränderten mikrobiellen Abbau der Kohlenhydrate hin.
Das Verhältnis der Essig-, Propion- und Buttersäure zueinander wird v.a. vom Rohfasergehalt der TMR beeinflusst. Weitere potenzielle Einflussgrößen sind der Anteil an Maissilage in der Ration und die Höhe des Abbaus der OS.
12. Das Aminosäurenmuster des Proteins der TB und LAB unterscheidet sich deutlich von dem der SAB.
Differenzen im Anteil einzelner Aminosäuren am Protein der TB im Vergleich zu den LAB weisen darauf hin, dass die unterschiedlichen Isolationsmethoden keine einheit-

liche Mikrobenpopulation induzieren. Anhand des Aminosäurenmusters und der ^{15}N -Anreicherung kann nicht eindeutig geklärt werden, welche Mikrobenfraktion repräsentativ für das Pansenmilieu ist. In diesem Zusammenhang wäre es sinnvoll, weiterführende Vergleiche zwischen *in vivo*- und *in vitro*-Studien durchzuführen.

13. Eine Änderung des Aminosäurenmusters des Mikrobenproteins der TB bei der Verschiebung der Anteile einzelner Futtermittel einer TMR ist nicht erkennbar. Differenzen treten v.a. dann auf, wenn die Mischrationen sich nicht in ihrer Energiekonzentration und Nährstoffzusammensetzung, aber in der Zusammensetzung der Futtermittel unterscheiden.
14. Es wird vermutet, dass das Aminosäurenmuster des Mikrobenproteins mehrfaktoriell beeinflusst wird. Als potenzielle Einflussfaktoren der einzelnen Mikrobenfraktionen konnten anhand dieser Datengrundlage herausgearbeitet werden:

Mikrobenfraktion	potenzieller Einflussfaktor
TB	der Anteil Grassilage, der Abbau des Rohproteins
LAB	die Weender Rohnährstoffe
SAB	der Anteil Grundfutter, der Rohfasergehalt

15. Zur Identifizierung von Einflussgrößen auf die Synthese und das Aminosäurenmuster des mikrobiellen Proteins und zur Quantifizierung der Höhe der Veränderungen sind zukünftig systematische Untersuchungen mit variablen Rationszusammensetzungen notwendig.

Die Qualifizierung der Verschiebung der Anteile der Spezies einer Mikrobenpopulation bei unterschiedlichen Fütterungsstrategien könnte mittels genetischer Marker erfolgen.

Literatur

- [1] AAFJES, J.H. und J.K. NIJHOF: *A simple artificial rumen giving good production of volatile fatty acids*. British Veterinary Journal, 123:436–445, 1967.
- [2] ABEL, H., G. COENEN und I. IMMIG: *Investigations on the effects of fat and starch supplementations on microbial metabolism in a rumen simulation system RUSITEC*. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 64:62–73, 1990.
- [3] ABE, M. und F. KUMENO: *In vitro simulation of rumen fermentation: Apparatus and effects of dilution rate and continuous dialysis on fermentation and protozoal population*. Journal of Animal Science, 36:941–948, 1973.
- [4] AFBN: *Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Roh Nährstoffen an Wiederkäuern*. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 65:229–234, 1991.
- [5] ALDRICH, J.M., L.D. MULLER und G. A. VARGA: *Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows*. Journal of Dairy Science, 76:1091–1105, 1993.
- [6] ALLAM, S. M., K. ROHR, M. BRANDT und P. LEBZIEN: *Beiträge zur Quantifizierung der N-Umsetzungen in den Vormägen von Milchkühen. 3. Mitteilung: 2,6-Diaminopimelinsäure im Vergleich zu 15N als Bezugssubstanz für die Bestimmung des Mikrobenstickstoffs im Duodenalchymus von Milchkühen*. Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde, 48:58–64, 1982.
- [7] AL-RABBAT, M.F., R.L. BALDWIN und W.C. WEIR: *Microbial growth dependence on ammonia nitrogen in the bovine rumen: A quantitative study*. Journal of Dairy Science, 54:1162–1172, 1971.
- [8] ARGYLE, J.L. und R.L. BALDWIN: *Effects of amino acids and peptides on rumen microbial growth yields*. Journal of Dairy Science, 72:2017–2027, 1989.
- [9] ARMSTRONG, D.G.: *Net efficiencies (in vivo) of microbial N synthesis in ruminant livestock*. In: *3th EAAP-Symposium on Protein Metabolism and Nutrition, Braunschweig*, Seiten 400–413, 1980.
- [10] ATASOGLU, C., C. VALDÈZ, C.J. NEWBOLD und R.J. WALLACE: *Influence of peptides and amino acids on fermentation rate and de novo synthesis of amino acids by mixed micro-organisms from the sheep rumen*. British Journal of Nutrition, 81:307–314, 1999.
- [11] BACH, A. und M.D. STERN: *Effects of different levels of methionine and ruminally undegradable protein on the amino acid profile of effluent from continuous culture fermenters*. Journal of Animal Science, 77:3377–3384, 1999.

- [12] BACH, A., I.K. YOON, M.D. STERN, H.G. JUNG und H. CHESTER-JONES: *Effects of type of carbohydrate supplementation to lush pasture on microbial fermentation in continuous culture*. Journal of Dairy Science, 82:153–160, 1999.
- [13] BATEMAN, H. G., J. H. CLARK, R. A. PATTON, C. J. PEEL und C. G. SCHWAB: *Accuracy and precision of computer models to predict passage of crude protein and amino acids to the duodenum of lactating cows*. Journal of Dairy Science, 84:649–664, 2001.
- [14] BEAUCHEMIN, K.A., W.Z. YANG und L.M. RODE: *Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity, ruminal fermentation, and milk production*. Journal of Dairy Science, 86:630–643, 2003.
- [15] BEEVER, D.E. und B.R. COTTRILL: *Protein systems for feeding ruminant livestock: A European assessment*. Journal of Dairy Science, 77:2031–2043, 1994.
- [16] BEEVER, D.E., D.G. HARRISON und D.J. THOMSON: *Determination of the quantities of food and microbial nitrogen in duodenal digesta*. Proceedings of Nutrition Society, 31:61A, 1972.
- [17] BEEVER, D.E., D.G. HARRISON, D.J. THOMSON, S.B. CAMMELL und D.F. OSBOURN: *A method for the estimation of dietary and microbial protein in duodenal digesta of ruminants*. British Journal of Nutrition, 32:99–112, 1974.
- [18] BERGEN, W.G., D.B. PURSER und J.H. CLINE: *Effect of ration on the nutritive quality of rumen microbial protein*. Journal of Animal Science, 27:1497–1501, 1968.
- [19] BERGEN, W.G. und M.T. YOKOYAMA: *Productive limits to rumen fermentation*. Journal of Animal Science, 46:573–584, 1977.
- [20] BOGUHN, J., H. KLUTH, O. STEINHÖFEL, M. PETERHÄNSEL und M. RODEHUTSCORD: *Nutrient digestibility and prediction of metabolizable energy in total mixed rations for ruminants*. Archives of Animal Nutrition, 57:253–266, 2003.
- [21] BRANDT, M. und K. ROHR: *Beiträge zur Quantifizierung der N-Umsetzungen in den Vormägen von Milchkühen*. Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde, 46:39–48, 1981.
- [22] BRODERICK, G.A. und N.R. MERCHEN: *Markers for quantifying microbial protein-synthesis in the rumen*. Journal of Dairy Science, 75:2618–2632, 1992.
- [23] BROUDISCOU, L. und J.P. JOUANY: *Reassessing the manipulation of protein synthesis by rumen microbes*. Reproduction Nutrition Development, 35:517–535, 1995.

- [24] BROUDISCOU, L.P., Y. PAPON und A.F. BROUDISCOU: *Optimal mineral composition of artificial saliva for fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microorganisms*. Animal Feed Science and Technology, 79:43–55, 1999.
- [25] BRYANT, M.P. und L.A. BURKEY: *Numbers and some predominant groups of bacteria in the rumen of cows fed different rations*. Journal of Dairy Science, 36:218–224, 1953.
- [26] BRYANT, M.P. und I.M. ROBINSON: *Effects of diet, time after feeding, and position sampled on numbers of viable bacteria in the bovine rumen*. Journal of Dairy Science, 51:1950–1955, 1968.
- [27] BULANG, M, J. BOGUHN, TH. ENGELHARD, H. KLUTH und M. RODEHUTSCORD: *Studies with alfalfa silage as a forage source for high yielding dairy cows*. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology, 13:96, 2004.
- [28] CALSAMIGLIA, S., A. FERRET und M. DEVANT: *Effects of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system*. Journal of Dairy Science, 85:574–579, 2002.
- [29] CALSAMIGLIA, S., M.D. STERN und J.L. FIRKINS: *Effects of protein source on nitrogen metabolism in continuous culture and intestinal digestion in vitro*. Journal of Animal Science, 73:1819–1827, 1995.
- [30] CALSAMIGLIA, S., M.D. STERN und J.L. FIRKINS: *Comparison of nitrogen-15 and purines as microbial markers in continuous culture*. Journal of Animal Science, 74:1375–1381, 1996.
- [31] CARRO, M. D., P. LEBZIEN und K. ROHR: *Influence of yeast culture on the in vitro fermentation (Rusitec) of diets containing variable portions of concentrates*. Animal Feed Science and Technology, 37:209–220, 1992.
- [32] CARRO, M. D., P. LEBZIEN und K. ROHR: *Effects of pore size of nylon bags and dilution rate on fermentation parameters in a semi-continuous artificial rumen*. Small Ruminant Research, 15:113–119, 1995.
- [33] CARRO, M.D. und E.L. MILLER: *Effect of supplementing a fibre basal diet with different nitrogen forms on ruminal fermentation and microbial growth in an in vitro semi-continuous culture system (RUSITEC)*. British Journal of Nutrition, 82:149–157, 1999.
- [34] CARRO, M.D. und E.L. MILLER: *Comparison of microbial markers (^{15}N and purine bases) and bacterial isolates for the estimation of rumen microbial protein synthesis*. Animal Science, 75:315–321, 2002.

- [35] CECAVA, M.J., N.R. MERCHEN, L.C. GAY und L.L. BERGER: *Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques*. Journal of Dairy Science, 73:2480–2488, 1990.
- [36] CHAMBERLAIN, D.G. und P.C. THOMAS: *Ruminal nitrogen metabolism and the passage of amino acids to the duodenum in sheep receiving diets containing hay and concentrates in various proportions*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 30:677–686, 1979.
- [37] CLARK, J.H., T.H. KLUSMEYER und M.R. CAMERON: *Symposium: Nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle: Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows*. Journal of Dairy Science, 75:2304–2323, 1992.
- [38] COLOMBATTO, D., G. HERVÀS, W.Z. YANG und K.A. BEAUCHEMIN: *Effects of enzyme supplementation of a total mixed ration on microbial fermentation in continuous culture, maintained at high and low pH*. Journal of Animal Science, 81:2617–2627, 2003.
- [39] COTTA, M.A. und J.B. RUSSELL: *Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture*. Journal of Dairy Science, 65:226–234, 1982.
- [40] CRAWFORD, R.J., W.H. HOOVER und P.H. KNOWLTON: *Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. I. Dry matter and fibre digestion, VFA production and protozoa numbers*. Journal of Animal Science, 51:975–985, 1980.
- [41] CZERKAWSKI, J.W.: *Methodes for determining 2-6-diaminopimelic acid and 2-aminoethylphosphonic acid in gut contents*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 25:45–55, 1974.
- [42] CZERKAWSKI, J.W.: *The rumen as an ecological system*. In: *An Introduction To Rumen Studies*, Seiten 107–123. Pergamon Press, Oxford, 1. Auflage, 1986.
- [43] CZERKAWSKI, J.W. und G. BRECKENRIDGE: *New inhibitors of methane production by rumen micro-organisms. Experiments with animals and other practical possibilities*. British Journal of Nutrition, 34:447–457, 1975.
- [44] CZERKAWSKI, J.W. und G. BRECKENRIDGE: *Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec)*. British Journal of Nutrition, 38:371–384, 1977.
- [45] CZERKAWSKI, J.W. und G. BRECKENRIDGE: *Effect of dilution rate on distribution and composition of bacterial matter in rusitec, using soluble food in presence of undigested hay residues*. Proceedings of Nutrition Society, 38:120A, 1979.

- [46] CZERKAWSKI, J.W. und G. BRECKENRIDGE: *Experiments with the long-term rumen simulation technique (Rusitec); use of soluble food and inert solid matrix*. British Journal of Nutrition, 42:229–245, 1979.
- [47] DE BOEVER, J.L., B.G. COTTYN, F.X. BUYSSE, F.W. WAINMAN und J.M. VANACKER: *The use of an enzymatic technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of compound feedstuffs for ruminants*. Animal Feed Science and Technology, 14:203–214, 1986.
- [48] DEHORITY, B.A.: *Rumen microbiology*. University Press, Nottingham, 1. Auflage, 2003.
- [49] DEHORITY, B.A. und C.G. ORPIN: *Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations*. In: HOBSON, P.N. und C.S. STEWART (Herausgeber): *The Rumen Microbial Ecosystem*, Seiten 196–245. Blackie Academic Professional, London, 2. Auflage, 1997.
- [50] DEHORITY, B. A. und P. A. TIRABASSO: *Effect of feeding frequency on bacterial and fungal concentrations, pH, and other parameters in the rumen*. Journal of Animal Science, 79:2908–2912, 2001.
- [51] DEWHURST, R.J., D.R. DAVIES und R.J. MERRY: *Microbial protein supply from the rumen*. Animal Feed Science and Technology, 85:1–21, 2000.
- [52] DIJKSTRA, J., J. FRANCE und D.R. DAVIES: *Different mathematical approaches to estimating microbial protein supply in ruminants*. Journal of Dairy Science, 81:3370–3384, 1997.
- [53] DIN: *Guide to the expression of uncertainty in measurement*. DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin Wien Zrich, 1. Auflage, 1995.
- [54] DLG: *Struktur- und Kohlenhydratversorgung der Milchkuh*. DLG - Information, 2001.
- [55] DOHME, F., A. MACHMULLER, A. WASSERFALLEN und M. KREUZER: *Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets*. Letters in Applied Microbiology, 32:47–51, 2001.
- [56] DOREAU, M. und J. P. JOUANY: *Effect of a Saccharomyces cerevisiae culture on nutrient digestion in lactating dairy cows*. Journal of Dairy Science, 81:3214–3221, 1998.
- [57] DOREAU, M., F. LEGAY und D. BAUCHART: *Effect of source and level of supplemental fat on total and ruminal organic matter and nitrogen digestion in dairy cows*. Journal of Dairy Science, 74:2233–2242, 1991.

- [58] DUFNER, J., U. JENSEN und E. SCHUMACHER: *Statistik mit SAS*. Teubner Verlag, Stuttgart, Leipzig, Wiesbaden, 2. Auflage, 2002.
- [59] EHLE, F.R.: *Influence of feed particle density on particulate passage from rumen of Holstein cow*. Journal of Dairy Science, 67:693–697, 1984.
- [60] EHLE, F.R. und M.D. STERN: *Influence of particle size and density through alimentary tract of Holstein heifers*. Journal of Dairy Science, 69:564–568, 1986.
- [61] ENGELHARDT, W. v. und G. BREVES: *Physiologie der Haustiere*. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 1. Auflage, 2000.
- [62] ES, A.J.H. VAN: *Feed evaluation for ruminants. I. The systems in use from May 1977 onwards in the Netherlands*. Livestock Production Science, 5:331–345, 1978.
- [63] FIRKINS, J.L., M.S. ALLEN, B.S. OLDICK und N.R. ST-PIERRE: *Modeling ruminal digestibility of carbohydrates and microbial protein flow to the duodenum*. Journal of Dairy Science, 81:3350–3369, 1998.
- [64] FIRKINS, J. L., L.L. BERGER, N.R. MERCHEN, G.C. FAHEY und R.L. MULVANEY: *Ruminal nitrogen metabolism in steers as affected by feed intake and dietary urea concentration*. Journal of Dairy Science, 70(3):2302–2311, 1987.
- [65] FLACHOWSKY, G., P. LEBZIEN und E. STROBEL: *„Biotechnikum“ Pansen - Potenziale und Grenzen*. Züchtungskunde, 75:46–65, 2003.
- [66] FUCHIGAMI, M., T. SENSU und M. HORIGUCHI: *A simple continuous culture system for rumen microbial digestion study and effects of defaunation and dilution rates*. Journal of Dairy Science, 72:3070–3978, 1989.
- [67] GABEL, M.: *Untersuchungen zum Protein- und Aminosäureumsatz im Verdauungstrakt bei wachsenden männlichen Jungrindern - ein Beitrag für eine effektive Proteinversorgung in der Jungrindermast*. Dissertation B, Wilhelm-Pieck-Universität Rostock, 1983.
- [68] GFE: *Mitteilungen des Ausschusses für Bedarfsnormen: Zur Energiebewertung beim Wiederkäuer*. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology, 4:121–123, 1995.
- [69] GFE: *Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder*. DLG Verlags GmbH, Frankfurt/Main, 2001.
- [70] GIESECKE, D. und H.K. HENDRICKX: *Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung*. BLV Verlagsgesellschaft, München, Bern, Wien, 1973.
- [71] GIVENS, D.I. und H. RULQUIN: *Utilisation by ruminants of nitrogen compounds in silage-based diets*. Animal Feed Science and Technology, 114:1–18, 2004.

- [72] GIZZI, G., R. ZANCHI und F. SCIARAFFA: *Variation in number and proportion of rumen microbes examined both in vivo and in vitro using a simulation system*. Proceedings of British Society of Animal Science, 56, 1998.
- [73] GIZZI, G., R. ZANCHI und F. SCIARAFFIA: *Comparison of microbiological and fermentation parameters obtained with an improved rumen in vitro technique with those obtained in vivo*. Animal Feed Science and Technology, 73:291–305, 1998.
- [74] GRANT, R.J. und S.J. WEIDNER: *Digestion kinetics of fibre: Influence of in vitro buffer pH varied within observed physiological range*. Journal of Dairy Science, 75:1060–1068, 1992.
- [75] GREENWOOD, R.H. und E.C. TITGEMEYER: *Limiting amino acids for growing Holstein steers limit-fed soybean hull-based diets*. Journal of Animal Science, 78:1997–2004, 2000.
- [76] GRISWOLD, K.E., G.A. APGAR, J. BOUTON und J.L. FIRKINS: *Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture*. Journal of Animal Science, 81:329–336, 2003.
- [77] GRISWOLD, K.E., W.H. HOOVER, T.K. MILLER und W.V. THAYNE: *Effect of form of nitrogen on growth of ruminal microbes in continuous culture*. Journal of Animal Science, 74:483–491, 1996.
- [78] HANNAH, S.M., M.D. STERN und F.R. EHLE: *Evaluation of a dual flow continuous culture system for estimating bacterial fermentation in vivo of mixed diets containing various soya bean products*. Animal Feed Science and Technology, 16:51–62, 1986.
- [79] HERRERA-SALDANA, R., R. GOMEZ-ALARCON, M. TORABI und J.T. HUBER: *Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis*. Journal of Dairy Science, 73:142–148, 1990.
- [80] HOBSON, P. N. und C.S. STEWART: *The Rumen Microbial Ecosystem*. Blackie Academic Professional, London, 2. Auflage, 1997.
- [81] HÖLING, A.: *Auswirkungen von verschimmeltem Futter, chronischer Pansenazidose sowie Schwefel-Zulagen auf die Protozoenpopulation im Pansen (in vitro)*. Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover, 2000.
- [82] HOOGENRAAD, N.J. und F.J.R. HIRD: *The chemical composition of rumen bacteria and cell walls from rumen bacteria*. British Journal of Nutrition, 24:119, 1970.
- [83] HOOVER, W.H., B.A. CROOKER und C.J. SNIFFEN: *Effect of differential solid-liquid removal rates on protozoa numbers in continuous cultures of rumen content*. Journal of Animal Science, 39:528–534, 1976.

- [84] HOOVER, W.H., C.R. KINCAID, G. A. VARGA, W.V. THAYNE und L.L. JUNKINS: *Effect of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. IV. pH and dilution rate.* Journal of Animal Science, 58:692–699, 1984.
- [85] HOOVER, W.H., P.H. KNOWLTON, M.D. STERN und C.J. SNIFFEN: *Effect of differential solid-liquid removal rates on fermentation parameters in continuous cultures of rumen content.* Journal of Animal Science, 43:535–542, 1976.
- [86] HOOVER, W.H., T.K. MILLER, S.R. STOKES und W.V. THAYNE: *Effects of fish meals on rumen bacterial fermentation in continuous culture.* Journal of Dairy Science, 72:2991–2998, 1989.
- [87] HOOVER, W.H. und S.R. STOKES: *Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield.* Journal of Dairy Science, 74:3630–3644, 1991.
- [88] HRISTOV, A.N. und G.A. BRODERICK: *Synthesis of microbial protein in ruminally cannulated cows fed alfalfa silage, alfalfa hay, or corn silage.* Journal of Dairy Science, 79:1627–1637, 1996.
- [89] HUME, I.D. und P.R. BIRD: *Synthesis of microbial protein in the rumen: IV. The influence of the level and form of dietary sulphur.* Australian Journal for Agriculture Research, 21:315–322, 1970.
- [90] HUME, I.D., R.J. MOIR und M. SOMERS: *Synthesis of microbial protein in the rumen I. Influence of the level of nitrogen intake.* Australian Journal for Agriculture Research, 21:283–296, 1970.
- [91] HUSSEIN, H.S., N.R. MERCHEN und G.C.JR. FAHEY: *Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary forage level and fat supplementation.* Journal of Animal Science, 73:2469–2473, 1995.
- [92] HUTTON, K., F.J. BAILEY und E.F. ANNISON: *Measurement of the bacterial nitrogen entering the duodenum of the ruminant using diaminopimelic acid as marker.* British Journal of Nutrition, 25:165–173, 1971.
- [93] HVELPLUND, T.: *The influence of diet on nitrogen and amino acid content of mixed rumen bacteria.* Acta Agriculturae Scandinavica, 36:325–331, 1986.
- [94] IBRAHIM, E.A. und J.R. INGALLS: *Microbial protein biosynthesis in the rumen.* Journal of Dairy Science, 55:971–978, 1971.
- [95] ISACSSON, H.R., F.C. HINDS, M.P. BRYANT und F.N. OWENS: *Efficiency of energy utilization of mixed rumen bacteria in continuous culture.* Journal of Dairy Science, 58:1645–1659, 1975.

- [96] JENKINS, T.C. und N. FOTOUHI: *Effects of lecithin and corn oil on site of digestion, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in sheep*. Journal of Animal Science, 68:460–466, 1990.
- [97] JOHNSON, R.R.: *Influence of carbohydrate solubility on non-protein nitrogen utilization in the ruminant*. Journal of Animal Science, 43:184–191, 1976.
- [98] KAJIKAWA, H., M. MITSUMORI und S. OHMOMO: *Stimulatory and inhibitory effects of protein amino acids on growth rate and efficiency of mixed ruminal bacteria*. Journal of Dairy Science, 85:2015–2022, 2002.
- [99] KANG-MEZNARICH, J.H. und G.A. BRODERICK: *Effects of incremental urea supplementation on ruminal ammonia concentration and bacterial protein formation*. Journal of Animal Science, 51:422–431, 1981.
- [100] KIM, C.H., J.J. CHOUNG und D.G. CHAMBERLAIN: *Determination of the first-limiting amino acid for milk production in dairy cows consuming a diet of grass silage and a cereal-based supplement containing feather meal*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 79:1703–1708, 1999.
- [101] KLUSMEYER, T.H., G.L. LYNCH und J. H. CLARK: *Effects of calcium salts of fatty acids and protein source on ruminal fermentation and nutrient flow to duodenum of cows*. Journal of Dairy Science, 74:2206–2219, 1991.
- [102] KLUTH, H.: *Beziehung zwischen N-Exkretion, der N- und Energieaufnahme, dem Fluß von Aminosäuren ins Duodenum und der N-Bilanz am Pansen bei wachsenden Jungbullen*. Dissertation, Universität Rostock, 1998.
- [103] KLUTH, H., T. ENGELHARD und M. RODEHUTSCORD: *Zum Ersatz von Sojaextraktionsschrot durch Rapsextraktionsschrot in der Fütterung der Hochleistungskuh*. UFOP-Schriften, Öl- und Faserpflanzen, 20:173–177, 2002.
- [104] KLUTH, H., M. GABEL, J. VOIGT und U. SCHÖNHUSEN: *The use of endogenous nitrogen for microbial crude protein synthesis in the rumen of growing bulls*. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 84:136–147, 2000.
- [105] KORHONEN, M., S. AHVENJÄRVI, A. VANHATALO und P. HUHTANEN: *Supplementing barley or rapeseed meal to dairy cows fed grass-red clover silage: II. Amino acid profile of microbial fractions*. Journal of Animal Science, 80:2188–2196, 2002.
- [106] KRAUSE, K.M., D.K. COMBS und K.A. BEAUCHEMIN: *Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. I. Milk production and diet digestibility*. Journal of Dairy Science, 85:1936–1946, 2002.

- [107] KRAUSE, K.M., D.K. COMBS und K.A. BEAUCHEMIN: *Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminal pH and chewing activity*. Journal of Dairy Science, 85:1947–1957, 2002.
- [108] KURIHARA, M., M. SHIBATA, T. NISHIDA, A. PURNOMOADI und F. TERADA: *Methane production and its dietary manipulation in ruminants*. In: ONODERA, R., H. ITABASHI, K. USHIDA, H. YANO und Y. SASAKI (Herausgeber): *Rumen microbes and digestive physiology in ruminants*, Seiten 199–208. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1997.
- [109] LENGERKEN, V. J. und K. ZIMMERMANN: *Handbuch Futtermittelprüfung*. Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin, 1991.
- [110] LENG, R.A. und J.V. NOLAN: *Nitrogen metabolism in the rumen*. Journal of Dairy Science, 67:1072–1089, 1984.
- [111] LINDBERG, J.E. und T. VARVIKKO: *The effect of bag pore size on the ruminal degradation of dry matter, nitrogenous compounds and cell walls in nylon bags*. Swedish Journal of Agriculture Research, 12:163–171, 1982.
- [112] LING, J.R. und P.J. BUTTERY: *The simultaneous use of ribonucleic acid, 35S, 2,6-diaminopimelic acid and 2-aminoethylphosphonic acid as marker of microbial nitrogen entering the duodenum of sheep*. British Journal of Nutrition, 39:165–179, 1978.
- [113] LÜPPING, W.: *Der Einfluss der Zusammensetzung der Ration auf die bakterielle Proteinsynthese in den Vormägen von Milchkühen*. Dissertation, Christian-Albrechts-Universität Kiel, 1979.
- [114] MADSEN, J. und T. HVELPLUND: *The influence of different protein supply and feeding level on pH, ammonia concentration and microbial protein synthesis in the rumen of cows*. Acta Agriculturae Scandinavica, 38:115–125, 1988.
- [115] MAEKAWA, M., K.A. BEAUCHEMIN und D.A. CHRISTENSEN: *Chewing activity, saliva production, and ruminal pH of primiparous and multiparous lactating dairy cows*. Journal of Dairy Science, 85:1176–1182, 2002.
- [116] MAEKAWA, M., K. A. BEAUCHEMIN und D.A. CHRISTENSEN: *Effect of concentrate level and feeding management on chewing activities, saliva production, and ruminal pH of lactating dairy cows*. Journal of Dairy Science, 85:1165–1175, 2002.
- [117] MANSFIELD, H.R., M.I. ENDRES und M.D. STERN: *Influence of non-fibrous carbohydrate and degradable intake protein on fermentation by ruminal microorganisms in continuous culture*. Journal of Animal Science, 72:2464–2474, 1994.

- [118] MANSFIELD, H.R., M.I. ENDRES und M.D. STERN: *Comparison of microbial fermentation in the rumen of dairy cows and dual flow continuous culture*. Animal Feed Science and Technology, 55:47–66, 1995.
- [119] MARSTON, H.R.: *The fermentation of cellulose in vitro by organisms from the rumen of sheep*. The Biochemical Journal, 42:564–574, 1948.
- [120] MARTIN, C., L. BERNARD und B. MICHALET-DOREAU: *Influence of sampling time and diet on amino acid composition of protozoal and bacterial fractions from bovine ruminal contents*. Journal of Animal Science, 74:1157–1163, 1996.
- [121] MARTIN, C., A.G. WILLIAMS und B. MICHALET-DOREAU: *Isolation and characteristics of the protozoal and bacterial fractions from bovine ruminal contents*. Journal of Animal Science, 72:2962–2968, 1994.
- [122] MASON, V.C., M. RUDEMO und S. BECH-ANDERSEN: *Hydrolysate preparation for amino acid determinations in feed constituents 6. The influence of phenol and formic acid on the recovery of amino acids from oxidized feed protein*. Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde, 43:35–48, 1980.
- [123] MATHERS, J.C. und E.L. MILLER: *Quantitative studies of food protein degradation and energetic efficiency of microbial protein synthesis in the rumen of sheep given chopped lucerne and rolled barley*. British Journal of Nutrition, 45:587–604, 1981.
- [124] MATHISON, G.W. und L.P. MILLIGAN: *Nitrogen metabolism in sheep*. British Journal of Nutrition, 25:351–366, 1971.
- [125] MCALLAN, A.B. und R.H. SMITH: *Nucleic acids in ruminant digesta as indices of microbial nitrogen*. Proceedings of Nutrition Society, 31:24A, 1972.
- [126] MCALLAN, A.B. und R.H. SMITH: *The efficiency of microbial protein synthesis in the rumen and the degradability of feed nitrogen between the mouth and abomasum in steers given different diets*. British Journal of Nutrition, 51:77–83, 1984.
- [127] MCDOUGALL, E.I.: *Studies on ruminant saliva, 1. The composition and output of sheep's saliva*. The Biochemical Journal, 43:99–109, 1948.
- [128] MEHREZ, A.Z., E.R. ØRSKOV und I. MCDONALD: *Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration*. British Journal of Nutrition, 38:437–443, 1977.
- [129] MEKURIA, BELETE: *In-vitro-Untersuchungen zum Einfluß der P- und N-Versorgung auf mikrobielle Stoffwechselleistungen im Pansen*. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen, 1997.

- [130] MENG, Q., M. S. KERLEY, P. A. LUDDEN und R.L. BELYEA: *Fermentation substrate and dilution rate interact to affect microbial growth and efficiency*. Journal of Animal Science, 77:206–214, 1999.
- [131] MENKE, K., L. RAAB, A. SALEWSKI, H. STEINGASS, D. FRITZ und W. SCHNEIDER: *The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro*. The Journal of Agricultural Science, Cambridge, 93:217–222, 1979.
- [132] MENKE, K.H. und H. STEINGASS: *Schätzung des energetischen Futterwertes aus der in vitro mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse. II. Regressionsgleichungen*. Übersichten Tierernährung, 15:59–94, 1987.
- [133] MERRY, R.J., R.H. SMITH und A.B. MCALLAN: *Studies of rumen function in an in vitro continous culture system*. Archiv für Tierernährung, 37:475–488, 1987.
- [134] MEYER, R.M., E.E. BARTLEY, C.W. DEYOE und V.F. COLENBRANDER: *Feed processing: 1. Ration effects on rumen microbial protein synthesis and amino acid composition*. Journal of Dairy Science, 50:1327–1332, 1967.
- [135] MINATO, H. und T. SUTO: *Technique for fractionation of bacteria in rumen microbial ecosystem. II. Attachment of bacteria isolated from bovine rumen to cellulose powder in vitro and elution of bacteria attached therefrom*. The Journal of General and Applied Microbiology, 24:1–16, 1978.
- [136] NAUMANN, C. und R. BASSLER: *VDLUFA-Methodenbuch, Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, mit Ergänzungen von 1983, 1988, 1993 und 1997*. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, 1976.
- [137] NEVEL, C.J. VAN und D.I. DEMEYER: *Determination of rumen microbial growth in vitro from ^{32}P -labelled phosphate incorporation*. British Journal of Nutrition, 38:101–114, 1977.
- [138] NEWBOLD, C. J. und S.R. RUST: *Effect of asynchronous nitrogen and energy supply on growth of ruminal bacteria in batch culture*. Journal of Animal Science, 70:538–546, 1992.
- [139] NOLAN, J.V. und R.A. LENG: *Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep*. British Journal of Nutrition, 27:177–194, 1972.
- [140] NOLAN, J.V. und R.A. LENG: *Isotope techniques for studying the dynamics of nitrogen metabolism in ruminants*. Proceedings of Nutrition Society, 33:1–8, 1974.
- [141] NOLAN, J.V., B.W. NORTON und R.A. LENG: *Further studies of the dynamics of nitrogen metabolism in sheep*. British Journal of Nutrition, 35:127–147, 1976.

- [142] NORGAARD, P.: *The influence of physical form of ration on chewing activity and rumen motility in lactating cows*. Acta Agriculturae Scandinavica, 39:187–202, 1989.
- [143] NRC: *Protein and Amino Acids*. In: NRC (Herausgeber): *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, Seiten 43–104. National Academic Press, Washington D.C., 7. Auflage, 2001.
- [144] NUGENT, H.A. und J.L. MANGAN: *Characteristics of the rumen proteolysis of fraction I (18S) leaf protein from lucerne (Medicago sativa L)*. British Journal of Nutrition, 46:39–59, 1981.
- [145] OBA, M. und M.S. ALLEN: *Effects of diet fermentability on efficiency of microbial nitrogen production in lactating dairy cows*. Journal of Dairy Science, 86:195–207, 2003.
- [146] O'CONNOR, J.D., C.J. SNIFFEN, D.G. FOX und W. CHALUPA: *A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy*. Journal of Animal Science, 71:1298–1311, 1993.
- [147] OFFER, N. W., R.F.E. AXFORD und R.A. EVANS: *The effect of dietary energy source on nitrogen metabolism in the rumen of sheep*. British Journal of Nutrition, 40:35–44, 1978.
- [148] OHAJURUKA, O.A., Z. WU und D.L. PALMQUIST: *Ruminal metabolism, fiber, and protein digestion by lactating cows fed calcium soap or animal-vegetable fat*. Journal of Dairy Science, 74:2601–2609, 1991.
- [149] OKORIE, A.U., P.J. BUTTERY und D. LEWIS: *Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen*. Proceedings of Nutrition Society, 36:38A, 1977.
- [150] OLDICK, B. S. und J. L. FIRKINS: *Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily*. Journal of Animal Science, 78:2412–2420, 2000.
- [151] ÖZTÜRK, H.: *In-vitro-Studien zum Einfluss von Topinamburmehl und Saccharomyces boulardii auf den mikrobiellen Vormagenstoffwechsel*. Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover, 2003.
- [152] PALMQUIST, D.L., M.R. WEISBJERG und T. HVELPLUND: *Ruminal, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cows fed diets high in fat and undegradable protein*. Journal of Dairy Science, 76:1353–1364, 1993.

- [153] PÈREZ, J.F., J. BALCELLS, J.A. GUADA und C. CASTRILLO: *Rumen microbial production estimated either from urinary purine derivative excretion or from direkt measurement of ^{15}N and purine bases as microbial markers: Effect of protein source and rumen bacterial isolates.* *Animal Science*, 65:225–236, 1997.
- [154] PETRI, A.: *Quantifizierung von N-Umsetzungen in laktierenden Ziegen mittels intraruminaler Dauerinfusion von ^{15}N -Ammoniumsalzen bei angemessener und mangelhafter Phosphor-Versorgung.* Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 1987.
- [155] PILGRIM, A.F., F.V. GRAY, R.A. WELLER und C.B. BELLING: *Synthesis of microbial protein from ammonia in sheep's rumen and the proportion of dietary converted into microbial nitrogen.* *British Journal of Nutrition*, 24:589–598, 1970.
- [156] PISULEWSKI, P.M., A.U. OKORIE, P.J. BUTTERY, W. HARESIGN und D. LEWIS: *Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen.* *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32:759–766, 1981.
- [157] POTTHAST, V., R. HAVERKAMP und M. RODEHUTSCORD: *Ableitung von Formeln zur Schätzung des Energiegehaltes von Grasprodukten unter Verwendung von in-vitro-Parametern (Gasbildung, Cellulase-Löslichkeit).* *Das Wirtschaftseigene Futter*, 43:205–216, 1997.
- [158] PURSER, D.B. und S.M. BUECHLER: *Amino acid composition of rumen organisms.* *Journal of Dairy Science*, 49:81–84, 1966.
- [159] RAAB, L., A. SALEWSKI, H. STEINGASS, W. SCHNEIDER und K. MENKE: *Gasbildung im Pansensaft in vitro als ein Maß für die Verdaulichkeit und den Gehalt an Umsetzbarer Energie in Futtermitteln für Wiederkäuer.* In: *Tagungsbericht der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere*, Seiten 36–37. 1979.
- [160] RAHNEMA, S.H. und B. THEURER: *Comparison of various amino acids for estimation of microbial nitrogen in digesta.* *Journal of Animal Science*, 63:603–612, 1986.
- [161] RANILLA, M.J. und M.D. CARRO: *Diet and procedures used to detach particle-associated microbes from ruminal digesta influence chemical composition of microbes and estimation of microbial growth in Rusitec fermenters.* *Journal of Animal Science*, 81:537–544, 2003.
- [162] RICHARDSON, C.R. und E.E. HATFIELD: *The limiting amino acids in growing cattle.* *Journal of Animal Science*, 46:740–745, 1978.

- [163] ROBINSON, P.H. und S. TAMMINGA: *Gegenwärtiger Kenntnisstand über die Proteinverdauung und -absorption bei Wiederkäuern*. Übersichten Tierernährung, 12:119–164, 1984.
- [164] RODEHUTSCORD, M.: *Untersuchungen zur Anpassung der mikrobiellen Aktivität im Pansen von Milchziegen an stark variierte Phosphor-Zufuhr*. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 1992.
- [165] RODRÌGUEZ, C.A., J. GONZÀLEZ, M.R. ALVIR, J.L. REPETTO, C. CENTENO und F. LAMRANI: *Composition of bacteria harvested from the liquid and solid fractions of the rumen of sheep as influenced by feed intake*. British Journal of Nutrition, 84:369–376, 2000.
- [166] RODRIGUEZ-PRADO, M., S. CALSAMIGLIA und A. FERRET: *Effects of fiber content and particle size of forage on the flow of microbial amino acids from continuous culture fermenters*. Journal of Dairy Science, 87:1413–1424, 2004.
- [167] RULQUIN, H., J. GUINARD und VÈRITÈ R.: *Variation of amino acid content in the small intestine digesta of cattle: development of a prediction model*. Livestock Production Science, 53:1–13, 1998.
- [168] RUSSELL, J.B.: *Fermentation of peptides by Bacteroides ruminicola B14*. Applied and Environmental Microbiology, 45:1566–1574, 1983.
- [169] RUSSELL, J.B. und R.B. HESPELL: *Microbial rumen fermentation*. Journal of Dairy Science, 64:1153–1169, 1981.
- [170] RUSSELL, J.B., J.D. O'CONNOR, D.G. FOX, P.J. VAN SOEST und C.J. SNIFFEN: *A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation*. Journal of Animal Science, 70:3551–3561, 1992.
- [171] SANDEK, A.: *Quantifizierung des Flusses sowie der Sekretion und Resorption von endogenem N in verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes unter Verwendung der 15N-Verdünnungsmethode und des Chymusaustausches zwischen 15N-markierten und unmarkierten Schafen*. Dissertation, Universität Rostock, 2000.
- [172] SATTER, L.D. und L.L. SLYTER: *Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro*. British Journal of Nutrition, 32:199–208, 1974.
- [173] SCHADT, I., W.H. HOOVER, T.K. MILLER WEBSTER, W.V. THAYNE und G. LICITRA: *Degradation of two protein sources at three solids retention times in continuous culture*. Journal of Animal Science, 77:485–491, 1999.

- [174] SCHOLLJEGERDES, E.J., P.A. LUDDEN und B.W. HESS: *Site and extent of digestion and amino acid flow to the small intestine in beef cattle consuming limited amounts of forage*. Journal of Animal Science, 82:1146–1156, 2004.
- [175] SCHÖNHUSEN, U., J. VOIGT, F. KREIENBRING und F. TEUSCHER: *Bewertung verschiedener Marker für die Messung der mikrobiellen Stickstoffpassage am Duodenum der Milchkuh*. Archiv für Tierernährung, 48:147–158, 1995.
- [176] SCHOOF, A.: *Untersuchungen zum Einfluß einer duodenalen Histidin-Infusion auf den Rohprotein- und Aminosäureumsatz bei wachsenden Schwarzbunten Bullen*. Dissertation, Universität Rostock, 1996.
- [177] SHANNAK, S., K.-H. SÜDEKUM und A. SUSENBETH: *Estimating ruminal crude protein degradation with in situ and chemical fractionation procedures*. Animal Feed Science and Technology, 85:195–214, 2000.
- [178] SIDDONS, R.C., D.E. BEEVER und J.V. NOLAN: *A comparison of methods for the estimation of microbial nitrogen in duodenal digesta of sheep*. British Journal of Nutrition, 48:377–389, 1982.
- [179] SIDDONS, R.C., J.V. NOLAN, D.E. BEEVER und J.C. MACRAE: *Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of N*. British Journal of Nutrition, 54:175–187, 1985.
- [180] SLYTER, L.L., L.D. SATTER und D.A. DINIUS: *Effect of ruminal ammonia concentration on nitrogen utilization by steers*. Journal of Animal Science, 48:906–912, 1979.
- [181] SNIFFEN, C.J., J.D. O'CONNOR, P.J. VAN SOEST, D.G. FOX und J.B. RUSSELL: *A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability*. Journal of Animal Science, 70:3562–3577, 1992.
- [182] SOEST, P.F. VAN: *Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 1. Preparation of fibre residues of low nitrogen content*. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 46:825–829, 1963.
- [183] SOEST, P.F. VAN: *Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 2. A rapid method for the determination of fibre and lignin*. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 46:829–835, 1963.
- [184] SPILKE, J.: *Biometrie und Tierversuchswesen*. Lehrmaterial, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Landwirtschaftliche Fakultät, Arbeitsgruppe Biometrie und Agrarinformatik, 1999.

- [185] STERN, M.D. und W.H. HOOVER: *Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: A review*. Journal of Animal Science, 49:1590–1603, 1979.
- [186] STERN, M.D., G.A. VARGA, J.H. CLARK, J.L. FIRKINS, J.T. HUBER und D.L. PALMQUIST: *Symposium: Metabolic relationship in supply of nutrients for milk protein synthesis: Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen*. Journal of Dairy Science, 77:2762–2786, 1994.
- [187] STOKES, S.R., W.H. HOOVER, T.K. MILLER und R. BLAUWEIKEL: *Ruminal digestion and microbial utilization of diets varying in type of carbohydrate and protein*. Journal of Dairy Science, 74:871–881, 1991.
- [188] STOKES, S.R., W.H. HOOVER, T.K. MILLER und R.P. MANSKI: *Impact of carbohydrate and protein levels on bacterial metabolism in continuous culture*. Journal of Dairy Science, 74:860–870, 1991.
- [189] STORM, E. und E.R. ØRSKOV: *The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants 1. Large-scale isolation and chemical composition of rumen micro-organisms*. British Journal of Nutrition, 50:463–470, 1983.
- [190] STORM, E. und E.R. ØRSKOV: *The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants 4. The limiting amino acid of microbial protein in growing sheep determined by a new approach*. British Journal of Nutrition, 52:613–620, 1984.
- [191] SUTTON, J.D., S.B. CAMELL, R.H. PHIPPS, D.E. BEEVER und D.J. HUMPHRIES: *The effect of crop maturity on the nutritional value of maize silage for lactating dairy cows 2. Ruminal and post-ruminal digestion*. Animal Science, 71:391–400, 2000.
- [192] TEATHER, R.M. und F.D. SAUER: *A naturally compartmented rumen simulation system for the continuous culture of rumen bacteria and protozoa*. Journal of Dairy Science, 71:666–673, 1988.
- [193] TIMMLER, R. und M. RODEHUTSCORD: *Dose-response relationship for valine in the growing White Peking duck*. Poultry Science, 82:1755–1762, 2003.
- [194] USHIDA, K., M. TOKURA, A. TAKENAKA und H. ITABASHI: *Ciliate protozoa and ruminal methanogenesis*. In: ONODERA, R., H. ITABASHI, K. USHIDA, H. YANO und Y. SASAKI (Herausgeber): *Rumen microbes and digestive physiology in ruminants*, Seiten 209–220. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1997.
- [195] VEIRA, D.M., G.K. MACLEOD, J.H. BURTON und J.B. STONE: *Nutrition of the weaned holstein calf. I. Effect of the dietary protein level on rumen metabolism*. Journal of Animal Science, 50:937–944, 1980.

- [196] VICENTE, F., J.A. GUADA, J. SURRA, J. BALCELLS und C. CASTRILLO: *Microbial contribution to duodenal purine flow in fattening cattle given concentrate diets, estimated by purine N labelling (^{15}N) of different microbial fractions*. British Society of Animal Science, 78:159–167, 2003.
- [197] VOIGT, J., U. SCHÖHUSEN, R. KRAWIELITZKI und B. PIATKOWSKI: *Comparison of ^{15}N , amino acid profile, RNA, DAP and D-Alanin as markers for microbial nitrogen flowing to the duodenum of dairy cows*. In: EAAP (Herausgeber): *6th International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition*, Band 59, Seiten 71–73, Herning, 1991.
- [198] VOLDEN, H.: *Effects of level of feeding and ruminally undegraded protein on ruminal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestinal amino acid profile, and performance of dairy cows*. Journal of Animal Science, 77:1905–1918, 1999.
- [199] WALLACE, R.J.: *Amino acid and protein synthesis, turnover, and breakdown by ruminal microorganisms*. In: ASPLUND, J.M. (Herausgeber): *Principles of Protein Nutrition in Ruminants*, Seiten 71–111. CRC Press, 1. Auflage, 1994.
- [200] WALLACE, R.J.: *Ruminal microbial metabolism of peptides and amino acids*. Journal of Nutrition, 126:1326S–1334S, 1996.
- [201] WELCH, J.G. und A.M. SMITH: *Particle sizes passed from rumen*. Journal of Animal Science, 46:309–312, 1978.
- [202] YANG, W. Z., K. A. BEAUCHEMIN und D.D. VEDRES: *Effects of pH and fibrolytic enzymes on digestibility, bacterial protein synthesis, and fermentation in continuous culture*. Animal Feed Science and Technology, 102:137–150, 2002.
- [203] YOUNGE, B.A., J.J. MURPHY und M. RATH: *Nutrient metabolism in the rumen and milk production in cows fed on grass-silage and fresh grass based diets*. Livestock Production Science, 88:43–54, 2004.

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden 16 Mischrationen (TMR) für Milchkühe in einem semi-kontinuierlichen Pansen-Simulationssystem geprüft. Zum Start eines Versuches wurden 15 g der Futtermischung und ~60 g der festen Phase des Panseninokulums in Nylonbeutel eingewogen und mit gleichen Anteilen nativen Pansensaftes und einer definierten Pufferlösung in den Fermentern inkubiert. Einer 7-tägigen Anpassungsphase folgte eine 8-tägige Sammelperiode, in der Proben der Futterreste, des Überlaufes und der Mikroben für die Analyse gewonnen wurden.

Die TMR bestanden aus mindestens zwei Futtermitteln, von denen eines eine Silage war. 15 der 16 Mischrationen enthielten Maissilage oder/und Grassilage. Weiterhin kamen Pressschnitzel-, Lieschkolben-, Luzerne- und Biertreibersilage sowie Heu bzw. Stroh zum Einsatz. Die Ergänzung durch Konzentrate erfolgte hauptsächlich über Getreide und Extraktionsschrote von Soja- und Rapssaaten. 2 TMR enthielten Erbsen in geschroteter Form.

Die analysierten Nährstoffgehalte lagen zwischen 874 und 947 g/kg Trockensubstanz (T) für die Organische Substanz (OS), 123 und 213 g/kg T für Rohprotein (XP) und 159 und 282 g/kg T für Rohfaser (XF). Für die aus den verdaulichen Rohnährstoffen berechnete Umsetzbare Energie (ME) konnten Werte zwischen 8,2 und 11,9 MJ/kg T ermittelt werden.

Es wurde untersucht, welche Auswirkungen die dargestellte hohe Variabilität in der Zusammensetzung der TMR auf den Abbau der Nährstoffe, die Menge und die Aminosäurezusammensetzung des gebildeten Mikrobenproteins (XP_{TB}) und die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese ausübt. Auf der Grundlage dieser Daten erfolgte die Ableitung multipler Regressionen zur Identifizierung möglicher Einflussfaktoren der TMR auf die genannten Parameter.

Zur Ermittlung der mikrobiell gebildeten Proteinmenge wurde die zugeführte Pufferlösung mit ^{15}N angereichertem Ammoniumchlorid versetzt. Die Ammoniumkonzentration der eingesetzten Pufferlösung betrug 0,7 mmol/l ("niedrig"). Zusätzlich erfolgte die Prüfung von 8 der 16 TMR bei einer Ammoniumkonzentration von 5,0 mmol/l ("hoch"). Damit wurde geprüft, ob und in welchem Ausmaß eine Beeinflussung des Fermentationsgeschehens *in vitro* durch eine erhöhte Verfügbarkeit von Ammonium in der Lösung gegeben ist.

Zwei Versuche dienten der Darstellung der Dynamik der ^{15}N -Anreicherung in den Referenzmikroben und der Bestimmung des Zeitpunktes der Plateauanreicherung.

Zusätzlich erfolgte eine Trennung der Mikrobenpopulation in Referenzmikroben (TB), in an die flüssige Phase assoziierte Mikroben (LAB) und in an die feste Phase assoziierte Mikroben (SAB). Die TB wurden aus der Überlaufflüssigkeit isoliert und als repräsentativ für die Mikrobenpopulation angesehen. Sie bildeten die Grundlage der Berechnung der mikrobiellen Syntheseleistung.

Der Abbau der OS, des XP und der XF nach 48 stündiger Inkubation lag zwischen 35 und 48 %, 25 und 63 % und 9 und 30 %. Es bestanden signifikante Unterschiede ($P \leq 0,05$) des Abbaus zwischen "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer. Der *in vitro*-Abbau der OS kann mittels der Faktoren ME, XF und XP sicher geschätzt werden ($r^2 = 0,79$; $s_{y.x} = 4,9\%$).

Es konnte gezeigt werden, dass *in vitro* die maximale ^{15}N -Anreicherung in den TB erst nach 7 Tagen einer kontinuierlichen Zuführung von ^{15}N erreicht wird. Eine Beprobung vor diesem Zeitpunkt würde zu einer Überschätzung der mikrobiellen Syntheseleistung führen.

Es bestanden Unterschiede der ^{15}N -Anreicherung zwischen den Mikrobenfraktionen. Dies deutet auf unterschiedliche Affinitäten der Fraktionen bei der Nutzung von gelöstem Ammonium hin.

Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese bei dem Einsatz der unterschiedlichen TMR lag in einem weiten Bereich zwischen 141 und 286 g XP_{TB} je kg abgebauter OS. Es bestanden keine Unterschiede zwischen "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer. Es wird vermutet, dass die aufgetretenen Änderungen im Abbau der OS durch Änderungen in der mikrobiellen Proteinsynthese kompensiert werden.

Als möglicher Einflussfaktor auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese kommt der Gehalt an XP in Frage. Die Nutzung der Faktoren XF und Anteil der Grassilage in der T der Mischration können die Güte der Schätzung verbessern.

Es zeigten sich deutliche Abweichungen zwischen den Aminosäuremustern des Proteins der TB und der SAB. Zwischen den Aminosäuremustern des Proteins der TB und LAB treten nur wenige Unterschiede auf. Diese werden auf die unterschiedlichen Isolationsmethoden zurückgeführt. Es kann nicht eindeutig geklärt werden, welche der Mikrobenfraktionen als repräsentativ für die gesamte Mikrobenpopulation angesehen werden kann.

Innerhalb einer Mikrobenfraktion bestehen sowohl zwischen den TMR als auch zwischen den zwei Ammoniumkonzentrationen signifikante Unterschiede im Muster des Mikrobenproteins. Abgeleitete multiple Regressionen zeigten nicht eindeutig, welche Faktoren das Aminosäuremuster beeinflussen.

Die kritische Diskussion der hier verwendeten Methode macht deutlich, dass neben der Ammoniumkonzentration im Puffer auch schwankende Durchflussraten an Pufferlösung pro Tag, die im Vergleich zum Tier hohen pH-Werte in den Fermentern und die Akkumulation der Stoffwechselprodukte zu einem veränderten Abbau der Rohnährstoffe führen können. Dies lässt die unkommentierte Übertragung der Daten auf das Tier nicht zu. Unabhängig davon ist es jedoch möglich, mit dieser *in vitro*-Methode qualitative und vergleichende Aussagen zu Prozessen im Pansen zu treffen.

Summary

Sixteen mixed rations (TMR) for dairy cows were tested with a semi-continuous rumen-simulation. At the beginning of each experiment 15 g of TMR and ~60 g of a solid rumen inoculum were given into nylon bags, and incubated with equal parts of rumen fluid and a defined buffer solution. An 8 - day period of collecting samples of the feed residues, the liquid effluent, and microbes was followed by a 7 - day period of adaptation.

The TMR contained at least two ingredients, at least one of these being a silage. Fifteen of the 16 mixed rations contained maize or/and grass silage. Furthermore, beet pulp, moist ensiled corn, alfalfa, and brewers grains silage were used, and also hay or straw. Corn and solvent extracted soybean meal and rapeseed meal were used as the main concentrates. Two TMR contained crushed peas.

The nutrients analysed were between 874 and 947 g/kg dry matter (DM) for organic matter (OM), 123 and 213 g/kg DM for crude protein (CP), and 159 and 282 g/kg DM for crude fibre (CF). The metabolizable energy (ME), calculated from digestible crude nutrients, varied between 8.2 and 11.9 MJ/kg DM.

It was the aim of the experiments to investigate which effects the high variation in TMR composition exerts on the fermentation of nutrients, on the amount and amino acid composition of the microbial crude protein (CP_{TB}), and on the efficiency of the microbial protein synthesis. Based on these data multiple regressions were calculated in order to identify factors of TMR influencing the mentioned parameter.

To determine the amount of microbial protein, the buffer solution contained ^{15}N enriched ammonium chloride. The concentration of ammonia in the buffer was 0.7 mmol/l (“low”). Additionally, 8 out of 16 TMR were investigated with an ammonia concentration of 5.0 mmol/l (“high”). In this way, kind and strongness of a potential influence on the fermentation *in vitro* were estimated in case of a higher availability of ammonia within the solution.

Two diets were used to investigate the dynamics of ^{15}N - enrichment of the microbes during continuous ^{15}N application via the buffer. Furthermore, a separation of the microbial population into reference microbes (TB), liquid associated microbes (LAB), and solid associated microbes (SAB) was carried out. The TB were isolated from the liquid effluent and regarded to represent the complete population of microbes. It served as the basis of calculation of the microbial synthesis.

The fermented proportion of OM, CP, and CF varied between 35 and 48 %, 25 and 63 % and 9 and 30 % after a 48 h incubation. There were significant differences ($P \leq 0.05$) in fermentation between “low” and “high” concentration of ammonia in the buffer. The *in vitro* fermentation of OM could carefully be predicted by the parameters ME, CF and CP ($r^2 = 0.79$; $s_{y.x} = 4.9\%$).

It could be shown that, using this *in vitro* system, the maximum ^{15}N -enrichment in TB was not achieved before 7 days of a continuous infusion of ^{15}N . A collection of microbial samples before this time would cause an overestimation of the microbial synthesis.

There were some differences in the ^{15}N -enrichment between the microbial fractions. That points to a different affinity of fractions using the ammonia dissolved.

The efficiency of the microbial protein synthesis was in a wide range between 141 and 286 g CP_{TB} per kg fermented OM using different TMR. Significant differences between the “low” and “high” concentration of ammonia in the buffer were not observed. Conclusively the changes in fermentation of OM were compensated by changes of the microbial protein synthesis.

A potential factor determined to affect the efficiency of microbial protein synthesis was the content of CP. The use of the parameters CF and “inclusion of grass silage in DM” of a mixed ration can improve the accuracy of prediction.

It turned out that there were clear differences in the amino acid pattern of the TB's and the SAB's protein. Only few differences occurred between the amino acid pattern of the protein of TB and LAB. These were traced to the different methods of isolation. It could not clearly be identified which fraction of microbes within the system is representative to the whole population.

Within one microbial fraction there were significant differences in the composition of the microbial protein between TMR's and between the two ammonia concentrations. Multiple regressions did not clearly indicate any parameter influencing the amino acid pattern.

A critical discussion of the method presented showed that, among the ammonia concentration in buffer, the variable flow rates of buffer solution per day, the high pH-values in the fermenter in comparison with a real animal, and the accumulation of metabolisable endproducts can lead to a different fermentation of crude nutrients. This makes it impossible to directly transfer the results achieved to the animal without giving any additional comments. Apart from that, one can use this *in vitro* method to make qualitative and comparative statements of the processes taking place in the rumen.

Anhang

Tabellen

Tabelle 20: Deklarierte Zusammensetzung der Konzentratmischung für die fistelierten Schafe

Futtermittel	Inhaltsstoffe in g/kg	
Gerste	Rohprotein	160
Weizenkleie	Rohfett	29
Weizen	Rohfaser	88
Sonnenblumenkuchen	Asche	68
Luzernegrünmehl	Kalzium	12
Sojaextraktionsschrot	Phosphor	5
Melasse	Natrium	2
Kalziumkarbonat		
Vormischung		
Natriumchlorid		

Tabelle 21: Analytierte Rohnährstoffe des für die Spendertiere verwendeten Wiesenheus

Trockensubstanz	953 g/kg
Rohasche	63 g/kg T
Rohprotein	140 g/kg T
Rohfett	12 g/kg T
Rohfaser	286 g/kg T

Tabelle 22: Deklarierte Zusammensetzung der Mineralstoffmischung für die fistelierten Schafe

Zusammensetzung	Inhaltsstoffe	
	g/kg	IE/kg
Kalziumcarbonat	Phosphor	52
Natriumchlorid	Kalzium	180
Monodikalziumposphat	Natrium	100
Kalzium - Magnesium - Karbonat	Magnesium	20
Zuckerrübenmelasse	Zink	0,320
Weizenkleie	Mangan	0,064
Magnesiumoxid	Iod	0,001
	Selen	0,002
	Kobalt	0,001
	Vitamin A	24000
	Vitamin D3	2400
	Vitamin E	0,024

Tabelle 23: Zuordnung der Bezeichnungen der verwendeten TMR zu vorangegangenen Untersuchungen

Quelle	Original - Bezeichnung	Zuordnung
[103]	SES	A
	RES	B
[20]	1	C
	2	D
	7	E
	8	I
	10	J
	11	F
	17	G
	18	H
	20	N
[27]	Gras/Mais	K
	Luzerne/Mais	L
	Mais	P

Tabelle 24: Retentionszeit und Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren in der Standard-Lösung

Name	Synonym	Abkürzung	Retentionszeit (min)	Konzentration (mmol/l)
Ethansäure	Essigsäure	C_2	5,28	28,41
Propansäure	Propionsäure	C_3	6,45	16,87
iso-Butansäure	iso-Buttersäure	$isoC_4$	6,82	0,59
Butansäure	Buttersäure	C_4	7,87	6,52
iso-Pentansäure	iso-Valeriansäure	$isoC_5$	8,56	2,97
Pentansäure	Valeriansäure	C_5	9,83	4,41
Hexansäure	Capronsäure	C_6	11,86	1,54

Tabelle 25: Mittlere Durchflussmengen an Pufferlösung (in ml/d)
($\pm s$ der Tage 7 bis 14)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	Mittlere Puffermenge	$\pm s$
3	A	1	542	14
		2	518	10
		3	533	10
4	B	1	573	23
		2	604	16
		3	556	14
5	C	1	512	65
		2	621	27
		3	601	23
	D	1	628	79
		2	530	23
		3	560	14
6	E	1	591	66
		2	534	6
		3	542	83
	F	1	586	50
		2	512	13
		3	518	16
7	G	1	611	5
		2	555	13
		3	606	7
	H	1	562	28
		2	552	10
		3	607	10
8	I	1	532	16
		2	536	11
		3	572	18
	J	1	529	35
		2	590	16
		3	505	71
9	K	1	590	11
		2	554	44
		3	575	15
	L	1	599	85
		2	592	34
		3	585	26

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Fortsetzung Tabelle 25

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	Mittlere Puffermenge	$\pm s$
10 ^b	M	1	571	58
		2	516	12
		3	575	19
	M ⁺	1	570	71
		2	495	77
		3	573	21
11	N	1	547	17
		2	537	15
		3	480	131
	N ⁺	1	491	9
		2	608	15
		3	586	42
12	D ⁺	1	567	23
		2	492	104
		3	504	42
	G ⁺	1	528	64
		2	564	109
		3	509	134
13	O	1	599	7
		2	559	27
		3	580	3
	P	1	603	11
		2	602	4
		3	618	8
14	K ⁺	1	605	24
		2	599	17
		3	610	22
	L ⁺	1	603	8
		2	604	6
		3	610	6
15	O ⁺	1	623	9
		2	561	22
		3	640	7
	P ⁺	1	602	11
		2	600	6
		3	591	18

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^bMittelwert der Tage 7 bis 12

Tabelle 26: Mittelwertsvergleich der Durchflussmengen bei “niedriger” und “hoher” Ammoniumkonzentration im Puffer (Angaben in ml/d, $\pm s$)

TMR	niedrig	$\pm s$	hoch	$\pm s$	P =
D	572	62	521	71	0,24
G	591	27	533	104	0,08
M ^a	554	44	546	69	0,81
N	522	28	562	57	0,39
K	573	30	605	21	0,04
L	578	57	606	7	0,04
O	579	23	608	36	0,34
P	608	10	597	13	0,17

^aMittelwert der Tage 7 bis 12

Tabelle 27: Mittlere pH- Werte in den Fermentationsgefäßen
($\pm s$ der Tage 7 bis 14)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	Mittlerer pH- Wert	$\pm s$
3	A	1	6,9	0,06
		2	6,9	0,08
		3	6,9	0,06
4	B	1	7,0	0,03
		2	6,9	0,04
		3	6,9	0,03
5	C	1	7,1	0,10
		2	7,1	0,10
		3	7,1	0,08
	D	1	7,1	0,06
		2	7,0	0,08
		3	7,1	0,07
6	E	1	7,1	0,04
		2	7,1	0,06
		3	7,1	0,06
	F	1	7,1	0,05
		2	7,2	0,07
		3	7,2	0,05
7	G	1	7,3	0,04
		2	7,3	0,04
		3	7,3	0,04
	H	1	7,2	0,06
		2	7,2	0,07
		3	7,2	0,06
8	I	1	7,1	0,09
		2	7,1	0,11
		3	7,1	0,12
	J	1	7,0	0,07
		2	7,1	0,09
		3	7,0	0,10
9	K	1	7,0	0,04
		2	7,0	0,06
		3	7,0	0,04
	L	1	7,0	0,05
		2	7,0	0,03
		3	7,0	0,05

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Fortsetzung Tabelle 27

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	Mittlerer pH- Wert	±s
10 ^b	M	1	7,2	0,03
		2	7,1	0,04
		3	7,1	0,05
	M ⁺	1	7,1	0,04
		2	7,1	0,05
		3	7,2	0,05
11	N	1	7,0	0,03
		2	7,0	0,01
		3	7,0	0,02
	N ⁺	1	6,9	0,07
		2	7,0	0,03
		3	7,0	0,02
12	D ⁺	1	7,0	0,03
		2	6,9	0,06
		3	7,0	0,03
	G ⁺	1	7,0	0,05
		2	7,0	0,06
		3	7,0	0,06
13	O	1	7,1	0,03
		2	7,1	0,04
		3	7,1	0,03
	P	1	7,0	0,03
		2	7,1	0,03
		3	7,0	0,03
14	K ⁺	1	7,1	0,03
		2	7,1	0,04
		3	7,1	0,04
	L ⁺	1	7,1	0,03
		2	7,1	0,03
		3	7,1	0,02
15	O ⁺	1	7,2	0,04
		2	7,1	0,03
		3	7,1	0,03
	P ⁺	1	7,0	0,05
		2	7,0	0,03
		3	7,0	0,04

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^bMittelwert der Tage 7 bis 12

Tabelle 28: Mittelwertsvergleich der pH-Werte bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$)

TMR	niedrig	$\pm s$	hoch	$\pm s$	P =
D	7,1	0,07	7,0	0,05	0,02
G	7,3	0,04	7,0	0,06	<0,01
M ^a	7,1	0,05	7,1	0,05	1,0
N	7,0	0,03	7,0	0,06	0,37
K	7,0	0,04	7,1	0,04	<0,01
L	7,0	0,04	7,1	0,03	<0,01
O	7,1	0,04	7,1	0,04	0,37
P	7,0	0,03	7,0	0,04	0,37

^aMittelwert der Tage 7 bis 12

Tabelle 29: Abbau der Rohnährstoffe, Detergenzienfasern und Bruttoenergie der einzelnen Fermenter (in %)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	OS	XP	XF	NDF	ADF	GE
3	A	1	43,7	35,1	25,6	0,0	8,0	44,7
		2	43,0	32,5	25,3	0,0	8,8	38,7
		3	44,8	36,5	26,3	9,3	7,0	42,4
4	B	1	40,4	34,0	20,6	7,9	0,9	
		2	40,9	34,5	22,3	9,9	6,4	38,3
		3	40,1	34,7	20,4	6,3	9,2	35,1
5	C	1	46,0	37,1	16,1	17,1	7,4	
		2	45,4	36,5	14,9	9,6	7,3	44,5
		3	45,7	37,1	12,4	9,8	5,5	38,9
	D	1	45,8	40,6	13,1	9,9	13,7	44,7
		2	43,5	39,3	10,2	5,0	6,2	36,0
		3	45,3	39,6	11,6	9,2	9,6	35,6
6	E	1	35,0	41,0	8,7	1,7	4,4	34,8
		2	36,5	42,3	10,9	1,9	6,1	35,6
		3	35,4	40,3	9,3	8,0	7,3	34,8
	F	1	40,2	52,6	27,9	26,5	26,9	39,7
		2	40,3	51,7	28,3	26,9	27,7	39,9
		3	40,3	53,2	27,2	25,7	27,3	39,2
7	G	1	46,0	42,7	21,9	24,3	19,9	44,5
		2	45,2	43,2	23,3	22,9	20,9	43,3
		3	47,3	45,2	22,5	20,1	20,8	46,9
	H	1	42,5	60,2	21,5	15,9	18,7	40,9
		2	41,3	59,9	18,6	12,2	10,6	39,5
		3	42,9	59,5	22,5	12,7	11,5	40,8
8	I	1	34,7	30,6	22,8	7,7	14,9	29,7
		2	35,1	40,5	27,0	11,1	17,8	32,9
		3	34,8	41,3	19,9	6,1	9,6	31,7
	J	1	37,6	38,1	25,2	13,8	11,3	35,5
		2	38,4	34,2	32,1	17,5	14,0	36,3
		3	38,7	36,7	30,1	15,6	12,5	36,9
9	K	1	42,0	24,1	21,7	12,6	15,1	39,2
		2	41,3	26,4	23,4	14,6	16,2	38,7
		3	40,7	25,3	23,6	14,6	16,8	38,4
	L	1	40,1	40,6	13,4	11,0	13,2	38,6
		2	39,3	37,3	11,6	13,7	2,7	37,0
		3	39,3	37,8	16,3	13,5	7,8	37,1

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Fortsetzung Tabelle 29

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	OS	XP	XF	NDF	ADF	GE
10 ^b	M	1	35,8	44,1	8,5	13,1	3,4	35,8
		2	35,9	44,8	10,7	14,0	5,7	34,4
		3	36,7	46,8	13,1	15,0	12,5	34,8
	M ⁺	1	36,5	45,1	11,8	10,0	13,1	33,9
		2	36,0	44,0	8,7	9,7	12,4	33,5
		3	35,8	44,1	7,3	14,6	9,6	33,4
11	N	1	45,9	48,7	10,5	21,8	18,3	44,4
		2	47,4	49,3	16,0	21,9	19,1	45,1
		3	48,5	50,5	12,9	23,3	20,4	46,6
	N ⁺	1	46,9	49,0	16,0	21,4	18,1	44,6
		2	49,0	51,0	15,9	24,3	21,8	47,1
		3	48,8	47,6	23,3	25,0	22,5	46,8
12	D ⁺	1	43,4	25,8	16,7	8,2	17,8	40,4
		2	41,1	25,2	14,3	0,9	15,7	38,1
		3	41,9	27,0	17,3	0,0	17,1	39,0
	G ⁺	1	46,1	61,9	26,1	20,2	15,8	44,9
		2	46,2	63,3	24,0	17,1	13,2	46,3
		3	46,8	63,9	27,6	20,3	17,4	46,1
13	O	1	38,9	54,3	13,5	18,2	17,4	37,5
		2	38,4	56,5	13,7	17,1	15,8	37,5
		3	38,0	55,5	11,6	16,7	15,1	37,3
	P	1	42,1	35,6	19,0	25,6	19,9	39,7
		2	40,4	34,5	14,5	25,2	18,0	38,4
		3	40,6	33,2	20,5	23,8	15,7	38,0
14	K ⁺	1	42,2	41,0	9,2	16,3	14,1	40,6
		2	42,0	35,1	15,2	18,5	15,1	39,8
		3	41,9	34,4	14,2	21,9	17,5	39,2
	L ⁺	1	41,2	38,6	14,0	16,4	14,4	39,1
		2	40,7	40,4	13,2	19,4	12,8	39,0
		3	40,5	38,1	13,6	17,4	11,5	38,8
15	O ⁺	1	35,9	48,0	13,6	21,2	16,5	34,0
		2	36,0	49,1	15,9	17,6	17,9	35,2
		3	37,2	49,4	16,3	17,7	21,3	34,4
	P ⁺	1	40,1	34,8	18,4	23,7	18,0	37,9
		2	39,6	34,2	19,0	20,4	12,7	37,0
		3	39,7	35,0	18,6	23,5	14,5	37,1

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^b Mittelwert der Tage 7 bis 12

Tabelle 30: ^{15}N - Anreicherung der Kompartimente des RUSITEC-Systems der einzelnen Fermenter (% des Gesamt-N)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	TB	SAB	LAB	Überlauf	Futterrest	Puffer
3	A	1	0,63	0,49	0,58	- ^b	0,37	11,5
		2	0,65	0,49	0,57	- ^b	0,38	11,5
		3	0,63	0,49	0,57	0,52	0,38	11,5
4	B	1	0,74	0,50	0,58	- ^b	0,38	11,5
		2	0,76	0,49	0,61	- ^b	0,39	11,5
		3	0,73	0,49	0,60	- ^b	0,39	11,5
5	C	1	0,62	0,45	0,49	- ^b	0,38	11,5
		2	0,64	0,45	0,53	0,42	0,38	11,5
		3	0,63	0,46	0,53	0,44	0,38	11,5
	D	1	0,59	0,46	0,52	- ^b	0,38	11,5
		2	0,59	0,42	0,50	- ^b	0,38	11,5
		3	0,59	0,44	0,51	- ^b	0,38	11,5
6	E	1	0,79	0,51	0,62	0,74	0,40	11,5
		2	0,76	0,50	0,59	0,78	0,41	11,5
		3	0,77	0,50	0,61	0,82	0,40	11,5
	F	1	0,59	0,46	0,52	0,75	0,38	11,5
		2	0,57	0,46	0,51	0,66	0,39	11,5
		3	0,58	0,45	0,51	0,71	0,39	11,5
7	G	1	0,58	0,43	0,50	0,67	0,38	11,5
		2	0,57	0,41	0,48	0,64	0,38	11,5
		3	0,58	0,39	0,47	0,67	0,38	11,5
	H	1	0,65	0,46	0,53	0,78	0,39	11,5
		2	0,65	0,43	0,52	0,77	0,38	11,5
		3	0,68	0,43	0,53	0,80	0,39	11,5
8	I	1	0,85	0,53	0,60	0,98	0,37	11,5
		2	0,87	0,51	0,58	1,09	0,38	11,5
		3	0,87	0,50	0,63	0,99	0,38	11,5
	J	1	0,73	0,43	0,53	0,83	0,38	11,5
		2	0,72	0,42	0,53	0,89	0,37	11,5
		3	0,73	0,42	0,53	0,85	0,38	11,5
9	K	1	0,61	0,43	0,50	0,68	0,37 ^c	11,5
		2	0,61	0,42	0,49	0,76	0,37 ^c	11,5
		3	0,61	0,41	0,49	0,72	0,37 ^c	11,5
	L	1	0,63	0,40	0,51	0,77	0,37 ^c	11,5
		2	0,62	0,42	0,51	0,71	0,37 ^c	11,5
		3	0,64	0,42	0,51	0,79	0,37 ^c	11,5

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^bMessung aufgrund zu geringer N-Konzentration nicht möglich

^cnatürliche Anreicherung angenommen, da Messung in diesem Bereich nicht möglich war

Fortsetzung Tabelle 30

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	TB	SAB	LAB	Überlauf	Futterrest	Puffer	
10	M	1	0,66	0,46	0,62	0,74	0,37 ^c	10,6	
		2	0,60	0,46	0,60	0,70	0,37 ^c	10,6	
		3	0,64	0,52	0,62	0,74	0,37 ^c	10,6	
	M ⁺	1	2,09	1,16	1,67	1,97	0,52	10,6	
		2	1,85	1,17	1,56	2,32	0,50	10,6	
		3	1,97	1,14	1,58	2,36	0,49	10,6	
	11	N	1	0,53	0,41	0,48	0,59	0,37 ^c	10,7
			2	0,52	0,42	0,49	0,57	0,37 ^c	10,7
			3	0,52	0,42	0,49	0,57	0,37 ^c	10,7
N ⁺		1	1,35	0,69	1,00	1,75	0,40	10,7	
		2	1,42	0,75	1,06	1,69	0,42	10,7	
		3	1,41	0,71	1,02	1,68	0,41	10,7	
12		D ⁺	1	1,83	0,90	1,44	3,03	0,52	11,8
			2	1,77	0,90	1,45	2,91	0,50	11,8
			3	1,82	0,91	1,42	2,93	0,49	11,8
	G ⁺	1	1,63	0,99	1,30	2,36	0,55	11,8	
		2	1,59	0,94	1,32	2,52	0,56	11,8	
		3	1,55	1,01	1,35	2,40	0,56	11,8	
	13	O	1	0,73	0,50	0,60	0,83	0,40	11,7
			2	0,72	0,50	0,59	0,81	0,40	11,7
			3	0,72	0,51	0,60	0,82	0,41	11,7
P		1	0,76	0,48	0,58	0,92	0,41	11,7	
		2	0,75	0,49	0,60	0,89	0,40	11,7	
		3	0,75	0,50	0,60	0,90	0,41	11,7	
14		K ⁺	1	2,14	0,91	1,40	2,94	0,53	11,9
			2	2,12	0,93	1,39	3,02	0,53	11,9
			3	2,18	0,93	1,39	3,06	0,53	11,9
	L ⁺	1	2,10	0,82	1,32	3,00	0,48	11,9	
		2	1,88	0,93	1,23	2,98	0,53	11,9	
		3	1,93	0,88	1,28	2,94	0,53	11,9	
	15	O ⁺	1	2,28	1,32	1,84	3,01	0,54	11,6
			2	2,26	1,30	1,75	2,91	0,54	11,6
			3	2,40	1,15	1,81	3,16	0,57	11,6
P ⁺		1	2,44	1,14	1,63	3,39	0,47	11,6	
		2	2,37	1,14	1,67	3,40	0,48	11,6	
		3	2,37	1,07	1,71	3,39	0,48	11,6	

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^bMessung aufgrund zu geringer N-Konzentration nicht möglich

^cnatürliche Anreicherung angenommen, da Messung in diesem Bereich nicht möglich war

Tabelle 31: Mittlere *N* - Mengen der Fraktionen des RUSITEC - Systems der einzelnen Fermenter (mg/d)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	<i>N</i> - Eintrag		<i>N</i> - Austrag		
			Puffer	Futter	Überlauf	Futterrest ^b	Mikroben ^c
3	A	1	5,9	418	45,6	271	- ^d
		2	5,7	418	43,1	283	- ^d
		3	5,8	418	44,9	265	223
4	B	1	6,2	363	34,0	240	- ^d
		2	6,5	363	34,5	237	- ^d
		3	6,1	363	30,5	238	- ^d
5	C	1	5,6	433	52,7	272	- ^d
		2	6,7	433	56,2	275	259
		3	6,5	433	59,1	273	254
	D	1	6,8	447	63,0	266	- ^d
		2	5,8	447	56,6	272	- ^d
		3	6,1	447	56,3	270	- ^d
6	E	1	6,7	280	30,4	166	147
		2	5,8	280	29,0	162	136
		3	6,2	280	30,8	167	136
	F	1	6,4	395	84,9	187	175
		2	5,6	395	71,1	191	201
		3	5,7	395	73,0	185	177
7	G	1	6,6	397	128,6	162	158
		2	6,1	397	130,5	161	158
		3	6,6	397	127,5	155	162
	H	1	6,1	308	76,3	137	129
		2	6,0	308	70,2	138	135
		3	6,6	308	69,2	139	139
8	I	1	5,8	292	27,0	203	100
		2	5,9	292	26,8	174	91
		3	6,2	292	26,9	171	103
	J	1	5,8	338	43,2	209	123
		2	6,4	338	41,6	223	138
		3	5,6	338	36,5	214	123
9	K	1	6,4	387	72,8	294	196
		2	6,0	387	75,9	285	155
		3	6,2	387	72,2	289	179
	L	1	6,5	407	70,5	242	166
		2	6,4	407	72,3	255	185
		3	6,2	407	64,0	253	155

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^beinschließlich der *N* - Menge der SAB

^c berechnet, ausschließlich der *N* - Menge der SAB

^dBerechnung aufgrund fehlender ¹⁵N - Konzentration im Überlauf nicht möglich

Fortsetzung Tabelle 31

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	N - Eintrag		N - Austrag		
			Puffer	Futter	Überlauf	Futterrest ^b	Mikroben ^c
10	M	1	6,2	375	80,7	209	115
		2	5,7	375	80,3	207	132
		3	6,2	375	79,9	199	123
	M ⁺	1	43,3	375	104,3	205	160
		2	38,1	375	103,6	210	125
		3	43,5	375	103,3	209	149
11	N	1	6,0	485	122,9	249	211
		2	5,9	485	127,5	246	225
		3	5,7	485	113,3	240	239
	N ⁺	1	37,9	485	142,7	247	195
		2	46,0	485	148,5	238	262
		3	44,5	485	147,9	254	251
12	D ⁺	1	43,2	447	95,4	332	165
		2	37,9	447	91,0	335	145
		3	38,8	447	89,4	326	148
	G ⁺	1	40,4	397	141,1	152	144
		2	43,0	397	142,4	146	152
		3	39,1	397	137,8	143	142
13	O	1	6,5	310	79,0	142	103
		2	6,1	310	77,4	135	99
		3	6,3	310	73,8	138	108
	P	1	6,5	365	43,6	235	126
		2	6,5	365	41,6	239	137
		3	6,7	365	47,4	244	133
14	K ⁺	1	45,9	387	95,9	228	158
		2	45,4	387	97,5	251	150
		3	46,2	387	102,2	254	141
	L ⁺	1	45,7	407	101,6	250	148
		2	43,9	407	97,9	242	165
		3	46,2	407	105,0	252	167
15	O ⁺	1	47,1	310	117,3	161	115
		2	41,8	310	110,1	158	100
		3	48,3	310	112,6	157	112
	P ⁺	1	45,6	365	80,4	238	130
		2	45,5	365	79,4	240	135
		3	44,8	365	76,5	237	136

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^beinschließlich der N - Menge der SAB

^c berechnet, ausschließlich der N - Menge der SAB

^dBerechnung aufgrund fehlender ¹⁵N - Konzentration im Überlauf nicht möglich

Tabelle 32: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit verdauliche Organische Substanz (g/kg, $n = 21$)

Gleichung	9		10		11		12	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	-41,8708	0,35	81,5930	0,80	215,6067	0,13	138,0614	0,34
OS ^c			-0,1150	0,68	-0,2190	0,15	-0,1650	0,28
XP ^c	0,7198	<0,01	0,6345	0,04	0,5166	<0,01	0,5175	<0,01
XF ^c	0,1588	0,13	0,6345	0,65				
XL ^c			0,2929	0,60	0,3982	0,45	0,6147	0,26
GS ^d					-0,1338	0,56		
MS ^e								
C_2/C_3 ^f							9,5052	0,21
P_{global}		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01
r^2		0,59		0,60		0,61		0,64
$s_{y.x}$ %		11,9		12,5		12,4		11,9

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P - Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

Tabelle 33: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit Umsetzbare Energie (g/MJ, $n = 21$)

Gleichung	13		14		15		16	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	-25,2216	0,40	4,7126	0,83	5,0263	0,81	-0,9691	0,96
OS ^c			-0,0064	0,73	-0,0061	0,73	-0,0011	0,95
XP ^c	0,0443	<0,01	0,0393	0,05	0,0385	0,06	0,0396	0,03
XF ^c	0,0108	0,12	0,0069	0,60	0,0065	0,64	0,0396	0,54
XL ^c			0,0088	0,81				
GS ^d					-0,0045	0,79		
MS ^e								
C_2/C_3 ^f							0,5081	0,28
P_{global}		<0,01		0,01		0,01		<0,01
r^2		0,55		0,56		0,56		0,59
$s_{y.x}$ %		12,2		13,0		13,0		12,5

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P - Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

Tabelle 34: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz (g/kg, $n = 13$, "niedrige" Ammoniumkonzentration im Puffer)

Gleichung	17		18		19		20	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	9,0243	0,86	-476,8325	0,45	-818,9876	0,25	-528,2999	0,34
OS ^c			0,3736	0,49	0,7498	0,25	0,3710	0,43
XP ^c	0,8113	<0,01	1,2627	0,05	1,1428	0,07	1,2576	0,03
XF ^c			0,3641	0,33	0,3269	0,38	0,2490	0,45
XL ^c	1,4261	0,14	1,1370	0,28	1,2240	0,25	1,8075	0,09
GS ^d								
MS ^e					0,4720	0,28		
C_2/C_3 ^f							31,6514	0,11
P_{global}		0,01		0,07		0,09		0,04
r^2		0,62		0,68		0,74		0,80
$s_{y,x}$ %		10,8		11,3		11,0		9,7

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P - Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

Tabelle 35: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit verdauliche Organische Substanz (g/kg, $n = 13$, "niedrige" Ammoniumkonzentration im Puffer)

Gleichung	21		22		23		24	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	-6,6377	0,84	124,1377	0,74	-65,7859	0,78	119,8142	0,50
OS ^c			-0,1649	0,62	0,0631	0,80	-0,1829	0,30
XP ^c	0,4710	0,01	0,4927	0,16	0,3487	0,04	0,4723	0,01
XF ^c			0,0703	0,75				
XL ^c	1,0911	0,09	1,1163	0,10	1,2172	0,04	1,4565	0,03
GS ^d								
MS ^e					0,3503	0,14		
C_2/C_3 ^f							15,5016	0,17
P_{global}		0,02		0,05		0,02		0,02
r^2		0,61		0,69		0,78		0,77
$s_{y,x}$ %		12,2		12,1		10,4		10,6

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P - Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

Tabelle 36: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit Umsetzbare Energie (g/MJ, $n = 13$, "niedrige" Ammoniumkonzentration im Puffer)

Gleichung	25		26		27		28	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	0,3583	0,87	7,1045	0,78	-4,1270	0,80	7,6350	0,52
OS ^c			-0,0092	0,68	0,0048	0,78	-0,0111	0,34
XP ^c	0,0271	0,02	0,0298	0,21	0,0192	0,08	0,0276	0,02
XF ^c			0,0055	0,72				
XL ^c	0,0619	0,14	0,0626	0,16	0,0700	0,07	0,0869	0,04
GS ^d								
MS ^e					0,0231	0,15		
C_2/C_3 ^f							1,0854	0,15
P_{global}		0,03		0,10		0,04		0,04
r^2		0,53		0,63		0,72		0,72
$s_{y,x}$ %		12,7		12,8		11,1		11,1

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P- Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

Tabelle 37: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz (g/kg, $n = 8$, "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer)

Gleichung	29		30		31		32	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	128,3217	0,08	-793,2745	0,31	164,6340	0,01	139,9913	0,10
OS ^c			0,9305	0,20				
XP ^c	0,8414	0,02	1,1428	0,09	0,7857	0,01	0,9305	0,03
XF ^c			0,4056	0,42				
XL ^c	-2,2580	0,05	-4,0039	0,04	-2,1323	0,02	-2,6234	0,07
GS ^d					-0,9042	0,04		
MS ^e								
C_2/C_3 ^f							-8,2477	0,52
P_{global}		<0,01		0,04		<0,01		0,03
r^2		0,84		0,94		0,95		0,86
$s_{y,x}$ %		7,1		5,7		4,4		7,5

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P- Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

Tabelle 38: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit verdauliche Organische Substanz (g/kg, $n = 8$, "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer)

Gleichung	33		34		35		36	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	86,7362	0,07	-567,7231	0,36	110,9435	<0,01	86,9946	0,11
OS ^c			0,5862	0,30				
XP ^c	0,5331	0,01	0,9092	0,10	0,4960	<0,01	0,5351	0,04
XF ^c			0,4091	0,34				
XL ^c	-1,7486	0,03	-2,5490	0,07	-1,6649	<0,01	-1,7567	0,07
GS ^d					-0,6028	0,02		
MS ^e								
C_2/C_3 ^f							-0,1827	0,98
P_{global}		<0,01		0,06		<0,01		0,03
r^2		0,87		0,91		0,97		0,87
$s_{y,x}$ %		7,4		7,7		3,8		8,3

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P - Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

Tabelle 39: Schätzgleichungen zur Bestimmung der gebildeten Menge an Mikrobenprotein je Einheit Umsetzbare Energie (g/MJ, $n = 8$, "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer)

Gleichung	37		38		39		40	
Regressor	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b	β^a	P^b
Intercept	6,3660	0,05	-39,0379	0,36	7,9729	<0,01	6,3257	0,10
OS ^c			0,0401	0,30				
XP ^c	0,0318	0,02	0,0591	0,11	0,0293	<0,01	0,0315	0,07
XF ^c			0,0293	0,32				
XL ^c	-0,1237	0,02	-0,1759	0,07	-0,1182	<0,01	-0,1225	0,07
GS ^d					-0,0400	0,03		
MS ^e								
C_2/C_3 ^f							0,0284	0,96
P_{global}		<0,01		0,07		<0,01		0,04
r^2		0,85		0,90		0,96		0,85
$s_{y,x}$ %		7,9		8,3		4,5		8,9

^a partieller Regressionskoeffizient

^b partieller P - Wert

^c Angaben in g/kg T

^d Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^e Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^f Verhältnis der prozentualen Anteile von Essig- (C_2) und Propionsäure (C_3) im Überlauf

Tabelle 40: Muster der kurzkettigen Fettsäuren in der Überlauf-Flüssigkeit der einzelnen Fermenter (in mmol/l)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
3	A	1	26,5	17,6	8,0	8,9	1,6
		2	26,8	19,9	8,4	9,1	1,6
		3	28,4	20,8	6,4	8,8	1,2
4	B	1	23,4	17,4	6,1	9,0	1,4
		2	20,4	16,9	4,9	7,8	1,1
		3	21,9	18,1	4,5	7,0	0,8
5	C	1	25,9	17,8	5,9	8,8	1,2
		2	24,3	17,7	5,9	8,6	1,2
		3	26,0	19,1	6,8	10,2	1,6
	D	1	31,7	15,4	5,6	7,2	1,2
		2	35,4	17,3	6,4	7,6	1,3
		3	32,8	17,1	6,2	7,1	1,1
6	E	1	26,1	10,5	5,3	5,0	1,0
		2	28,7	11,7	6,3	5,3	1,1
		3	28,0	10,4	6,5	5,5	1,5
	F	1	26,2	16,2	5,8	4,6	0,6
		2	25,3	14,0	6,3	5,2	0,9
		3	27,4	15,8	6,9	5,1	0,8
7	G	1	24,8	13,8	9,0	6,9	1,7
		2	26,1	15,0	10,0	7,7	1,8
		3	28,2	16,7	9,0	6,1	1,3
	H	1	25,6	20,3	8,3	6,8	1,1
		2	26,0	20,4	8,0	6,9	1,0
		3	24,8	17,0	8,3	6,3	1,1
8	I	1	22,5	10,9	6,1	5,8	1,3
		2	22,6	11,6	6,3	6,0	1,3
		3	22,8	11,1	5,9	4,9	1,2
	J	1	25,1	13,1	6,7	6,3	1,2
		2	24,4	13,5	6,3	5,2	1,0
		3	25,6	14,4	7,0	6,1	1,1
9	K	1	33,4	15,3	7,2	7,4	1,9
		2	35,9	17,7	8,1	8,7	2,2
		3	34,0	17,9	6,6	7,8	1,6
	L	1	29,5	17,4	7,9	7,0	1,2
		2	27,1	18,6	8,3	8,7	1,6
		3	27,3	17,7	7,9	7,7	1,3

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Fortsetzung Tabelle 40

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
10	M	1	27,1	11,3	6,2	3,9	0,7
		2	30,4	12,5	6,7	4,5	0,8
		3	27,1	12,0	5,9	4,1	0,7
	M ⁺	1	25,0	10,0	5,8	4,2	0,9
		2	29,1	11,6	7,7	5,0	1,0
		3	26,8	10,2	6,5	4,5	1,0
11	N	1	32,3	19,8	9,3	8,1	1,8
		2	34,3	21,5	9,9	8,2	1,6
		3	33,5	21,8	11,1	9,4	2,3
	N ⁺	1	40,6	20,0	10,5	9,8	2,6
		2	33,5	16,8	9,4	8,4	2,6
		3	34,5	17,9	9,1	8,2	2,2
12	D ⁺	1	45,3	16,9	6,6	7,5	1,8
		2	44,7	15,6	7,0	7,2	2,0
		3	42,9	15,3	7,0	7,4	1,9
	G ⁺	1	35,0	21,5	9,1	6,1	0,9
		2	33,9	20,5	8,6	5,8	0,9
		3	38,6	24,3	10,5	6,4	0,8
13	O	1	26,8	19,8	6,0	5,7	0,7
		2	28,0	19,1	7,1	5,9	0,8
		3	27,1	19,4	6,6	5,3	0,7
	P	1	26,9	20,2	7,6	7,0	1,2
		2	26,6	18,8	7,5	7,7	1,7
		3	26,9	19,1	7,5	7,0	1,3
14	K ⁺	1	27,2	19,4	8,4	7,5	1,5
		2	27,3	19,7	8,5	7,7	1,6
		3	27,1	19,6	8,7	7,3	1,8
	L ⁺	1	27,7	21,5	9,2	6,2	0,7
		2	29,3	21,7	8,7	7,4	1,0
		3	28,6	20,8	9,0	7,4	1,1
15	O ⁺	1	25,9	20,7	6,3	4,5	0,4
		2	27,8	22,2	6,6	4,8	0,4
		3	24,8	19,4	5,5	4,3	0,5
	P ⁺	1	26,4	26,6	7,0	5,9	0,5
		2	26,7	26,5	7,2	5,7	0,4
		3	26,6	26,2	8,1	5,6	0,5

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Tabelle 41: Aminosäuremuster der Referenzbakterien der einzelnen Fermenter (in g Aminosäure /16 g N)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL
3	A	1	7,1	4,2	9,9	0,9	10,6	4,5	4,5	6,4	6,4	2,0	4,1	3,1	3,3	4,5	5,3
		2	7,2	4,5	10,3	0,9	10,9	4,5	4,6	6,6	6,5	2,0	4,1	2,4	3,4	4,6	5,2
		3	7,3	4,4	10,6	0,9	11,0	4,6	4,6	6,6	6,7	2,0	4,2	2,5	3,4	4,6	5,3
4	B	1	7,0	4,5	9,8	0,8	10,3	4,5	4,6	6,6	6,3	1,9	3,9	2,3	3,2	4,4	5,1
		2	7,0	4,3	9,8	0,8	10,7	4,5	4,4	6,4	6,1	1,9	4,0	2,6	3,3	4,5	5,1
		3	7,0	4,4	10,0	0,8	10,6	4,5	4,4	6,3	6,5	1,8	4,0	2,7	3,3	4,4	5,2
5	C	1	7,1	4,2	9,8	0,9	10,6	4,7	4,5	6,4	5,8	1,9	4,0	2,6	3,2	4,5	5,2
		2	6,9	4,3	9,8	0,9	10,3	4,4	4,3	6,2	5,9	1,8	3,7	2,6	3,2	4,6	5,0
		3	7,0	4,5	10,0	0,9	10,6	4,6	4,5	6,4	6,2	2,0	3,9	2,8	3,4	4,5	5,2
	D	1	6,9	4,6	10,1	0,8	10,8	4,7	4,6	6,5	6,4	1,8	4,1	3,1	3,4	4,5	5,3
		2	6,8	4,4	10,0	0,8	10,6	4,6	4,4	6,4	6,3	1,9	4,1	2,9	3,3	4,5	5,1
		3	6,8	4,5	9,8	1,0	10,6	4,6	4,5	6,4	6,2	1,9	4,1	3,0	3,3	4,5	5,1
6	E	1	6,7	4,7	9,4	0,8	10,9	4,6	4,3	6,4	6,3	2,0	3,9	2,9	3,3	4,3	5,1
		2	6,8	4,8	9,6	0,8	10,8	4,5	4,3	6,4	6,3	2,0	3,9	2,6	3,3	4,4	5,1
		3	6,7	5,0	9,4	0,8	10,7	4,5	4,3	6,3	6,2	2,0	3,9	3,0	3,3	4,3	5,1
	F	1	6,9	4,8	10,3	0,9	10,8	4,8	4,9	6,7	6,9	2,3	4,4	3,0	3,5	4,7	5,6
		2	6,7	4,8	9,9	0,8	10,5	4,7	4,5	6,6	6,4	2,1	4,2	2,9	3,4	4,5	5,3
		3	6,8	4,7	9,7	0,8	10,5	4,6	4,5	6,4	6,3	2,1	4,1	3,0	3,3	4,4	5,2
7	G	1	6,9	4,6	9,8	0,9	10,8	4,8	4,6	6,7	6,4	2,2	4,1	3,2	3,4	4,5	5,4
		2	7,0	4,7	9,8	0,9	10,9	4,7	4,5	6,7	6,1	2,1	4,2	3,1	3,4	4,5	5,4
		3	7,2	4,8	10,0	0,8	11,1	4,8	4,6	6,8	6,5	2,2	4,2	3,2	3,4	4,6	5,4
H	1	7,1	4,6	10,2	0,8	10,9	4,8	4,8	6,7	6,6	2,2	4,4	2,9	3,4	4,7	5,5	
	2	7,1	4,6	10,0	0,8	10,8	4,7	4,6	6,7	6,5	2,1	4,3	2,8	3,3	4,6	5,4	
	3	7,3	4,5	10,0	0,9	10,7	4,7	4,7	6,7	6,4	2,1	4,3	3,0	3,3	4,7	5,5	
8	I	1	6,7	4,8	8,9	0,7	10,1	4,4	4,0	6,3	5,6	1,8	3,8	3,0	3,2	4,1	5,0
		2	6,6	4,9	9,0	0,8	10,2	4,3	3,7	6,1	5,3	1,8	3,7	2,8	3,2	4,2	4,8
		3	6,3	4,9	9,2	0,7	10,3	4,2	3,9	6,1	5,4	1,7	3,7	2,5	3,2	4,0	4,8

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL
8	J	1	6,2	4,6	9,4	0,8	10,7	4,2	4,1	6,3	5,9	1,9	3,7	2,9	3,2	4,2	5,1
		2	6,2	4,7	9,2	0,8	10,1	4,0	3,7	5,9	5,4	1,7	3,5	2,8	3,0	4,0	4,6
		3	6,4	5,0	9,3	0,7	10,6	4,2	4,0	6,2	5,7	1,9	3,8	3,0	3,3	4,4	5,0
9	K	1	6,7	4,4	9,3	0,9	10,4	4,3	4,2	6,2	6,1	1,9	3,6	2,7	2,9	4,2	5,2
		2	6,5	4,6	9,5	0,8	10,3	4,1	3,9	5,9	5,9	1,9	3,7	2,3	3,2	4,5	4,8
		3	6,7	4,3	10,2	0,9	10,9	4,3	4,1	6,1	6,0	2,1	3,7	2,7	3,4	4,6	5,1
	L	1	6,6	4,2	9,2	0,8	9,9	3,8	3,9	5,9	5,7	1,9	3,6	3,5	3,1	4,2	4,7
		2	6,8	4,2	9,2	0,8	10,0	4,0	3,9	6,1	5,4	1,7	3,9	3,4	3,1	4,2	4,9
		3	6,8	4,3	9,1	0,8	9,9	4,0	3,9	6,1	5,5	1,8	3,6	3,4	3,1	4,2	4,8
10	M	1	6,4	4,5	9,8	0,8	11,1	4,5	4,3	6,4	6,1	2,0	3,9	3,1	3,1	4,3	5,2
		2	7,0	4,8	10,0	0,9	11,2	4,8	4,3	6,6	6,1	2,1	4,0	3,0	3,3	4,5	5,2
		3	6,6	4,7	9,3	0,8	10,3	4,3	4,1	6,3	5,7	2,0	3,9	2,5	3,1	4,3	5,1
	M ⁺	1	6,5	4,8	9,4	0,9	10,7	4,5	4,2	6,3	5,6	2,0	3,9	2,6	3,0	4,2	5,1
		2	6,9	5,1	9,9	1,0	10,8	4,7	4,2	6,6	5,9	2,1	4,1	3,1	3,2	4,5	5,3
		3	6,8	4,9	9,8	0,9	10,5	4,6	4,3	6,4	5,8	2,1	4,1	3,0	3,2	4,4	5,3
11	N	1	6,4	4,6	9,7	0,8	10,6	4,3	4,2	6,0	6,0	2,0	3,8	2,5	3,1	4,3	5,0
		2	6,4	4,5	9,8	0,8	10,7	4,3	4,1	6,0	6,1	2,1	3,9	2,7	3,1	4,4	5,0
		3	6,4	4,5	9,8	0,8	10,5	4,3	4,2	6,1	6,1	2,0	3,9	2,9	3,1	4,4	5,0
	N ⁺	1	6,4	4,4	10,4	0,9	11,7	4,3	4,2	6,0	6,6	2,1	3,8	3,0	3,1	4,5	5,2
		2	6,6	5,1	10,7	0,8	11,6	4,3	4,2	6,2	6,7	2,0	4,0	3,8	3,3	4,7	5,0
		3	6,5	4,9	10,5	0,9	11,4	4,3	4,2	6,2	6,7	1,9	4,0	3,7	3,2	4,5	5,1
12	D ⁺	1	6,6	4,5	10,0	0,8	11,4	4,5	4,5	6,2	6,9	2,0	4,0	2,9	3,2	4,5	5,5
		2	6,7	4,4	9,9	0,8	11,4	4,4	4,3	6,2	6,6	1,8	3,9	3,0	3,2	4,5	5,2
		3	6,6	4,3	9,7	0,8	11,2	4,4	4,4	6,2	6,7	1,8	3,9	2,8	3,1	4,5	5,2
	G ⁺	1	6,8	4,5	9,6	0,8	11,4	4,8	4,8	6,4	6,6	2,0	4,2	2,9	3,1	4,4	5,7
		2	6,8	4,5	9,8	0,8	11,0	4,6	4,5	6,4	6,5	2,0	4,3	3,1	3,3	4,5	5,4
		3	6,6	4,4	9,7	0,7	10,9	4,5	4,6	6,4	6,3	2,0	4,2	3,1	3,3	4,5	5,3

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL
13	O	1	6,5	4,3	9,5	0,7	10,7	4,4	4,3	6,2	6,7	2,0	4,2	3,1	3,3	4,5	5,0
		2	6,7	4,4	9,8	0,8	11,2	4,5	4,3	6,3	7,0	2,0	4,4	2,9	3,4	4,6	5,1
		3	6,6	4,3	9,8	0,8	11,0	4,6	4,5	6,3	7,1	2,0	4,3	3,0	3,4	4,6	5,1
	P	1	6,8	4,3	10,0	0,9	11,5	4,6	4,4	6,3	7,1	2,0	4,3	3,8	3,4	4,6	5,2
		2	6,8	4,3	10,1	0,8	11,0	4,5	4,4	6,3	7,1	1,9	4,3	3,4	3,4	4,6	5,0
		3	6,8	4,2	10,0	0,8	11,0	4,6	4,5	6,3	7,2	1,9	4,4	3,2	3,3	4,6	5,3
14	K ⁺	1	6,3	4,0	10,0	0,8	11,0	4,4	4,6	6,1	6,6	2,0	4,0	3,3	3,2	4,5	5,5
		2	6,4	4,1	9,9	0,8	10,9	4,3	4,4	6,1	6,3	1,9	4,0	2,8	3,3	4,5	5,3
		3	6,4	4,1	10,0	0,8	11,1	4,4	4,5	6,2	6,4	1,9	4,2	2,7	3,4	4,6	5,4
	L ⁺	1	6,2	3,9	10,1	0,8	11,1	4,4	4,7	6,2	6,6	2,0	4,0	3,2	3,3	4,6	5,7
		2	6,5	3,9	10,2	0,8	11,0	4,3	4,5	6,2	6,5	2,0	4,1	3,2	3,5	4,8	5,4
		3	6,7	4,3	10,2	0,8	11,0	4,5	4,6	6,4	6,6	1,9	4,1	3,2	3,4	4,6	5,7
15	O ⁺	1	6,5	3,9	10,0	0,7	11,1	4,8	4,5	6,2	6,3	2,0	3,7	2,5	3,3	4,4	5,2
		2	6,6	4,2	10,2	0,7	11,5	4,6	4,4	6,2	6,3	2,1	4,2	2,9	3,4	4,6	5,2
		3	6,9	4,1	10,4	0,7	11,4	4,8	4,2	6,0	6,2	2,0	4,1	2,8	3,3	4,5	5,2
	P ⁺	1	6,6	3,7	10,2	0,8	11,7	4,8	4,3	6,1	6,7	1,9	3,7	2,7	3,2	4,5	5,2
		2	6,8	4,1	10,8	0,8	11,5	4,8	4,5	6,4	6,3	2,0	4,4	2,5	3,5	4,8	5,4
		3	6,8	4,4	10,5	0,9	11,5	4,8	4,4	6,1	6,5	2,1	3,9	2,9	3,4	4,7	5,4

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Tabelle 42: Aminosäuremuster der LAB (liquid associated bacteria) der einzelnen Fermenter (in g Aminosäure / 16 g N)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL	
3	A	1	7,5	4,6	10,8	1,0	11,8	4,7	5,0	7,0	7,1	2,3	4,5	3,2	3,5	4,9	5,8	
		2	7,4	4,7	10,8	0,9	11,6	4,6	4,9	6,9	7,1	2,2	4,5	3,2	3,4	4,8	5,7	
		3	7,4	4,4	10,7	0,9	11,7	4,6	4,9	6,9	7,1	2,2	4,4	3,1	3,3	4,7	5,7	
4	B	1	7,1	4,6	10,5	0,8	11,5	4,7	4,7	6,9	7,1	2,2	4,6	2,9	3,5	4,6	5,5	
		2	7,3	4,9	10,8	0,9	11,6	4,8	4,7	7,0	7,4	2,1	4,6	3,0	3,4	4,6	5,5	
		3	7,0	5,1	10,4	0,9	11,3	4,6	4,7	6,9	7,4	2,1	4,5	2,9	3,4	4,6	5,5	
5	C	1	6,7	5,0	10,0	0,8	11,0	4,4	4,5	6,6	7,1	2,1	3,9	2,9	3,3	4,5	5,1	
		2	6,7	5,1	10,1	0,8	11,1	4,5	4,7	6,8	7,2	2,1	4,4	3,0	3,4	4,5	5,3	
		3	6,7	5,0	10,1	1,0	11,2	4,5	5,0	7,0	7,2	2,3	4,4	2,9	3,4	4,5	5,6	
	D	1	6,6	4,9	10,2	0,9	11,0	4,4	4,6	6,7	7,0	2,1	4,1	2,8	3,5	4,4	5,3	
		2	6,5	4,6	10,0	0,8	10,8	4,3	4,5	6,6	6,9	2,0	4,2	2,8	3,4	4,4	5,2	
		3	6,6	4,8	10,2	0,9	11,1	4,4	4,7	6,6	6,4	2,2	4,2	2,8	3,4	4,4	5,3	
	6	E	1	7,0	4,6	9,5	0,8	11,3	4,3	4,1	6,3	6,3	1,9	4,0	2,5	3,3	4,2	5,1
			2	7,1	4,0	9,4	0,8	11,0	4,4	4,2	6,3	6,1	1,9	3,9	2,9	3,3	4,2	5,1
			3	7,0	4,1	9,4	0,9	11,4	4,3	4,3	6,3	6,3	2,0	3,8	3,0	3,4	4,3	5,1
F	1	7,2	4,8	10,5	1,1	11,7	4,7	4,8	6,8	6,4	2,4	4,6	3,6	3,8	4,8	5,5		
	2	7,1	4,2	10,2	1,0	11,1	4,6	4,7	6,6	6,2	2,3	4,3	2,8	3,5	4,5	5,3		
	3	7,2	4,5	10,2	1,0	11,3	4,7	4,8	6,6	6,0	2,3	4,4	2,8	3,4	4,5	5,5		
7	G	1	6,6	4,3	9,3	1,0	10,3	4,3	4,4	6,4	5,7	2,0	4,2	2,6	3,2	4,1	4,9	
		2	6,6	4,3	9,2	0,9	10,2	4,2	4,1	6,3	5,7	2,0	4,0	2,6	3,1	4,1	4,6	
		3	6,9	4,6	9,3	1,0	10,3	4,3	4,3	6,2	5,9	2,1	4,1	2,5	3,1	4,1	4,8	
	H	1	6,6	4,3	9,0	0,9	10,0	4,2	4,2	6,2	5,8	2,0	4,0	2,6	3,0	4,0	4,9	
		2	6,6	4,3	9,0	0,8	9,9	4,1	4,1	6,2	5,9	1,9	3,9	2,8	3,0	4,0	4,7	
		3	7,0	4,2	9,1	0,9	10,2	4,2	4,2	6,3	5,6	1,9	3,9	2,8	2,9	3,9	4,8	
8	I	1	6,3	4,3	9,3	1,0	10,1	4,2	4,4	6,2	6,3	1,9	4,1	2,7	3,1	4,2	5,0	
		2	6,5	4,5	9,5	0,9	10,0	4,2	4,2	6,1	6,6	1,9	4,0	2,5	3,1	4,2	4,8	
		3 ^b																

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^bFehler bei Analyse, Wiederholung nicht möglich, da Probenmaterial zu gering

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL
8	J	1	6,5	4,0	9,5	1,0	10,2	4,2	4,2	6,1	6,3	2,0	3,9	2,9	3,1	4,2	4,8
		2	6,5	4,3	9,5	0,9	10,2	4,2	4,0	6,2	6,2	1,9	3,9	2,8	3,2	4,2	4,5
		3	6,4	4,3	9,6	0,9	10,4	4,2	4,1	6,3	6,3	2,0	4,0	2,6	3,2	4,2	4,7
9	K	1	6,7	3,9	9,6	0,8	10,8	4,5	4,6	6,3	6,7	2,0	3,8	3,0	3,0	4,2	5,3
		2	6,8	4,0	9,6	0,8	10,7	4,4	4,4	6,4	6,7	2,0	3,9	3,1	3,0	4,2	5,1
		3	6,7	4,0	9,6	0,8	10,7	4,4	4,5	6,4	6,6	2,1	3,8	2,8	3,1	4,2	5,2
	L	1	6,8	4,1	9,7	0,8	11,1	4,5	4,7	6,4	6,5	2,2	3,9	3,1	3,0	4,3	5,4
		2	6,9	4,2	9,4	0,8	10,9	4,3	4,4	6,2	6,4	2,0	3,7	3,3	3,0	4,2	5,1
		3	6,7	4,1	9,4	0,8	10,7	4,3	4,5	6,2	6,4	2,0	3,7	3,0	3,0	4,1	5,2
10	M	1	6,1	4,6	9,3	0,8	10,3	4,2	4,3	6,3	6,9	2,0	4,5	2,6	3,2	4,3	4,7
		2	6,3	4,6	9,3	0,8	10,5	4,2	4,3	6,4	6,9	2,0	4,6	2,8	3,2	4,3	4,7
		3	6,3	4,6	9,2	0,8	10,4	4,3	4,5	6,5	6,8	1,9	4,5	2,7	3,1	4,2	5,0
	M ⁺	1	6,1	4,7	9,2	0,8	10,2	4,2	4,3	6,4	6,7	2,0	4,4	2,9	3,1	4,2	4,9
		2	6,0	4,5	9,4	0,8	10,5	4,2	4,3	6,4	6,8	2,1	4,4	3,0	3,2	4,2	4,8
		3	6,1	4,7	9,4	0,8	10,3	4,3	4,5	6,4	6,8	2,0	4,4	2,9	3,2	4,2	5,0
11	N	1	6,0	4,9	9,7	0,8	10,9	4,2	4,4	6,4	6,9	2,0	4,4	2,9	3,2	4,3	5,0
		2	6,0	4,2	9,5	0,8	10,5	4,0	4,2	6,3	6,9	1,9	4,1	3,0	3,1	4,2	4,8
		3	5,9	4,4	9,4	0,8	10,5	4,1	4,3	6,3	6,5	1,9	4,1	2,9	3,1	4,1	4,8
	N ⁺	1	6,4	4,2	9,6	0,7	10,8	4,3	4,4	6,2	6,2	1,9	4,1	2,8	3,1	4,2	5,2
		2	6,9	4,4	9,8	0,8	11,3	4,5	4,4	6,4	6,5	2,0	4,1	2,9	3,2	4,3	5,1
		3	6,6	4,7	10,1	0,8	11,3	4,5	4,6	6,6	6,6	2,1	4,3	3,0	3,4	4,4	5,4
12	D ⁺	1	6,5	4,0	9,6	0,8	11,2	4,3	4,3	6,2	6,3	1,9	4,0	3,0	3,2	4,1	5,1
		2	6,6	3,7	9,7	0,9	11,1	4,3	4,1	6,1	6,4	1,9	4,2	3,1	3,1	4,2	4,9
		3	6,6	3,7	9,9	0,8	11,3	4,3	4,1	6,3	6,3	1,9	4,3	3,4	3,2	4,3	5,2
	G ⁺	1	6,8	4,2	9,9	0,8	11,0	4,5	4,4	6,4	6,2	2,0	4,4	3,4	3,2	4,3	5,3
		2	6,7	3,9	9,7	0,9	10,9	4,3	4,1	6,2	5,8	2,0	4,2	3,4	3,2	4,2	5,1
		3	6,7	4,0	10,0	0,8	11,1	4,4	4,3	6,4	6,1	2,1	4,3	3,2	3,2	4,3	5,3

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL
13	O	1	7,1	3,8	10,0	0,8	11,5	4,4	4,4	6,6	6,9	2,1	4,1	2,9	3,4	4,7	5,5
		2	6,9	4,0	9,9	0,8	11,1	4,5	4,6	6,5	6,5	2,1	4,1	3,1	3,3	4,6	5,7
		3	6,9	3,9	9,8	0,8	11,0	4,4	4,3	6,4	6,5	2,0	4,0	3,4	3,3	4,4	5,4
	P	1	7,0	3,8	10,3	0,8	11,0	4,4	4,3	6,2	6,8	2,1	3,9	3,4	3,3	4,4	5,5
		2	7,1	3,7	10,3	0,7	11,6	4,4	4,5	6,2	6,8	2,2	3,9	3,3	3,2	4,6	5,6
		3	7,1	3,7	10,1	0,7	11,5	4,3	4,3	6,3	7,0	2,1	3,9	3,2	3,2	4,5	5,4
14	K ⁺	1	6,7	4,0	9,9	0,6	10,9	4,4	4,5	6,1	6,6	2,1	3,7	3,0	3,0	4,3	5,3
		2	6,8	4,5	10,1	0,6	11,0	4,3	4,2	6,1	6,7	2,1	3,6	2,8	3,0	4,3	5,2
		3	6,7	4,2	9,8	0,6	10,9	4,4	4,1	6,1	6,4	2,1	3,8	2,9	3,1	4,4	5,3
	L ⁺	1	6,8	3,9	10,1	0,6	11,1	4,6	4,4	6,3	7,2	2,0	3,8	2,7	3,2	4,3	5,7
		2	6,6	4,3	10,0	0,6	10,6	4,3	4,4	6,1	6,9	2,0	3,5	2,9	3,1	4,2	5,3
		3	6,5	4,4	9,8	0,7	10,8	4,2	4,2	6,0	6,4	2,0	3,6	2,7	3,3	4,2	5,2
15	O ⁺	1	7,2	4,2	10,0	0,8	10,8	4,8	4,5	6,4	6,0	2,1	3,7	2,9	3,3	4,5	5,4
		2	6,8	3,9	9,8	0,8	10,6	4,5	4,4	6,3	5,6	2,0	3,5	3,0	3,3	4,4	5,2
		3	6,9	3,8	9,7	0,7	10,6	4,4	4,3	6,1	5,6	2,0	3,4	3,4	3,2	4,5	5,0
	P ⁺	1	7,3	4,0	10,5	0,7	11,2	4,7	4,3	6,2	5,9	1,9	3,3	3,5	3,4	4,6	5,4
		2	7,1	3,6	10,2	0,7	11,1	4,5	4,4	6,2	5,9	2,1	3,2	3,1	3,2	4,5	5,2
		3	7,2	3,6	10,4	0,8	11,3	4,5	4,3	6,2	6,0	2,0	3,3	3,0	3,3	4,6	5,4

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

Tabelle 43: Aminosäurenmuster der SAB (solid associated bacteria) der einzelnen Fermenter (in g Aminosäure / 16 g N)

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	mg ^b	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL
3	A	1	100	6,7	6,0	10,1	0,8	12,2	4,6	4,7	7,7	7,2	1,8	5,0	3,3	3,7	4,3	5,6
		2	100	6,6	5,0	9,8	0,8	12,3	4,5	4,6	7,6	6,6	1,9	4,7	3,6	3,6	4,2	5,5
		3	100	6,7	5,3	10,0	0,7	12,6	4,5	4,5	7,5	6,8	1,9	5,0	3,5	3,6	4,2	5,2
4	B	1	100	6,8	4,8	9,8	0,8	12,0	4,6	4,5	7,4	6,8	2,0	4,4	3,1	3,4	4,3	5,4
		2	100	6,6	5,1	9,7	0,9	12,1	4,4	4,5	7,3	6,9	2,0	4,6	3,2	3,4	4,2	5,4
		3	100	6,8	4,6	10,0	0,7	12,2	4,7	4,6	7,3	6,8	1,9	4,6	3,6	3,4	4,2	5,5
5	C	1	100	6,5	4,9	10,6	1,0	12,7	4,4	4,4	7,0	5,9	1,9	4,5	3,3	3,8	4,5	5,2
		2	100	6,4	4,5	10,0	0,8	11,9	4,4	4,5	7,1	6,1	1,9	4,5	3,7	3,7	4,2	5,1
		3	100	6,3	5,2	9,9	0,9	12,4	4,5	4,5	7,3	6,2	1,8	4,6	3,8	3,8	4,1	5,3
	D	1	100	6,8	5,9	12,2	1,1	14,5	5,0	5,3	8,2	7,1	2,3	5,5	3,9	4,4	5,0	6,1
		2	100	6,0	5,6	10,9	1,1	13,4	4,5	4,6	7,4	5,9	1,9	4,7	3,9	4,1	4,3	5,2
		3	100	6,2	5,0	10,7	1,1	12,8	4,5	4,6	7,4	6,1	2,0	4,8	4,5	3,9	4,4	5,3
6	E	1	68,4	6,9	4,7	9,5	1,0	11,7	4,7	4,4	7,2	5,7	1,9	4,3	4,3	3,8	4,3	5,3
		2	61,1	6,8	4,8	9,4	1,1	11,5	4,6	4,3	7,1	5,6	2,0	4,2	3,3	3,7	4,3	5,3
		3	63,5	6,7	5,2	9,4	1,0	11,5	4,5	4,3	7,2	5,7	1,8	4,1	4,1	3,7	4,4	5,1
	F	1	61,5	5,8	4,3	8,5	1,0	9,3	4,1	4,1	6,3	5,0	1,8	4,2	3,3	3,2	3,9	4,6
		2	57,3	6,7	3,9	10,0	1,2	11,1	4,9	4,9	7,3	6,1	2,2	4,9	2,9	3,9	4,5	5,5
		3	71,0	7,1	4,7	10,1	0,9	11,0	5,0	5,0	7,3	6,1	2,3	5,1	3,0	3,8	4,6	5,6
7	G	1	28,4	7,1	3,9	9,0	1,5	10,5	4,7	4,7	7,0	5,9	2,0	4,7	3,2	3,4	4,4	5,5
		2	47,1	6,5	4,3	8,7	1,2	10,0	4,4	4,4	6,7	5,5	1,9	4,4	3,2	3,4	4,1	5,2
		3	53,9	6,4	4,3	8,5	1,1	9,6	4,1	4,0	6,4	5,2	2,0	4,5	3,1	3,2	3,9	4,7
	H	1	30,1	6,9	3,5	9,0	1,2	10,9	4,6	4,0	6,7	5,2	2,0	4,7	2,9	3,4	4,1	4,8
		2	56,5	6,5	3,8	8,7	1,1	10,3	4,2	4,1	6,8	5,4	2,0	4,5	3,2	3,3	4,0	4,7
		3	49,9	6,7	4,5	8,8	1,2	10,7	4,5	4,3	6,8	5,5	2,1	4,5	3,2	3,3	4,0	5,0
8	I	1	39,5	6,8	3,9	10,4	1,5	11,4	4,4	4,9	6,4	6,8	2,3	5,1	2,9	3,6	4,7	5,7
		2	39,0	6,9	3,5	10,2	1,2	10,6	4,3	4,5	6,8	6,7	2,2	4,5	3,4	3,3	4,5	5,1
		3	61,9	7,2	4,0	10,5	1,4	12,1	4,7	4,2	6,7	6,5	2,2	3,7	4,7	3,4	4,5	5,2

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^bEinwaage zur Hydrolyse in mg Originalsubstanz

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	mg ^b	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL
8	J	1	85,2	5,9	3,9	9,8	0,8	11,9	4,0	4,1	6,3	6,2	1,7	4,2	3,9	3,5	4,1	4,5
		2	79,3	6,0	4,0	9,8	1,1	12,1	4,1	4,1	6,4	6,0	1,8	3,8	4,9	3,5	4,2	4,7
		3	66,2	5,9	4,8	10,0	1,0	11,7	4,2	3,8	6,2	6,2	1,9	4,2	3,4	3,4	4,1	4,9
9	K	1	25,7	6,4	4,4	9,5	1,4	12,2	4,4	4,5	6,8	6,1	2,0	3,6	4,4	3,4	4,3	5,5
		2	41,9	6,8	4,1	9,7	1,0	12,6	4,6	4,4	6,8	6,8	2,0	3,9	4,3	3,3	4,5	5,4
		3	33,7	6,7	4,5	9,7	1,3	12,7	4,6	4,3	6,8	6,4	1,6	4,0	3,5	3,5	4,4	5,3
	L	1	30,2	6,2	4,5	9,7	1,3	12,2	4,5	4,5	7,0	6,0	1,8	3,8	4,2	3,6	4,2	5,3
		2	53,8	6,8	4,2	9,6	1,1	12,1	4,5	4,5	6,9	6,3	2,0	4,0	4,7	3,6	4,4	5,3
		3	55,1	6,6	3,8	9,6	1,0	12,2	4,5	4,4	6,8	6,3	1,9	4,1	4,0	3,4	4,3	5,5
10	M	1	30,0	6,7	3,7	9,6	1,2	11,1	4,8	5,0	6,8	5,7	1,8	4,1	4,0	3,3	4,6	5,5
		2	46,0	6,6	3,5	9,6	1,0	11,0	4,6	4,6	6,6	6,4	2,0	4,4	3,7	3,6	4,7	5,5
		3	36,3	6,9	3,9	9,9	1,0	10,7	4,7	4,7	7,0	6,1	2,1	4,4	3,4	3,5	4,4	5,8
	M ⁺	1	22,6	6,7	3,4	10,1	1,3	11,1	4,7	4,9	7,2	5,7	2,6	4,8	2,7	3,4	4,4	6,0
		2	41,7	6,3	3,9	9,6	0,8	10,9	4,3	4,9	6,8	6,1	2,0	4,1	2,8	3,2	4,3	6,1
		3	49,6	6,6	4,6	9,9	0,9	10,4	4,5	4,9	6,7	6,1	2,2	4,8	3,0	3,3	4,4	6,0
11	N	1	27,0	5,5	4,9	10,4	1,1	13,8	4,2	4,4	6,8	5,9	2,0	4,1	3,0	4,0	4,3	5,4
		2	54,4	6,2	5,3	10,2	0,8	13,0	4,5	4,7	7,2	6,1	1,9	4,3	3,8	3,7	4,1	5,3
		3	44,5	5,5	4,8	10,4	0,9	14,0	4,3	4,6	7,2	5,8	1,7	4,4	4,0	3,8	3,9	5,2
	N ⁺	1	24,9	5,7	4,3	10,1	1,2	13,3	4,3	4,6	7,0	5,4	1,7	4,6	3,6	3,8	4,1	5,1
		2	62,4	6,1	4,5	10,0	0,9	13,0	4,5	4,5	7,1	6,1	1,8	4,5	3,6	3,7	4,1	5,3
		3	58,9	5,8	4,4	10,3	1,0	13,5	4,4	4,6	7,1	6,0	1,8	4,5	3,6	3,7	4,0	5,3
12	D ⁺	1	64,7	6,1	5,4	10,7	0,9	13,7	4,6	4,5	7,1	6,7	1,8	4,9	5,1	4,0	4,2	5,2
		2	76,6	6,0	5,2	10,4	0,9	13,4	4,5	4,3	7,0	6,6	1,9	4,7	4,6	4,1	4,3	5,1
		3	72,4	6,0	5,1	10,4	0,8	13,2	4,5	4,2	6,9	6,2	1,8	4,8	3,8	4,0	4,2	5,1
	G ⁺	1	48,9	7,1	3,4	9,9	0,9	12,0	4,7	4,3	7,3	6,3	2,2	5,4	4,1	3,9	4,5	5,5
		2	45,0	6,8	4,8	9,7	1,2	12,3	4,6	4,8	7,6	6,7	2,3	5,2	3,7	3,8	4,6	5,6
		3	42,8	6,9	5,2	9,8	1,0	13,7	4,8	4,6	7,8	6,7	2,2	5,6	3,2	3,5	4,3	5,9

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^bEinwaage zur Hydrolyse in mg Originalsubstanz

Versuchs- Nummer	TMR ^a	Fermenter	mg ^b	ALA	ARG	ASP	CYS	GLU	GLY	I LEU	LEU	LYS	MET	PHE	PRO	SER	THR	VAL
13	O	1	42,9	6,7	3,9	9,6	1,0	11,4	4,7	4,6	7,3	6,1	1,6	4,6	3,9	3,7	4,4	6,1
		2	51,0	6,6	4,2	8,8	0,9	11,2	4,3	4,2	7,1	6,1	1,9	4,5	3,1	3,2	4,1	5,5
		3	69,1	7,1	4,2	9,6	0,8	11,7	4,8	4,7	7,3	6,5	2,1	4,7	4,0	3,4	4,4	5,9
	P	1	76,3	6,7	3,9	10,2	0,7	13,0	4,4	4,3	6,8	6,8	2,0	4,2	4,1	3,5	4,6	5,7
		2	69,3	6,9	3,7	9,8	0,7	12,0	4,4	4,3	6,6	7,1	1,9	4,1	2,7	3,3	4,3	5,3
		3	62,0	6,9	3,6	9,9	0,8	12,5	4,4	4,1	6,8	6,7	2,0	4,2	3,9	3,6	4,7	5,6
14	K ⁺	1	80,4	6,3	3,5	9,1	0,7	11,1	4,3	4,6	6,1	5,9	1,8	3,5	3,1	2,9	3,9	5,0
		2	75,4	6,6	4,2	9,7	0,5	11,9	4,4	5,1	6,5	6,5	1,9	3,4	3,7	3,3	4,3	5,3
		3	56,0	6,2	4,1	9,4	0,7	11,5	4,2	4,8	6,1	5,2	1,9	4,0	2,9	3,2	4,3	5,2
	L ⁺	1	77,0	6,2	3,8	8,9	0,9	11,7	4,1	4,0	6,4	6,1	2,0	4,3	3,6	3,4	4,3	4,8
		2	100	6,4	3,7	9,5	0,6	11,7	4,2	4,0	6,6	6,1	2,0	4,1	3,5	3,2	4,2	4,9
		3	84,5	6,3	4,5	9,6	0,5	11,6	4,1	4,1	6,5	6,2	2,0	3,8	3,6	3,3	4,2	5,1
15	O ⁺	1	65,2	6,6	4,0	8,7	0,6	10,1	4,3	4,3	6,7	5,1	2,0	4,0	2,5	3,2	4,3	4,8
		2	62,3	6,8	4,7	9,2	0,7	10,5	4,8	4,8	7,0	5,2	1,8	3,8	4,1	3,2	4,2	5,1
		3	48,5	6,6	3,6	9,7	0,8	10,6	4,3	4,3	6,6	5,4	1,8	3,7	3,4	3,3	4,3	5,0
	P ⁺	1	64,0	6,3	4,3	9,3	0,8	11,6	4,2	4,7	6,8	5,8	1,8	3,7	3,3	3,3	4,1	5,0
		2	50,5	6,5	3,9	9,5	0,8	11,6	4,5	4,2	6,7	5,7	1,8	3,6	4,0	3,5	4,3	5,2
		3	64,8	6,2	4,0	9,3	0,8	11,4	4,3	4,0	6,5	5,8	1,8	3,8	3,3	3,3	4,0	5,0

^a+ steht für "hohe" Ammoniumkonzentration im Puffer

^bEinwaage zur Hydrolyse in mg Originalsubstanz

Tabelle 44: Mittelwerte der Aminosäurenkonzentrationen (g Aminosäure je 16 g N) und der Faktoren aus dem Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$; $n = 16$)

Aminosäure	g Aminosäure je 16 g N				Verhältnis, wenn Methionin = 1			
	TB	LAB	SAB	P_{global}	TB	LAB	SAB	P_{global}
Alanin	6,8 0,26	6,8 0,37	6,6 0,33	0,13	3,5 ^a 0,20	3,3 ^b 0,16	3,4 ^{ab} 0,18	0,03
Arginin	4,5 0,22	4,4 0,36	4,4 0,58	0,57	2,3 0,16	2,1 0,19	2,3 0,35	0,09
Asparaginsäure	9,7 0,35	9,8 0,51	9,8 0,61	0,95	5,0 ^{ab} 0,24	4,8 ^a 0,16	5,0 ^b 0,38	0,02
Cystin	0,8 ^a 0,04	0,9 ^a 0,07	1,0 ^b 0,18	<0,01	0,4 ^a 0,03	0,4 ^a 0,04	0,5 ^b 0,08	<0,01
Glutaminsäure	10,6 ^a 0,30	10,9 ^a 0,53	11,8 ^b 1,02	<0,01	5,4 ^a 0,26	5,3 ^a 0,22	6,1 ^b 0,69	<0,01
Glycin	4,5 0,23	4,4 0,19	4,5 0,16	0,16	2,3 ^a 0,11	2,1 ^b 0,07	2,3 ^a 0,12	<0,01
Isoleucin	4,3 0,26	4,5 0,24	4,5 0,22	0,20	2,2 ^{ab} 0,11	2,2 ^a 0,06	2,3 ^b 0,14	0,01
Leucin	6,4 ^a 0,22	6,5 ^a 0,27	7,0 ^b 0,36	<0,01	3,2 ^a 0,15	3,1 ^a 0,12	3,6 ^b 0,27	<0,01
Lysin	6,2 ^{ab} 0,46	6,6 ^b 0,45	6,2 ^a 0,47	0,03	3,2 0,22	3,2 0,22	3,2 0,29	0,95
Methionin	2,0 ^{ab} 0,12	2,1 ^a 0,12	1,9 ^b 0,11	0,02	1	1	1	
Phenylalanin	4,0 ^a 0,24	4,1 ^a 0,26	4,4 ^b 0,33	<0,01	2,0 ^a 0,11	2,0 ^a 0,13	2,3 ^b 0,17	<0,01
Prolin	2,9 ^a 0,27	2,9 ^a 0,22	3,6 ^b 0,37	<0,01	1,5 ^a 0,17	1,4 ^a 0,08	1,9 ^b 0,24	<0,00
Serin	3,3 ^a 0,11	3,2 ^a 0,16	3,6 ^b 0,22	<0,01	1,7 ^a 0,09	1,6 ^b 0,07	1,8 ^c 0,15	<0,01
Threonin	4,4 0,16	4,3 0,22	4,3 0,17	0,20	2,3 ^a 0,11	2,1 ^b 0,07	2,2 ^a 0,11	<0,01
Valin	5,1 0,19	5,2 0,33	5,3 0,28	0,12	2,6 ^a 0,09	2,5 ^a 0,10	2,7 ^b 0,19	<0,01

^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb einer Betrachtungsweise und Zeile, $P \leq 0,05$

Tabelle 45: Mittelwerte der Aminosäurenkonzentrationen (g Aminosäure je 16 g N) und der Faktoren aus dem Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($\pm s$; $n = 8$)

Aminosäure	g Aminosäure je 16 g N				Verhältnis, wenn Methionin = 1			
	TB	LAB	SAB	P_{global}	TB	LAB	SAB	P_{global}
Alanin	6,6 0,15	6,7 0,32	6,4 0,33	0,08	3,3 0,10	3,3 0,18	3,3 0,22	0,88
Arginin	4,4 0,36	4,1 0,31	4,3 0,43	0,48	2,2 0,17	2,1 0,14	2,2 0,33	0,35
Asparaginsäure	10,1 0,32	9,9 0,29	9,7 0,46	0,13	5,1 0,20	4,9 0,20	5,0 0,52	0,66
Cystin	0,8 0,06	0,7 0,08	0,8 0,18	0,33	0,4 0,03	0,4 0,04	0,4 0,09	0,16
Glutaminsäure	11,2 ^{ab} 0,31	10,9 ^a 0,30	11,9 ^b 1,11	0,03	5,6 ^{ab} 0,25	5,4 ^a 0,26	6,2 ^b 0,89	0,04
Glycin	4,5 0,17	4,4 0,12	4,4 0,17	0,18	2,3 0,08	2,2 0,07	2,3 0,19	0,32
Isoleucin	4,4 0,16	4,3 0,09	4,5 0,28	0,22	2,2 0,11	2,2 0,06	2,3 0,21	0,08
Leucin	6,2 ^a 0,12	6,2 ^a 0,12	6,8 ^b 0,41	<0,01	3,1 ^a 0,09	3,1 ^a 0,11	3,5 ^b 0,31	<0,01
Lysin	6,4 0,31	6,3 0,40	6,0 0,44	0,07	3,2 0,23	3,2 0,21	3,1 0,28	0,51
Methionin	2,0 0,06	2,0 0,05	1,9 0,19	0,59	1	1	1	
Phenylalanin	4,0 0,09	3,9 0,41	4,3 0,61	0,15	2,0 ^{ab} 0,06	1,9 ^a 0,22	2,2 ^b 0,26	0,03
Prolin	3,0 ^a 0,26	3,0 ^a 0,19	3,5 ^b 0,47	0,01	1,5 ^a 0,14	1,5 ^a 0,12	1,8 ^b 0,34	0,01
Serin	3,3 ^{ab} 0,08	3,2 ^a 0,08	3,5 ^b 0,32	0,03	1,6 ^{ab} 0,06	1,6 ^a 0,07	1,8 ^b 0,25	0,03
Threonin	4,5 ^a 0,11	4,3 ^b 0,13	4,2 ^b 0,12	<0,01	2,3 0,09	2,2 0,08	2,2 0,15	0,07
Valin	5,3 0,17	5,2 0,16	5,3 0,37	0,57	2,7 0,12	2,6 0,09	2,7 0,15	0,15

^{a,b}unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb einer Betrachtungsweise und Zeile, $P \leq 0,05$

Tabelle 46: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäuremusters des Proteins der Reifenzubakterien bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 8$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,3600	<0,01	2,7314	<0,01	5,8269	<0,01	0,4939	<0,01	6,3995	<0,01	2,1516	<0,01	2,2042	<0,01
GS ^b	0,0005	0,84	0,0064	0,07	-0,0004	0,76	0,0003	0,64	0,0005	0,84	0	0,99	-0,0032	0,29
MS ^c	0,0055	0,25	-0,0021	0,66	0,0073	0,03	-0,0013	0,22	0,0136	0,02	0,0059	0,07	-0,0005	0,91
GF ^d	-0,0027	0,55	-0,0091	0,11	-0,0120	0,01	-0,0008	0,43	-0,0147	0,02	-0,0004	0,89	0,0018	0,71
P_{global}		0,59		0,13		<0,01		0,26		0,02		0,19		0,57
r^2		0,35		0,72		0,96		0,60		0,91		0,66		0,36
$s_{y,x}\%$		3,31		5,52		1,14		5,94		1,82		2,86		5,44
Intercept	11,6599	0,10	11,1114	0,04	9,6376	0,28	0,8070	0,66	18,7450	0,16	8,8240	0,11	-1,1999	0,66
OS ^e	-0,0082	0,16	-0,0092	0,04	-0,0030	0,68	-0,0005	0,76	-0,0118	0,28	-0,0060	0,18	0,0017	0,49
XP ^e	-0,0034	0,42	0,0009	0,70	-0,0035	0,55	0,0006	0,66	-0,0060	0,47	-0,0047	0,19	0,0047	0,08
XF ^e	-0,0053	0,22	-0,0040	0,15	-0,0076	0,22	-0,0003	0,80	-0,0123	0,17	-0,0043	0,20	0,0021	0,29
XL ^e	0,0218	0,09	0,0039	0,51	0,0077	0,59	0,0003	0,93	0,0329	0,15	0,0161	0,09	0,0172	0,03
P_{global}		0,35		0,02		0,15		0,53		0,21		0,29		0,04
r^2		0,69		0,96		0,84		0,56		0,79		0,73		0,94
$s_{y,x}\%$		2,64		2,44		2,51		7,18		3,13		2,96		1,93
Intercept	3,5951	<0,01	1,1107	0,23	4,4180	<0,01	0,2526	0,11	5,1780	<0,01	2,8537	<0,01	2,0653	0,01
OS _{abg} ^f	-0,0089	0,38	0,0294	0,26	0,0250	0,23	0,0054	0,20	0,0167	0,36	-0,0184	0,01	0,0042	0,78
XP _{abg} ^g	-0,0069	0,08	0,0036	0,65	-0,0143	0,07	-0,0006	0,62	-0,0198	0,02	-0,0048	0,03	-0,0054	0,31
XF _{abg} ^h	0,0238	0,05	-0,0185	0,45	0,0139	0,47	-0,0027	0,47	0,0376	0,08	0,0243	<0,01	0,0133	0,39
P_{global}		0,15		0,63		0,15		0,51		0,05		0,02		0,54
r^2		0,70		0,32		0,70		0,41		0,84		0,90		0,39
$s_{y,x}\%$		2,24		8,58		2,93		7,23		2,39		1,56		5,33

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,2164	<0,01	3,9317	<0,01	2,0655	<0,01	2,0843	<0,01	1,6916	<0,01	2,4557	<0,01	2,6733	<0,01
GS ^b	-0,0010	0,68	-0,0021	0,54	-0,0005	0,77	0,0010	0,67	-0,0016	0,06	-0,0021	0,03	-0,0044	0,14
MS ^c	-0,0016	0,72	0,0054	0,37	0,0001	0,97	-0,0038	0,38	0,0011	0,39	0,0015	0,25	-0,0022	0,63
GF ^d	0	1,00	-0,0099	0,14	-0,0003	0,93	-0,0066	0,16	-0,0003	0,80	-0,0018	0,18	0,0028	0,54
<i>P</i> _{global}		0,89		0,08		0,94		0,15		0,04		0,01		0,34
<i>r</i> ²		0,13		0,78		0,08		0,70		0,84		0,93		0,54
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %		3,50		4,43		3,93		6,81		1,77		1,31		4,19
Intercept	4,0382	0,41	6,2464	0,39	1,9739	0,30	-5,3438	0,30	0,3568	0,73	1,5256	0,44	-2,8003	0,49
OS ^e	-0,0020	0,64	-0,0039	0,53	-0,0009	0,58	0,0051	0,27	0,0011	0,29	0,0007	0,68	0,0038	0,31
XP ^e	0,0026	0,45	0,0028	0,57	0,0021	0,17	0,0091	0,06	0,0007	0,36	0,0006	0,66	0,0055	0,12
XF ^e	-0,0003	0,93	-0,0049	0,33	0,0003	0,77	0,0040	0,26	-0,0001	0,91	-0,0012	0,38	0,0029	0,32
XL ^e	0,0136	0,16	0,0281	0,08	0,0118	0,02	-0,0058	0,48	0,0052	0,05	0,0068	0,11	0,0138	0,11
<i>P</i> _{global}		0,33		0,07		0,05		0,10		0,02		0,03		0,08
<i>r</i> ²		0,71		0,91		0,92		0,88		0,96		0,95		0,90
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %		2,35		3,32		1,34		4,95		1,00		1,31		2,29
Intercept	2,9440	<0,01	2,3381	0,01	1,7917	<0,01	0,0696	0,81	1,6176	<0,01	2,1901	<0,01	2,5778	0,01
OS _{abg} ^f	0,0069	0,58	0,0300	0,07	0,0048	0,56	0,0405	0,01	0,0017	0,77	0,0058	0,35	0,0051	0,75
XP _{abg} ^g	-0,0044	0,31	-0,0170	0,01	-0,0014	0,61	0,0009	0,72	-0,0041	0,09	-0,0076	0,01	-0,0074	0,21
XF _{abg} ^h	0,0058	0,62	0,0231	0,13	0,0060	0,46	-0,0177	0,07	0,0077	0,22	0,0105	0,12	0,0127	0,43
<i>P</i> _{global}		0,57		0,02		0,49		0,02		0,23		0,04		0,48
<i>r</i> ²		0,36		0,89		0,42		0,89		0,62		0,84		0,43
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %		3,00		3,17		3,12		4,18		2,75		1,99		4,66

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Mittelwert ^a	Methionin	
			P=
Intercept		1,8673	<0,01
GS ^b	0,52	0,0006	0,62
MS ^c	0,42	-0,0007	0,73
GF ^d	0,46	0,0016	0,48
<i>P_{global}</i>	0,30		0,40
<i>r</i> ²			0,49
<i>s_{y.x}</i> ^e %			2,69
Intercept		0,1728	0,93
OS ^e	0,42	0,0020	0,28
XP ^e	0,39	-0,0001	0,92
XF ^e	0,43	0,0017	0,25
XL ^e	0,24	-0,0092	0,05
<i>P_{global}</i>	0,16		0,10
<i>r</i> ²			0,88
<i>s_{y.x}</i> ^e %			1,50
Intercept		2,1414	<0,01
OS _{abg} ^f	0,38	-0,0060	0,25
XP _{abg} ^g	0,27	0,0043	0,04
XF _{abg} ^h	0,28	-0,0052	0,30
<i>P_{global}</i>	0,28		0,10
<i>r</i> ²			0,76
<i>s_{y.x}</i> ^e %			1,85

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Tabelle 47: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäuremusters des Proteins der Referenzbakterien ($n = 24$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin= 1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,4135	<0,01	2,6954	<0,01	5,4051	<0,01	0,4650	<0,01	5,8410	<0,01	2,2199	<0,01	2,1492	<0,01
GS ^b	-0,0054	0,03	0,0025	0,30	-0,0053	0,03	-0,0005	0,19	-0,0043	0,21	-0,0008	0,56	-0,0030	0,04
MS ^c	-0,0008	0,81	-0,0028	0,41	-0,0001	0,97	-0,0005	0,39	0,0026	0,59	0,0028	0,17	0,0004	0,85
GF ^d	0,0028	0,46	-0,0057	0,14	-0,0027	0,48	-0,0002	0,75	-0,0033	0,54	0,0002	0,92	0,0021	0,35
P_{global}		0,04		0,11		<0,01		0,09		0,03		0,18		0,05
r^2		0,34		0,25		0,54		0,27		0,35		0,21		0,32
$s_{y,x}$ %		4,72		7,17		3,29		6,57		4,23		4,21		4,36
Intercept	-0,4233	0,91	-2,9488	0,41	3,6744	0,32	0,2418	0,69	6,0439	0,27	3,6848	0,11	0,9603	0,67
OS ^e	0,0043	0,19	0,0045	0,15	0,0026	0,41	0,0002	0,68	0,0012	0,80	-0,0008	0,67	0,0013	0,51
XP ^e	0,0002	0,96	0,0042	0,19	-0,0011	0,72	0,0003	0,63	-0,0040	0,39	-0,0024	0,22	0,0003	0,89
XF ^e	-0,0001	0,97	0,0041	0,07	-0,0036	0,12	-0,0002	0,54	-0,0043	0,21	-0,0016	0,28	-0,0006	0,68
XL ^e	-0,0036	0,53	-0,0126	0,03	-0,0021	0,70	-0,0003	0,70	-0,0013	0,88	0,0020	0,57	0,0048	0,16
P_{global}		0,19		0,13		<0,01		0,12		0,13		0,57		0,17
r^2		0,26		0,30		0,56		0,31		0,30		0,14		0,28
$s_{y,x}$ %		5,13		7,12		3,33		6,56		4,49		4,53		4,63
Intercept	3,7053	<0,01	2,7024	<0,01	4,8875	<0,01	0,3756	<0,01	5,9233	<0,01	2,4484	<0,01	1,9857	<0,01
OS _{abg} ^f	0,0014	0,89	-0,0099	0,33	0,0182	0,11	0,0032	0,02	0,0056	0,70	-0,0014	0,82	0,0084	0,18
XP _{abg} ^g	-0,0087	0,04	-0,0025	0,54	-0,0127	0,01	-0,0017	0,00	-0,0125	0,04	-0,0023	0,33	-0,0025	0,31
XF _{abg} ^h	0,0010	0,87	0,0045	0,48	-0,0055	0,43	-0,0010	0,24	-0,0069	0,45	-0,0008	0,83	-0,0008	0,83
P_{global}		0,21		0,61		0,03		0,01		0,16		0,74		0,46
r^2		0,20		0,09		0,35		0,43		0,22		0,06		0,12
$s_{y,x}$ %		5,21		7,92		3,94		5,78		4,63		4,60		4,98

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,2691	<0,01	3,2419	<0,01	1,9409	<0,01	1,5760	<0,01	1,6775	<0,01	2,3307	<0,01	2,6454	<0,01
GS ^b	-0,0034	0,09	-0,0037	0,20	-0,0018	0,16	-0,0036	0,11	-0,0025	0,01	-0,0034	<0,01	-0,0038	0,01
MS ^c	-0,0020	0,46	0,0039	0,34	0,0015	0,41	-0,0035	0,28	-0,0005	0,71	-0,0001	0,96	-0,0015	0,40
GF ^d	0,0015	0,63	-0,0002	0,96	0,0016	0,44	0,0017	0,63	0,0011	0,46	0,0008	0,59	0,0022	0,27
<i>P</i> _{global}		0,17		0,05		0,11		0,22		0,01		<0,01		0,01
<i>r</i> ²		0,22		0,31		0,25		0,19		0,42		0,65		0,44
<i>s</i> _{y,x} %		4,12		6,22		4,31		10,3		3,82		2,74		3,24
Intercept	-0,9686	0,75	4,2617	0,32	1,7198	0,41	-3,6800	0,30	-0,9760	0,50	1,2144	0,45	0,2263	0,91
OS ^e	0,0041	0,12	0	0,99	0,0006	0,73	0,0044	0,15	0,0027	0,03	0,0015	0,28	0,0025	0,18
XP ^e	0,0016	0,54	-0,0034	0,37	-0,0010	0,57	0,0041	0,19	0,0004	0,75	-0,0006	0,66	0,0006	0,75
XF ^e	0,0014	0,46	-0,0041	0,14	-0,0007	0,60	0,0022	0,33	0,0004	0,63	-0,0013	0,19	-0,0001	0,93
XL ^e	-0,0036	0,43	0,0090	0,17	0,0024	0,44	0,0003	0,96	0	0,99	0,0016	0,51	0,0023	0,48
<i>P</i> _{global}		0,41		0,06		0,49		0,51		0,03		<0,01		0,10
<i>r</i> ²		0,18		0,36		0,16		0,15		0,41		0,53		0,32
<i>s</i> _{y,x} %		4,33		6,13		4,69		10,8		3,94		3,25		3,65
Intercept	3,4871	<0,01	2,9025	<0,01	2,0069	<0,01	1,4106	<0,01	1,8280	<0,01	2,2918	<0,01	2,7158	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0019	0,81	0,0151	0,23	0,0013	0,82	0,0050	0,59	-0,0008	0,84	0,0059	0,23	0,0033	0,56
XP _{abg} ^g	-0,0055	0,09	-0,0062	0,22	0	0,98	-0,0014	0,70	-0,0035	0,05	-0,0054	0,01	-0,0048	0,05
XF _{abg} ^h	0,0017	0,73	-0,0039	0,63	-0,0011	0,75	-0,0038	0,52	0,0007	0,80	-0,0023	0,45	-0,0007	0,85
<i>P</i> _{global}		0,34		0,44		0,99		0,87		0,23		0,05		0,24
<i>r</i> ²		0,15		0,12		0,01		0,04		0,19		0,31		0,19
<i>s</i> _{y,x} %		4,29		7,01		4,97		11,3		4,52		3,84		3,90

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Mittelwert ^a	Methionin	
			P=
Intercept		1,8275	<0,01
GS ^b	0,15	0,0027	0,03
MS ^c	0,55	0,0023	0,19
GF ^d	0,54	-0,0001	0,94
<i>P</i> _{global}	0,09		0,01
<i>r</i> ²			0,42
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			4,18
Intercept	0,50	4,8996	0,02
OS ^e	0,42	-0,0031	0,08
XP ^e	0,56	-0,0008	0,65
XF ^e	0,44	-0,0005	0,70
XL ^e	0,54	0,0037	0,22
<i>P</i> _{global}	0,24		0,10
<i>r</i> ²			0,32
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			4,61
Intercept		1,6430	<0,01
OS _{abg} ^f	0,51	0,0021	0,68
XP _{abg} ^g	0,24	0,0054	0,01
XF _{abg} ^h	0,63	0,0008	0,81
<i>P</i> _{global}	0,38		0,07
<i>r</i> ²			0,29
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			4,60

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Tabelle 48: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäuremusters des Proteins der LAB ($n = 24$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,1769	<0,01	2,4686	<0,01	5,1578	<0,01	0,4683	<0,01	5,6583	<0,01	2,1524	<0,01	2,2490	<0,01
GS ^b	-0,0014	0,49	0,0034	0,17	-0,0006	0,80	0,0013	0,05	-0,0006	0,86	-0,0002	0,89	-0,0001	0,93
MS ^c	0,0056	0,07	-0,0005	0,89	0,0035	0,30	0,0008	0,34	0,0038	0,43	0,0015	0,38	-0,0001	0,92
GF ^d	0,0004	0,91	-0,0061	0,12	-0,0054	0,15	-0,0017	0,09	-0,0052	0,33	-0,0005	0,79	-0,0011	0,44
P_{global}		0,05		0,24		0,05		0,22		0,26		0,63		0,57
r^2		0,31		0,19		0,31		0,19		0,18		0,08		0,09
$s_{y,x}\%$		4,37		7,99		3,38		10,5		4,33		3,66		2,82
Intercept	3,7598	0,18	3,8091	0,27	6,5297	0,07	-0,6128	0,48	9,1590	0,08	3,7476	0,03	2,8003	0,02
OS ^e	0,0008	0,71	-0,0016	0,57	-0,0001	0,96	0,0008	0,31	-0,0020	0,64	-0,0009	0,50	-0,0003	0,78
XP ^e	-0,0054	0,03	0,0010	0,75	-0,0040	0,20	0,0009	0,25	-0,0056	0,21	-0,0025	0,09	-0,0005	0,57
XF ^e	-0,0022	0,21	0,0002	0,91	-0,0037	0,10	0,0011	0,05	-0,0050	0,12	-0,0015	0,16	-0,0007	0,31
XL ^e	0,0037	0,37	-0,0124	0,02	-0,0041	0,44	-0,0018	0,18	-0,0010	0,89	-0,0003	0,91	-0,0049	0,01
P_{global}		0,01		0,08		0,06		0,10		0,27		0,32		0,02
r^2		0,51		0,34		0,36		0,32		0,23		0,21		0,43
$s_{y,x}\%$		3,78		7,37		3,34		9,90		4,30		3,48		2,29
Intercept	3,7240	<0,01	1,9613	<0,01	5,0021	<0,01	0,4212	<0,01	5,6005	<0,01	2,3739	<0,01	2,2389	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0092	0,33	0,0059	0,55	0,0041	0,69	-0,0026	0,25	0,0058	0,65	-0,0038	0,39	0,0010	0,75
XP _{abg} ^g	-0,0019	0,62	0,0013	0,74	-0,0068	0,10	0,0007	0,44	-0,0062	0,23	-0,0010	0,56	-0,0017	0,20
XF _{abg} ^h	0,0020	0,74	-0,0086	0,18	-0,0041	0,53	0,0034	0,02	-0,0135	0,11	-0,0016	0,57	-0,0028	0,18
P_{global}		0,70		0,54		0,36		0,10		0,25		0,61		0,32
r^2		0,07		0,10		0,15		0,26		0,18		0,09		0,16
$s_{y,x}\%$		5,09		8,41		3,77		10,1		4,33		3,65		2,72

^a Mittelwert der P-Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,3416	<0,01	3,5954	<0,01	2,2409	<0,01	1,4334	<0,01	1,6877	<0,01	2,1723	<0,01	2,4983	<0,01
GS ^b	0,0024	0,14	-0,0018	0,56	0,0051	0,02	-0,0003	0,83	0,0015	0,12	0,0004	0,68	-0,0025	0,06
MS ^c	0,0033	0,16	-0,0044	0,31	0,0009	0,76	0,0025	0,26	0,0019	0,18	0,0021	0,20	0,0009	0,63
GF ^d	-0,0050	0,06	-0,0030	0,53	-0,0059	0,09	-0,0005	0,83	-0,0027	0,08	-0,0015	0,39	0,0014	0,50
<i>P_{global}</i>		0,28		0,20		0,07		0,44		0,34		0,48		0,04
<i>r</i> ²		0,17		0,20		0,29		0,12		0,15		0,11		0,33
<i>s_{y,x}</i> %		3,58		6,52		7,34		7,20		4,17		3,55		3,56
Intercept	7,1184	<0,01	6,4635	0,10	5,7725	0,04	4,1385	0,08	3,0792	0,05	4,5609	<0,01	3,4668	0,08
OS ^e	-0,0029	0,13	-0,0016	0,62	-0,0037	0,12	-0,0020	0,30	-0,0011	0,38	-0,0015	0,21	0	0,99
XP ^e	-0,0034	0,09	-0,0031	0,36	0	1,00	-0,0028	0,17	-0,0015	0,27	-0,0033	0,01	-0,0027	0,12
XF ^e	-0,0024	0,09	-0,0036	0,14	-0,0002	0,88	-0,0025	0,09	-0,0007	0,43	-0,0020	0,03	-0,0022	0,08
XL ^e	-0,0070	0,04	-0,0167	0,01	-0,0111	0,01	0,0033	0,33	-0,0021	0,35	-0,0029	0,18	0,0001	0,96
<i>P_{global}</i>		0,06		0,01		0,01		0,40		0,57		0,03		0,04
<i>r</i> ²		0,36		0,47		0,51		0,18		0,14		0,41		0,39
<i>s_{y,x}</i> %		3,21		5,44		6,28		7,14		4,32		2,97		3,47
Intercept	3,2382	<0,01	3,7378	<0,01	1,8386	<0,01	1,4705	<0,01	1,7281	<0,01	2,4421	<0,01	2,6987	<0,01
OS _{abg} ^f	0,0003	0,97	0,0032	0,75	0,0021	0,82	0,0010	0,87	-0,0027	0,48	-0,0050	0,22	0,0012	0,84
XP _{abg} ^g	-0,0006	0,81	-0,0092	0,03	0,0027	0,47	-0,0006	0,81	0,0002	0,91	-0,0013	0,44	-0,0025	0,27
XF _{abg} ^h	-0,0051	0,23	-0,0165	0,02	-0,0028	0,64	-0,0023	0,56	-0,0023	0,35	-0,0032	0,22	-0,0057	0,12
<i>P_{global}</i>		0,65		0,02		0,84		0,94		0,63		0,20		0,28
<i>r</i> ²		0,08		0,39		0,04		0,02		0,08		0,20		0,17
<i>s_{y,x}</i> %		3,77		5,73		8,54		7,62		4,34		3,37		3,96

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Mittelwert ^a	Methionin	
			P=
Intercept		1,9078	<0,01
GS ^b	0,47	-0,0013	0,39
MS ^c	0,41	-0,0028	0,22
GF ^d	0,38	0,0033	0,19
<i>P</i> _{global}	0,28		0,48
<i>r</i> ²			0,11
<i>s</i> _{y,x} %			5,26
Intercept		-0,2228	0,92
OS ^e	0,52	0,0015	0,45
XP ^e	0,29	0,0028	0,18
XF ^e	0,26	0,0015	0,32
XL ^e	0,34	0,0025	0,49
<i>P</i> _{global}	0,14		0,55
<i>r</i> ²			0,14
<i>s</i> _{y,x} %			5,32
Intercept		1,7882	<0,01
OS _{abg} ^f	0,61	0,0039	0,52
XP _{abg} ^g	0,47	0,0001	0,98
XF _{abg} ^h	0,32	0,0051	0,18
<i>P</i> _{global}	0,46		0,45
<i>r</i> ²			0,12
<i>s</i> _{y,x} %			5,24

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Tabelle 49: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäuremusters des Proteins der LAB bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 16$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,0584	<0,01	2,5350	<0,01	5,1830	<0,01	0,4855	<0,01	5,4168	<0,01	2,1132	<0,01	2,2179	<0,01
GS ^b	-0,0013	0,68	0,0038	0,32	0,0014	0,62	0,0011	0,14	-0,0002	0,96	-0,0001	0,93	-0,0009	0,47
MS ^c	0,0037	0,37	0,0023	0,65	0,0028	0,46	0,0004	0,66	0,0025	0,68	0,0002	0,91	-0,0011	0,53
GF ^d	0,0023	0,62	-0,0078	0,18	-0,0072	0,11	-0,0015	0,17	-0,0025	0,71	0,0002	0,95	0,0001	0,97
P_{global}		0,43		0,55		0,21		0,38		0,84		1,00		0,68
r^2		0,20		0,15		0,31		0,22		0,07		0,01		0,11
$s_{y,x}\%$		4,80		9,03		3,07		8,49		4,40		3,63		3,08
Intercept	4,5768	0,09	6,0391	0,25	8,0338	0,02	-0,6657	0,42	11,9730	0,03	3,9310	0,02	2,9106	0,08
OS ^e	0,0002	0,92	-0,0035	0,42	-0,0014	0,58	0,0008	0,24	-0,0041	0,35	-0,0011	0,42	-0,0004	0,78
XP ^e	-0,0067	0,01	-0,0007	0,88	-0,0054	0,06	0,0008	0,26	-0,0097	0,04	-0,0031	0,04	-0,0007	0,61
XF ^e	-0,0021	0,17	-0,0010	0,74	-0,0035	0,07	0,0011	0,04	-0,0055	0,08	-0,0012	0,19	-0,0007	0,42
XL ^e	0,0018	0,61	-0,0103	0,17	-0,0096	0,04	-0,0015	0,22	-0,0044	0,54	-0,0018	0,40	-0,0046	0,05
P_{global}		<0,01		0,46		0,02		0,09		0,13		0,08		0,16
r^2		0,75		0,26		0,63		0,49		0,45		0,50		0,42
$s_{y,x}\%$		2,82		8,83		2,35		7,14		3,53		2,68		2,60
Intercept	4,1100	<0,01	2,0212	0,01	5,4165	<0,01	0,4210	<0,01	6,5636	<0,01	2,6125	<0,01	2,3764	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0180	0,11	0,0060	0,66	-0,0061	0,57	-0,0025	0,27	-0,0169	0,17	-0,0090	0,05	-0,0007	0,86
XP _{abg} ^g	-0,0009	0,84	0,0004	0,94	-0,0066	0,17	0,0013	0,21	-0,0051	0,32	-0,0014	0,44	-0,0025	0,17
XF _{abg} ^h	-0,0026	0,69	-0,0083	0,31	-0,0073	0,26	0,0027	0,06	-0,0201	0,01	-0,0032	0,22	-0,0043	0,10
P_{global}		0,41		0,72		0,36		0,15		0,04		0,13		0,24
r^2		0,21		0,10		0,23		0,35		0,49		0,37		0,28
$s_{y,x}\%$		4,78		9,31		3,24		7,75		3,26		2,90		2,77

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,3366	<0,01	3,6185	<0,01	2,1602	<0,01	1,4187	<0,01	1,7086	<0,01	2,1813	<0,01	2,3985	<0,01
GS ^b	0,0022	0,36	-0,0002	0,96	0,0044	0,08	-0,0016	0,34	0,0023	0,10	0,0011	0,47	-0,0024	0,21
MS ^c	0,0036	0,27	0,0005	0,93	0,0025	0,43	-0,0001	0,95	0,0019	0,29	0,0016	0,44	0,0008	0,75
GF ^d	-0,0048	0,20	-0,0055	0,42	-0,0049	0,19	0,0008	0,77	-0,0035	0,10	-0,0020	0,40	0,0023	0,41
<i>P</i> _{global}		0,54		0,54		0,29		0,55		0,35		0,82		0,27
<i>r</i> ²		0,16		0,16		0,26		0,16		0,23		0,07		0,27
<i>s</i> _{y,x} %		3,96		7,15		6,02		6,09		4,32		3,70		3,79
Intercept	8,8289	0,01	12,4681	0,01	8,6700	<0,01	2,2715	0,30	3,8732	0,05	5,2942	<0,01	4,8703	0,03
OS ^e	-0,0042	0,09	-0,0064	0,08	-0,0057	0,01	-0,0002	0,92	-0,0018	0,25	-0,0022	0,06	-0,0011	0,60
XP ^e	-0,0054	0,04	-0,0086	0,03	-0,0038	0,06	-0,0022	0,25	-0,0022	0,18	-0,0035	0,01	-0,0045	0,02
XF ^e	-0,0033	0,05	-0,0068	0,01	-0,0021	0,10	-0,0017	0,19	-0,0008	0,44	-0,0018	0,03	-0,0028	0,03
XL ^e	-0,0066	0,10	-0,0147	0,02	-0,0102	0,01	0,0010	0,75	-0,0028	0,28	-0,0051	0,01	-0,0009	0,76
<i>P</i> _{global}		0,08		0,01		0,01		0,29		0,34		0,01		0,03
<i>r</i> ²		0,50		0,67		0,71		0,34		0,32		0,70		0,60
<i>s</i> _{y,x} %		3,18		4,64		3,94		5,62		4,25		2,19		2,95
Intercept	3,4712	<0,01	4,3618	<0,01	2,2293	<0,01	1,6762	<0,01	1,8498	<0,01	2,5874	<0,01	3,0749	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0034	0,69	-0,0076	0,54	-0,0053	0,56	-0,0026	0,66	-0,0055	0,26	-0,0084	0,07	-0,0068	0,26
XP _{abg} ^g	-0,0010	0,78	-0,0116	0,04	0,0021	0,58	-0,0015	0,55	0,0005	0,82	-0,0010	0,60	-0,0032	0,23
XF _{abg} ^h	-0,0080	0,12	-0,0194	0,02	-0,0048	0,38	-0,0049	0,18	-0,0037	0,20	-0,0048	0,08	-0,0081	0,03
<i>P</i> _{global}		0,43		0,04		0,65		0,50		0,37		0,10		0,09
<i>r</i> ²		0,20		0,49		0,12		0,17		0,22		0,40		0,40
<i>s</i> _{y,x} %		3,86		5,56		6,56		6,03		4,34		2,98		3,43

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Mittelwert ^a	Methionin	
			P=
Intercept		1,8831	<0,01
GS ^b	0,47	-0,0026	0,29
MS ^c	0,59	-0,0040	0,24
GF ^d	0,44	0,0049	0,20
<i>P</i> _{global}	0,53		0,55
<i>r</i> ²			0,16
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			6,11
Intercept		-1,4788	0,65
OS ^e	0,41	0,0025	0,37
XP ^e	0,18	0,0045	0,12
XF ^e	0,18	0,0018	0,33
XL ^e	0,28	0,0035	0,45
<i>P</i> _{global}	0,13		0,35
<i>r</i> ²			0,31
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			5,77
Intercept		1,5688	<0,01
OS _{abg} ^f	0,41	0,0096	0,26
XP _{abg} ^g	0,48	-0,0005	0,88
XF _{abg} ^h	0,19	0,0064	0,21
<i>P</i> _{global}	0,30		0,39
<i>r</i> ²			0,21
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			5,89

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Tabelle 50: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der LAB bei "Hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 8$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,4463	<0,01	2,2910	<0,01	5,2466	<0,01	0,4024	0,02	6,2573	<0,01	2,2814	<0,01	2,2997	<0,01
GS ^b	-0,0013	0,28	0,0025	0,16	-0,0025	0,31	0,0013	0,27	0,0002	0,97	0,0001	0,86	0,0010	0,49
MS ^c	0,0127	<0,01	-0,0086	0,03	0,0090	0,08	0,0019	0,36	0,0098	0,21	0,0054	0,02	0,0015	0,56
GF ^d	-0,0053	0,04	-0,0012	0,68	-0,0062	0,18	-0,0016	0,42	-0,0139	0,10	-0,0030	0,09	-0,0028	0,29
P_{global}		<0,01		0,03		0,04		0,62		0,12		0,04		0,70
r^2		0,96		0,87		0,85		0,33		0,74		0,86		0,28
$s_{y.x}\%$		1,41		3,33		2,06		12,8		3,22		1,66		2,89
Intercept	8,8384	0,46	-1,1919	0,79	7,7634	0,54	3,5881	0,26	16,0239	0,30	5,2091	0,40	3,7515	0,35
OS ^e	-0,0041	0,68	0,0029	0,48	-0,0019	0,86	-0,0032	0,25	-0,0097	0,45	-0,0024	0,65	-0,0011	0,75
XP ^e	-0,0060	0,48	0,0043	0,24	-0,0028	0,75	-0,0008	0,68	-0,0030	0,77	-0,0025	0,56	-0,0010	0,70
XF ^e	-0,0062	0,44	0,0031	0,34	-0,0053	0,53	-0,0015	0,45	-0,0104	0,31	-0,0028	0,49	-0,0015	0,56
XL ^e	0,0159	0,44	-0,0211	0,06	0,0117	0,58	0,0044	0,39	0,0234	0,36	0,0048	0,63	-0,0046	0,48
P_{global}		0,54		0,08		0,50		0,53		0,36		0,84		0,59
r^2		0,56		0,89		0,59		0,57		0,69		0,31		0,52
$s_{y.x}\%$		5,40		3,44		3,92		11,9		4,06		4,20		2,72
Intercept	3,9616	<0,01	1,3084	0,03	5,3086	<0,01	0,4132	0,14	5,1349	<0,01	2,4127	<0,01	2,1446	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0193	0,22	0,0245	0,11	-0,0071	0,58	-0,0027	0,69	0,0158	0,36	-0,0065	0,41	0,0016	0,86
XP _{abg} ^g	-0,0126	0,05	0,0075	0,13	-0,0175	0,01	-0,0003	0,89	-0,0220	0,01	-0,0048	0,11	-0,0016	0,61
XF _{abg} ^h	0,0437	0,03	-0,0364	0,03	0,0398	0,02	0,0052	0,45	0,0366	0,07	0,0158	0,08	0,0007	0,93
P_{global}		0,09		0,13		0,03		0,84		0,03		0,22		0,94
r^2		0,77		0,72		0,86		0,17		0,86		0,63		0,08
$s_{y.x}\%$		3,34		4,77		1,97		14,2		2,32		2,66		3,25

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,3351	<0,01	3,5234	<0,01	2,3529	0,01	1,5213	<0,01	1,6731	<0,01	2,1928	<0,01	2,7497	<0,01
GS ^b	0,0026	0,39	-0,0037	0,24	0,0059	0,28	0,0016	0,54	0,0006	0,71	-0,0003	0,85	-0,0022	0,05
MS ^c	0,0023	0,64	-0,0168	0,02	-0,0043	0,63	0,0078	0,13	0,0032	0,27	0,0046	0,11	0,0021	0,21
GF ^d	-0,0048	0,36	0,0028	0,59	-0,0063	0,48	-0,0035	0,44	-0,0024	0,41	-0,0020	0,44	-0,0018	0,29
P_{global}		0,78		0,07		0,45		0,42		0,60		0,23		0,02
r^2		0,22		0,80		0,45		0,47		0,34		0,63		0,90
$s_{y,x}\%$		3,98		4,00		11,1		7,34		4,25		2,86		1,47
Intercept	8,6690	0,28	-8,9054	0,50	9,1237	0,25	11,2853	0,19	3,5746	0,54	5,9443	0,28	-1,3407	0,79
OS ^e	-0,0051	0,44	0,0107	0,37	-0,0088	0,21	-0,0095	0,20	-0,0016	0,76	-0,0026	0,57	0,0036	0,43
XP ^e	-0,0013	0,80	0,0107	0,29	0,0048	0,37	-0,0043	0,43	-0,0012	0,76	-0,0044	0,27	0,0024	0,52
XF ^e	-0,0032	0,52	0,0066	0,46	-0,0012	0,79	-0,0058	0,29	-0,0016	0,67	-0,0038	0,30	0,0009	0,78
XL ^e	0,0006	0,96	-0,0266	0,27	0,0080	0,51	0,0227	0,14	-0,0003	0,98	0,0019	0,83	0,0001	0,99
P_{global}		0,61		0,45		0,08		0,51		0,97		0,56		0,35
r^2		0,51		0,62		0,89		0,58		0,13		0,55		0,69
$s_{y,x}\%$		3,66		6,40		5,66		7,57		5,65		3,64		3,00
Intercept	3,0801	0,01	2,4049	0,03	0,9266	0,45	1,9027	0,01	1,7765	<0,01	2,5872	<0,01	2,5725	<0,01
OS _{abg} ^f	0,0018	0,92	0,0381	0,14	0,0271	0,44	-0,0151	0,19	-0,0050	0,58	-0,0105	0,22	0,0024	0,80
XP _{abg} ^g	-0,0025	0,67	-0,0044	0,55	0,0046	0,69	-0,0058	0,14	-0,0030	0,34	-0,0056	0,08	-0,0068	0,08
XF _{abg} ^h	0,0041	0,81	-0,0397	0,12	-0,0183	0,59	0,0297	0,03	0,0096	0,30	0,0148	0,10	0,0132	0,20
P_{global}		0,96		0,21		0,83		0,13		0,65		0,20		0,22
r^2		0,06		0,64		0,18		0,72		0,31		0,65		0,64
$s_{y,x}\%$		4,36		5,39		13,6		5,33		4,36		2,76		2,83

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Mittelwert ^a	Methionin	
			P=
Intercept		1,9080	<0,01
GS ^b	0,46	0,0001	0,97
MS ^c	0,25	-0,0013	0,63
GF ^d	0,34	0,0017	0,52
<i>P_{global}</i>	0,32		0,72
<i>r</i> ²			0,26
<i>s_{y,x}</i> %			3,19
Intercept		-0,1732	0,97
OS ^e	0,51	0,0020	0,63
XP ^e	0,54	0,0007	0,83
XF ^e	0,50	0,0018	0,56
XL ^e	0,54	-0,0024	0,76
<i>P_{global}</i>	0,50		0,84
<i>r</i> ²			0,31
<i>s_{y,x}</i> %			3,56
Intercept		1,9140	<0,01
OS _{abg} ^f	0,47	0,0003	0,96
XP _{abg} ^g	0,31	0,0043	0,10
XF _{abg} ^h	0,27	-0,0061	0,36
<i>P_{global}</i>	0,39		0,35
<i>r</i> ²			0,53
<i>s_{y,x}</i> %			2,56

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Tabelle 51: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der SAB ($n = 24$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,0680	<0,01	3,1743	<0,01	6,5883	<0,01	0,6129	<0,01	8,9206	<0,01	2,4332	<0,01	2,5577	<0,01
GS ^b	-0,0027	0,31	0,0005	0,91	0,0008	0,86	0,0016	0,26	-0,0009	0,90	0,0003	0,88	0,0012	0,63
MS ^c	0,0042	0,27	0,0028	0,64	0,0012	0,85	0,0006	0,78	0,0052	0,61	0,0024	0,43	0	0,99
GF ^d	0,0034	0,42	-0,0130	0,07	-0,0210	0,01	-0,0025	0,27	-0,0376	<0,01	-0,0027	0,43	-0,0038	0,33
P_{global}		0,14		0,05		<0,01		0,62		<0,01		0,61		0,69
r^2		0,23		0,32		0,54		0,08		0,63		0,08		0,07
$s_{y,x}\%$		5,49		13,2		6,04		19,4		8,00		6,35		7,43
Intercept	8,1335	0,03	1,4638	0,82	6,4778	0,36	-1,2144	0,57	7,2570	0,50	6,3407	0,04	7,9920	0,02
OS ^e	-0,0028	0,37	0,0012	0,83	0	0,99	0,0012	0,51	0,0017	0,85	-0,0031	0,23	-0,0047	0,09
XP ^e	-0,0083	0,02	0,0033	0,55	0,0012	0,84	0,0019	0,32	0,0023	0,80	-0,0032	0,23	-0,0028	0,31
XF ^e	-0,0051	0,03	-0,0030	0,46	-0,0064	0,15	0,0016	0,24	-0,0130	0,06	-0,0036	0,06	-0,0044	0,03
XL ^e	0,0061	0,27	-0,0059	0,54	-0,0105	0,33	-0,0008	0,79	-0,0099	0,54	0,0030	0,51	-0,0011	0,82
P_{global}		0,04		0,05		0,01		0,74		<0,01		0,27		0,05
r^2		0,40		0,37		0,51		0,09		0,65		0,23		0,38
$s_{y,x}\%$		4,98		13,0		6,39		19,8		7,96		5,97		6,24
Intercept	3,7977	<0,01	1,0452	0,12	4,2771	<0,01	0,3741	0,11	3,4373	0,01	2,1577	<0,01	2,0387	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0051	0,65	0,0475	0,01	0,0493	0,01	0,0013	0,82	0,1157	<0,01	0,0096	0,23	0,0156	0,08
XP _{abg} ^g	-0,0053	0,24	-0,0145	0,03	-0,0240	<0,01	0,0003	0,90	-0,0379	0,01	-0,0039	0,22	-0,0046	0,18
XF _{abg} ^h	-0,0013	0,86	-0,0074	0,45	-0,0151	0,20	0,0031	0,37	-0,0269	0,18	-0,0048	0,34	-0,0100	0,07
P_{global}		0,59		0,01		0,01		0,79		<0,01		0,35		0,09
r^2		0,09		0,40		0,46		0,05		0,53		0,15		0,27
$s_{y,x}\%$		5,98		12,3		6,54		19,8		9,01		6,12		6,57

^a Mittelwert der P-Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	4,0402	<0,01	3,7847	<0,01	2,6099	<0,01	2,4459	<0,01	2,4268	<0,01	2,3531	<0,01	2,8435	<0,01
GS ^b	0,0011	0,77	-0,0049	0,15	0,0040	0,16	-0,0040	0,23	0,0015	0,51	-0,0013	0,47	0,0001	0,97
MS ^c	0,0067	0,22	-0,0031	0,52	0,0062	0,13	-0,0015	0,74	0,0025	0,43	0	0,98	0,0013	0,74
GF ^d	-0,0088	0,15	-0,0049	0,35	-0,0085	0,06	-0,0052	0,32	-0,0093	0,01	-0,0013	0,63	-0,0019	0,66
<i>P_{global}</i>		0,17		0,01		0,26		0,02		0,02		0,31		0,90
<i>r</i> ²		0,22		0,43		0,18		0,38		0,40		0,16		0,03
<i>s_{y.x}</i> ^o		7,36		7,29		8,58		12,2		8,43		5,42		6,88
Intercept	9,4805	0,09	0,1907	0,97	3,5645	0,39	-1,0333	0,85	1,9182	0,59	4,4008	0,09	10,8254	<0,01
OS ^e	-0,0044	0,34	0,0043	0,27	-0,0018	0,61	0,0033	0,49	-0,0001	0,98	-0,0013	0,53	-0,0063	0,03
XP ^e	-0,0034	0,48	0,0004	0,93	0,0029	0,42	0,0012	0,81	0,0020	0,53	-0,0026	0,25	-0,0057	0,05
XF ^e	-0,0063	0,07	-0,0033	0,25	-0,0005	0,85	-0,0017	0,64	-0,0017	0,45	-0,0028	0,08	-0,0062	0,01
XL ^e	-0,0011	0,90	-0,0096	0,17	-0,0019	0,76	0	1,00	0	0,99	0,0014	0,71	-0,0010	0,83
<i>P_{global}</i>		0,09		<0,01		0,20		0,24		0,07		0,17		0,02
<i>r</i> ²		0,34		0,56		0,26		0,24		0,35		0,27		0,43
<i>s_{y.x}</i> ^o		6,94		6,59		8,36		13,9		8,99		5,17		5,41
Intercept	2,5671	<0,01	3,0182	<0,01	0,9691	0,02	2,0170	<0,01	1,1447	0,01	2,3831	<0,01	2,6379	<0,01
OS _{abg} ^f	0,0348	0,02	0,0224	0,07	0,0289	0,01	0,0137	0,32	0,0257	0,01	0,0044	0,47	0,0126	0,17
XP _{abg} ^g	-0,0061	0,29	-0,0201	<0,01	0,0013	0,73	-0,0147	0,01	-0,0065	0,08	-0,0065	0,01	-0,0049	0,19
XF _{abg} ^h	-0,0095	0,30	0,0030	0,70	0,0022	0,72	-0,0055	0,52	-0,0061	0,28	-0,0047	0,23	-0,0122	0,04
<i>P_{global}</i>		0,10		<0,01		0,03		0,07		0,03		0,05		0,09
<i>r</i> ²		0,27		0,50		0,35		0,30		0,36		0,32		0,27
<i>s_{y.x}</i> ^o		7,12		6,78		7,61		13,1		8,69		4,89		5,97

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Mittelwert ^a	Methionin	
			P=
Intercept		1,6615	<0,01
GS ^b	0,57	0,0002	0,93
MS ^c	0,60	-0,0020	0,43
GF ^d	0,28	0,0044	0,14
<i>P</i> _{global}	0,32		0,09
<i>r</i> ²			0,28
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			6,37
Intercept		-0,1140	0,97
OS ^e	0,51	0,0012	0,60
XP ^e	0,47	0,0024	0,32
XF ^e	0,24	0,0031	0,08
XL ^e	0,65	-0,0018	0,65
<i>P</i> _{global}	0,16		0,11
<i>r</i> ²			0,32
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			6,34
Intercept		2,0926	<0,01
OS _{abg} ^f	0,22	-0,0108	0,14
XP _{abg} ^g	0,24	0,0057	0,05
XF _{abg} ^h	0,38	0,0035	0,44
<i>P</i> _{global}	0,18		0,14
<i>r</i> ²			0,24
<i>s</i> _{<i>y,x</i>} %			6,55

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Tabelle 52: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäuremusters des Proteins der SAB bei "niedriger" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 16$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	2,8869	<0,01	3,1158	<0,01	6,3307	<0,01	0,4867	<0,01	8,2677	<0,01	2,2131	<0,01	2,3580	<0,01
GS ^b	-0,0047	0,17	-0,0015	0,81	-0,0033	0,56	-0,0001	0,93	-0,0083	0,42	-0,0019	0,45	-0,0014	0,65
MS ^c	0,0002	0,97	-0,0021	0,81	-0,0068	0,37	-0,0009	0,71	-0,0062	0,65	-0,0019	0,56	-0,0035	0,38
GF ^d	0,0085	0,11	-0,0094	0,35	-0,0131	0,14	0,0009	0,75	-0,0223	0,16	0,0028	0,45	0,0010	0,82
P_{global}		0,21		0,30		0,02		0,95		0,02		0,88		0,81
r^2		0,30		0,26		0,54		0,03		0,55		0,05		0,08
$s_{y,x}\%$		5,01		14,8		5,72		17,4		8,58		5,45		6,69
Intercept	9,7043	0,06	1,0417	0,90	5,8814	0,47	-0,7389	0,76	10,2281	0,43	7,0836	0,04	6,7539	0,03
OS ^e	-0,0044	0,28	0,0013	0,85	0	1,00	0,0008	0,68	-0,0008	0,94	-0,0041	0,14	-0,0041	0,11
XP ^e	-0,0082	0,06	0,0048	0,51	0,0032	0,64	0,0010	0,61	-0,0012	0,92	-0,0028	0,30	0	0,99
XF ^e	-0,0051	0,08	-0,0022	0,65	-0,0043	0,36	0,0012	0,39	-0,0131	0,10	-0,0030	0,11	-0,0025	0,16
XL ^e	0,0045	0,49	-0,0093	0,44	-0,0131	0,26	0,0017	0,62	-0,0130	0,48	0,0014	0,75	-0,0038	0,35
P_{global}		0,29		0,16		0,05		0,72		0,01		0,39		0,03
r^2		0,34		0,42		0,55		0,16		0,65		0,29		0,60
$s_{y,x}\%$		5,08		13,6		5,90		16,8		7,82		4,92		4,62
Intercept	4,1146	<0,01	0,9896	0,31	4,9814	<0,01	0,6362	0,05	5,4456	0,01	2,4164	<0,01	2,0955	<0,01
OS _{abg} ^f	-0,0080	0,53	0,0494	0,03	0,0342	0,13	-0,0028	0,66	0,0757	0,06	0,0045	0,55	0,0136	0,14
XP _{abg} ^g	-0,0065	0,24	-0,0120	0,19	-0,0224	0,03	0	1,00	-0,0392	0,03	-0,0029	0,37	-0,0041	0,29
XF _{abg} ^h	-0,0078	0,30	-0,0123	0,33	-0,0220	0,10	0,0002	0,96	-0,0435	0,06	-0,0091	0,06	-0,0101	0,07
P_{global}		0,45		0,09		0,05		0,97		0,03		0,22		0,12
r^2		0,19		0,41		0,48		0,02		0,52		0,30		0,37
$s_{y,x}\%$		5,39		13,2		6,10		<0,01		8,79		4,68		5,51

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,7053	<0,01	3,5590	<0,01	2,3191	<0,01	2,2836	<0,01	2,2368	<0,01	2,2667	<0,01	2,5734	<0,01
GS ^b	-0,0037	0,50	-0,0079	0,13	0,0018	0,60	-0,0061	0,16	-0,0002	0,94	-0,0021	0,36	-0,0036	0,39
MS ^c	-0,0003	0,97	-0,0072	0,29	0,0046	0,33	-0,0077	0,18	-0,0012	0,75	-0,0026	0,39	-0,0020	0,71
GF ^d	0,0003	0,97	0,0012	0,87	-0,0031	0,56	0,0001	0,99	-0,0048	0,27	0,0012	0,72	0,0045	0,47
P_{global}		0,69		0,14		0,78		0,12		0,26		0,69		0,82
r^2		0,11		0,35		0,08		0,37		0,28		0,11		0,07
$s_{y,x}\%$		7,86		8,10		7,91		11,4		7,90		5,23		7,62
Intercept	10,4690	0,13	3,3020	0,57	5,8450	0,23	1,3378	0,85	2,8044	0,46	5,8493	0,07	11,5041	0,03
OS ^e	-0,0054	0,34	0,0018	0,72	-0,0034	0,40	0,0012	0,84	-0,0010	0,76	-0,0029	0,27	-0,0071	0,10
XP ^e	-0,0034	0,55	-0,0022	0,66	-0,0001	0,97	-0,0005	0,93	0,0015	0,64	-0,0026	0,32	-0,0057	0,17
XF ^e	-0,0061	0,12	-0,0045	0,19	-0,0018	0,50	-0,0019	0,63	-0,0014	0,52	-0,0028	0,12	-0,0060	0,04
XL ^e	-0,0022	0,81	-0,0121	0,16	-0,0020	0,76	-0,0031	0,75	-0,0009	0,87	0,0002	0,96	-0,0007	0,91
P_{global}		0,18		0,03		0,55		0,72		0,22		0,43		0,17
r^2		0,41		0,58		0,23		0,16		0,38		0,27		0,42
$s_{y,x}\%$		6,69		6,79		7,60		13,8		7,64		4,95		6,31
Intercept	2,9922	<0,01	3,9052	<0,01	1,2011	0,03	2,9561	<0,01	1,4917	<0,01	2,6968	<0,01	3,0198	<0,01
OS _{abg} ^f	0,0296	0,09	0,0072	0,65	0,0231	0,05	-0,0044	0,75	0,0178	0,06	-0,0003	0,96	0,0075	0,53
XP _{abg} ^g	-0,0067	0,34	-0,0221	0,01	0,0033	0,47	-0,0145	0,03	-0,0044	0,25	-0,0072	0,01	-0,0067	0,20
XF _{abg} ^h	-0,0178	0,08	-0,0052	0,58	-0,0010	0,87	-0,0157	0,08	-0,0110	0,05	-0,0089	0,02	-0,0166	0,03
P_{global}		0,11		0,04		0,19		0,08		0,06		0,02		0,11
r^2		0,38		0,48		0,32		0,42		0,44		0,54		0,38
$s_{y,x}\%$		6,55		7,25		6,81		11,0		6,92		3,77		6,22

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Mittelwert ^a	Methionin	
			P=
Intercept		1,7600	<0,01
GS ^b	0,50	-0,0001	0,96
MS ^c	0,58	-0,0006	0,85
GF ^d	0,55	0,0027	0,41
<i>P_{global}</i>	0,48		0,61
<i>r</i> ²			0,14
<i>s_{y,x}</i> %			5,72
Intercept		-1,2578	0,66
OS ^e	0,53	0,0026	0,31
XP ^e	0,59	0,0021	0,41
XF ^e	0,28	0,0026	0,14
XL ^e	0,61	-0,0007	0,86
<i>P_{global}</i>	0,28		0,41
<i>r</i> ²			0,28
<i>s_{y,x}</i> %			5,45
Intercept		2,0912	<0,01
OS _{abg} ^f	0,37	-0,0086	0,25
XP _{abg} ^g	0,25	0,0032	0,32
XF _{abg} ^h	0,26	0,0042	0,34
<i>P_{global}</i>	0,18		0,41
<i>r</i> ²			0,21
<i>s_{y,x}</i> %			5,48

^a Mittelwert der P - Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Tabelle 53: Regressionsgleichungen zur Schätzung des Aminosäurenmusters des Proteins der SAB bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer ($n = 8$, Verhältnis der Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin=1, Methionin in g/16 g N)

	Alanin		Arginin		Asparaginsäure		Cystin		Glutaminsäure		Glycin		Isoleucin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	3,3471	<0,01	3,2437	<0,01	7,0872	<0,01	0,7833	<0,01	10,2466	<0,01	2,8351	<0,01	2,9587	<0,01
GS ^b	-0,0003	0,95	0,0027	0,62	0,0062	0,42	0,0036	0,04	0,0100	0,17	0,0033	0,23	0,0049	0,37
MS ^c	0,0149	0,08	0,0152	0,16	0,0203	0,17	0,0031	0,20	0,0311	0,04	0,0135	0,03	0,0076	0,41
GF ^d	-0,0058	0,42	-0,0197	0,09	-0,0362	0,04	-0,0072	0,02	-0,0673	<0,01	-0,0132	0,03	-0,0129	0,19
P_{global}		0,19		0,16		0,09		0,09		0,01		0,06		0,54
r^2		0,66		0,69		0,78		0,77		0,95		0,81		0,39
$s_{y.x}\%$		5,28		10,8		6,42		12,6		4,46		4,83		9,54
Intercept	15,2334	0,25	24,1905	0,25	39,8531	0,14	5,6089	0,25	46,5861	0,23	19,2292	0,14	23,0930	0,09
OS ^e	-0,0084	0,44	-0,0195	0,29	-0,0278	0,22	-0,0050	0,25	-0,0350	0,29	-0,0138	0,21	-0,0161	0,14
XP ^e	-0,0143	0,16	-0,0100	0,47	-0,0217	0,23	-0,0007	0,82	-0,0132	0,59	-0,0123	0,17	-0,0168	0,08
XF ^e	-0,0114	0,21	-0,0182	0,21	-0,0323	0,10	-0,0032	0,32	-0,0410	0,14	-0,0141	0,12	-0,0171	0,07
XL ^e	0,0151	0,47	0,0326	0,34	0,0222	0,57	0,0037	0,63	0,0558	0,36	0,0169	0,38	0,0083	0,63
P_{global}		0,32		0,41		0,19		0,31		0,13		0,37		0,24
r^2		0,71		0,65		0,80		0,72		0,85		0,68		0,77
$s_{y.x}\%$		5,62		13,3		6,97		16,0		8,59		7,34		6,80
Intercept	4,0225	0,02	1,7340	0,19	3,7009	0,11	-0,0678	0,86	1,7739	0,47	2,1973	0,06	1,9241	0,15
OS _{abg} ^f	-0,0197	0,56	0,0243	0,48	0,0620	0,30	0,0112	0,34	0,1496	0,08	0,0054	0,83	0,0196	0,56
XP _{abg} ^g	-0,0099	0,38	-0,0240	0,08	-0,0350	0,11	0	0,99	-0,0571	0,05	-0,0109	0,25	-0,0060	0,59
XF _{abg} ^h	0,0311	0,35	0,0304	0,37	0,0149	0,78	0,0020	0,85	0,0389	0,56	0,0200	0,44	-0,0098	0,76
P_{global}		0,71		0,21		0,25		0,49		0,07		0,56		0,83
r^2		0,26		0,64		0,60		0,42		0,80		0,37		0,18
$s_{y.x}\%$		7,73		11,7		8,58		19,9		8,51		8,84		11,0

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

	Leucin		Lysin		Phenylalanin		Prolin		Serin		Threonin		Valin	
		P=		P=		P=		P=		P=		P=		P=
Intercept	4,6313	<0,01	4,1482	<0,01	3,1398	<0,01	2,7387	<0,01	2,7808	<0,01	2,4973	<0,01	3,3300	<0,01
GS ^b	0,0075	0,04	-0,0011	0,73	0,0071	0,24	-0,0013	0,77	0,0038	0,25	-0,0003	0,91	0,0051	0,11
MS ^c	0,0221	0,01	0,0062	0,30	0,0098	0,34	0,0152	0,10	0,0125	0,06	0,0077	0,11	0,0067	0,19
GF ^d	-0,0250	<0,01	-0,0152	0,04	-0,0183	0,12	-0,0162	0,09	-0,0186	0,02	-0,0066	0,16	-0,0124	0,04
P_{global}		0,01		0,03		0,37		0,06		0,05		0,13		0,17
r^2		0,92		0,86		0,51		0,81		0,84		0,73		0,68
$s_{y,x}\%$		3,24		4,47		10,9		10,5		7,35		4,67		4,21
Intercept	25,6472	0,27	12,5286	0,16	14,5481	0,28	15,1798	0,46	17,3864	0,25	9,0499	0,30	19,2411	0,01
OS ^e	-0,0187	0,35	-0,0086	0,24	-0,0137	0,25	-0,0119	0,51	-0,0137	0,29	-0,0047	0,52	-0,0132	0,02
XP ^e	-0,0127	0,42	-0,0020	0,71	0,0030	0,73	-0,0055	0,70	-0,0064	0,52	-0,0073	0,26	-0,0116	0,02
XF ^e	-0,0180	0,26	-0,0111	0,09	-0,0068	0,43	-0,0135	0,35	-0,0133	0,20	-0,0076	0,22	-0,0131	0,01
XL ^e	0,0220	0,55	0,0257	0,11	0,0280	0,23	0,0324	0,37	0,0203	0,40	0,0051	0,71	0,0050	0,44
P_{global}		0,61		0,05		0,23		0,43		0,35		0,35		0,04
r^2		0,51		0,93		0,77		0,63		0,69		0,69		0,94
$s_{y,x}\%$		9,38		3,75		8,52		17,0		11,7		5,75		2,09
Intercept	2,8052	0,10	2,1411	<0,01	0,7968	0,46	1,5678	0,16	1,0374	0,28	2,2787	0,02	2,3571	0,03
OS _{abg} ^f	0,0187	0,64	0,0389	0,01	0,0333	0,30	0,0180	0,52	0,0266	0,32	0,0027	0,89	0,0149	0,52
XP _{abg} ^g	-0,0138	0,33	-0,0240	<0,01	-0,0056	0,58	-0,0280	0,03	-0,0160	0,11	-0,0096	0,18	-0,0055	0,48
XF _{abg} ^h	0,0333	0,41	0,0220	0,04	0,0177	0,55	0,0441	0,15	0,0213	0,41	0,0124	0,52	-0,0015	0,95
P_{global}		0,48		<0,01		0,32		0,09		0,21		0,52		0,76
r^2		0,43		0,97		0,54		0,77		0,64		0,40		0,23
$s_{y,x}\%$		8,76		2,09		10,5		11,7		10,9		6,90		6,52

^a Mittelwert der P- Werte

^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T

^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T

^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T

^e Angaben in g/kg T

^f abgebaute Organische Substanz in %

^g abgebautes Rohprotein in %

^h abgebaute Rohfaser in %

Fortsetzung Tabelle 53

	Mittelwert ^a	Methionin	
			P=
Intercept		1,4568	0,01
GS ^b	0,42	0,0002	0,94
MS ^c	0,16	-0,0080	0,21
GF ^d	0,11	0,0090	0,17
P_{global}	0,14		0,17
r^2			0,68
$s_{y.x}\%$			7,34
Intercept		-5,8729	0,54
OS ^e	0,29	0,0049	0,57
XP ^e	0,42	0,0088	0,25
XF ^e	0,20	0,0095	0,20
XL ^e	0,44	-0,0016	0,92
P_{global}	0,29		0,28
r^2			0,74
$s_{y.x}\%$			7,65
Intercept		1,9959	0,07
OS _{abg} ^f	0,45	-0,0101	0,69
XP _{abg} ^g	0,30	0,0119	0,20
XF _{abg} ^h	0,51	-0,0086	0,72
P_{global}	0,39		0,52
r^2			0,40
$s_{y.x}\%$			9,98

^a Mittelwert der P- Werte^b Anteil Grassilage in der Ration in % der T^c Anteil Maissilage in der Ration in % der T^d Anteil Grundfutter in der Ration in % der T^e Angaben in g/kg T^f abgebaute Organische Substanz in %^g abgebautes Rohprotein in %^h abgebaute Rohfaser in %**Tabelle 54:** Gruppierung der TMR in Abhängigkeit von der verwendeten Ammoniumkonzentration im Puffer

Parameter	OS_{abg}^a in %		Mikroben- N in mg/d		$XP_{TMR}^{PTB} OS_{abg}^b$ in g/kg		$XP_{ME}^{PTB} ME^c$ in g/MJ	
	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch
NH_4^+								
TMR								
G	6.	6.	6.	4.	6.	2.	6.	3.
K	5.	5.	4.	5.	5.	4.	3.	4.
L	3.	4.	3.	6.	4.	6.	4.	5.
M	1.	1.	1.	3.	2.	5.	2.	6.
N	7.	7.	7.	7.	7.	7.	7.	7.
O	2.	2.	2.	1.	1.	1.	1.	2.
P	4.	3.	5.	2.	3.	3.	5.	1.

^a abgebaute Organische Substanz^b Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz^c Mikrobenprotein je Einheit Umsetzbare Energie

Tabelle 55: Stickstoffbilanzen bei "niedriger" und "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer (Mittelwert $\pm s$)

NH_4^+		niedrig		hoch	
Versuchs- Nummer	TMR	N - Bilanz (mg/d)	% des N- Eintrages	N - Bilanz (mg/d)	% des N- Eintrages
3 ^a	A				
4 ^a	B				
5 ^a	C				
5 ^a und 12	D			-88,3 12,2	-18,1 2,4
6	E	-48,2 7,6	-16,8 2,6		
6	F	-47,3 14,2	-11,8 3,6		
7 und 12	G	-44,0 2,8	-10,9 0,7	+4,8 7,0	+1,1 1,6
7	H	-29,5 2,3	-9,4 0,7		
8	I	-9,7 19,4	-3,3 6,5		
8	J	-39,6 15,9	-11,5 4,6		
9 und 14	K	-146,5 23,4	-37,2 5,9	-59,7 9,1	-13,8 2,1
9 und 14	L	-74,4 21,7	-18,0 5,3	-57,3 12,2	-12,7 2,7
10 ^b	M	-27,7 8,9	-7,3 2,3	-39,9 13,1	-9,6 3,1
11	N	-100,4 8,0	-20,5 1,6	-100,8 33,8	-19,1 6,3
13 und 15	O	-1,5 6,2	-0,5 2,0	-25,2 10,1	-7,1 2,8
13 und 15	P	-44,0 9,8	-11,9 2,6	-40,8 3,6	-9,9 0,9
Mittelwert		-51,0	-13,2	-50,9	-11,1
Minimum		-146,5	-37,2	-100,8	-19,1
Maximum		-1,5	-0,5	4,8	+1,1

^akeine Angaben, da Berechnung aufgrund fehlender Daten nur lückenhaft möglich ist

^bTage 7 bis 12

Abbildungen



Abbildung 7: Dosierpumpe zur Förderung der Pufferlösung, 6 der 8 Ausgänge genutzt



Abbildung 8: Ansicht der 6 Fermenter in einem Wasserbad, Gestänge der Innenbehälter mit Hubmotor verbunden (gefertigt von der Feinmechanikerwerkstatt des Physiologischen Institutes der Tierärztlichen Hochschule Hannover)



Abbildung 9: Saugrohr mit aufgesetztem Filter und Spritze zur Entnahme der flüssigen Phase des Panseninhaltes



Abbildung 10: Sonde zur Entnahme der festen Phase des Panseninhaltes

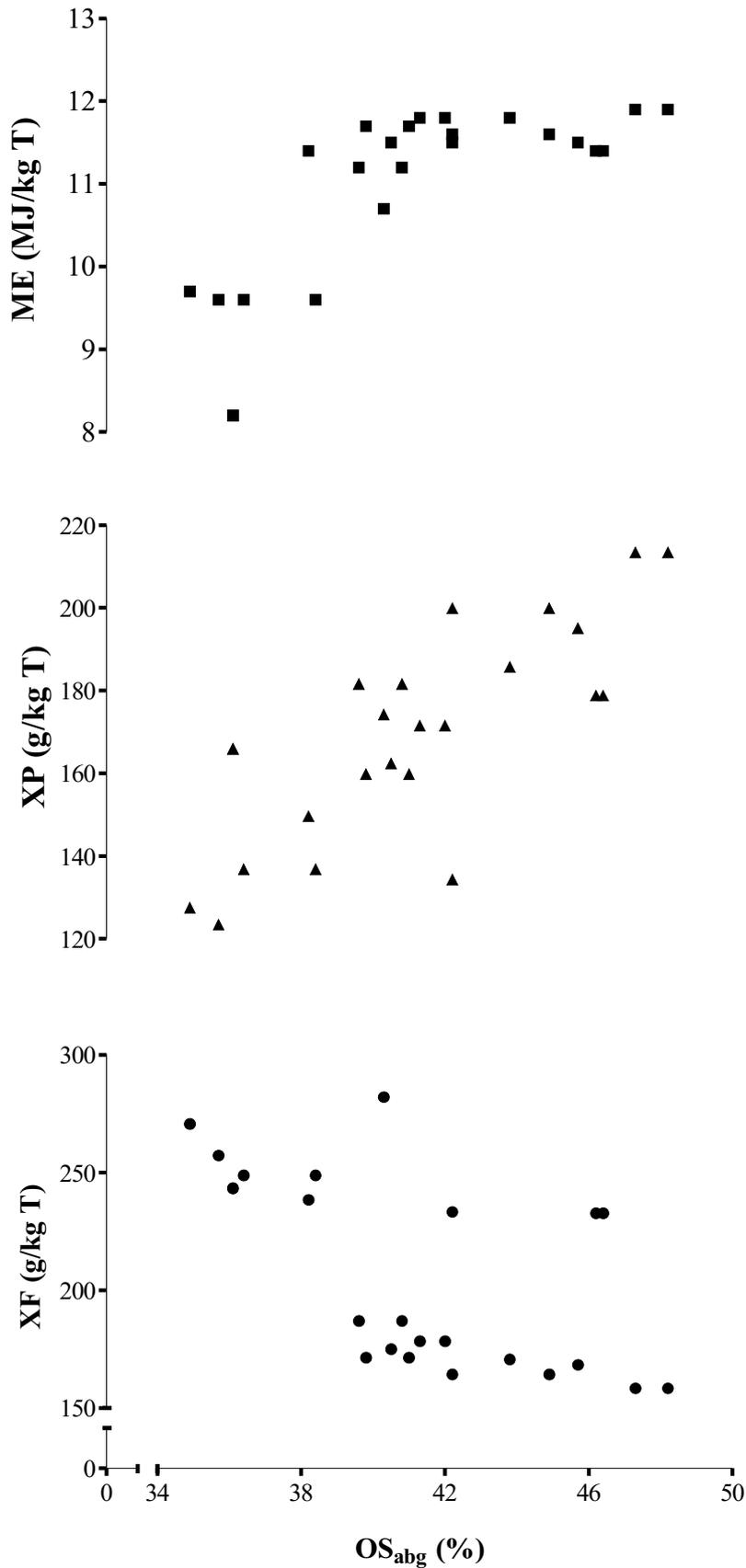
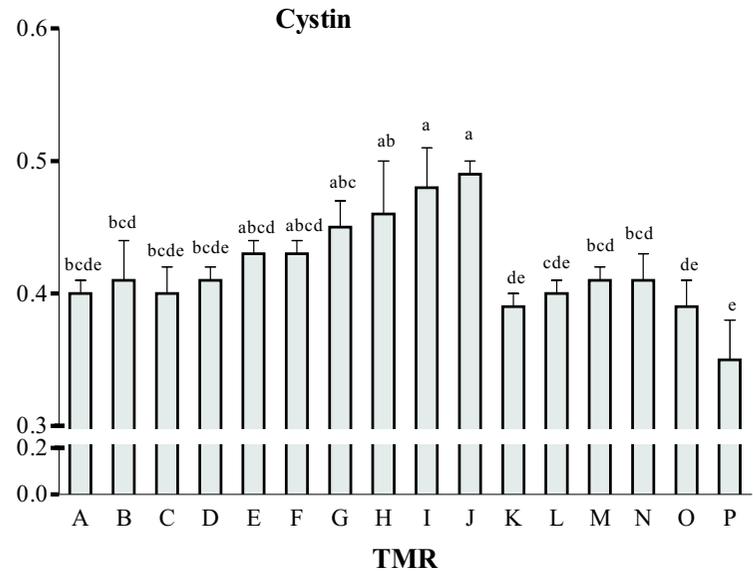
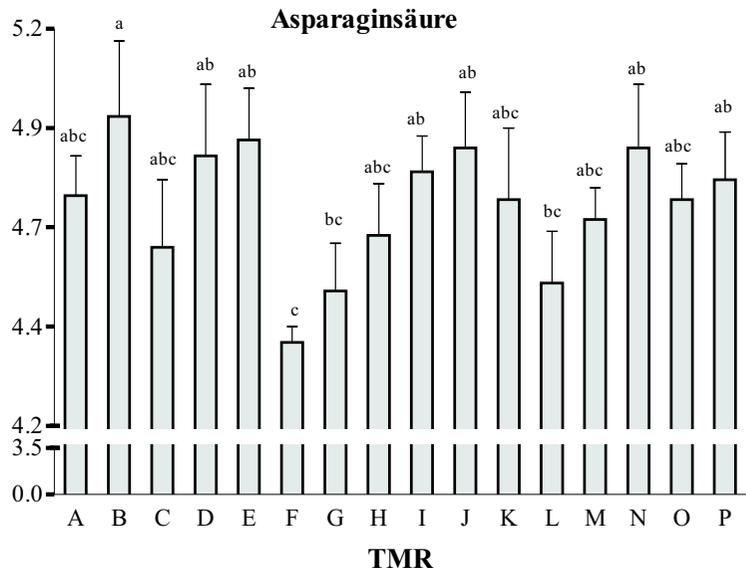
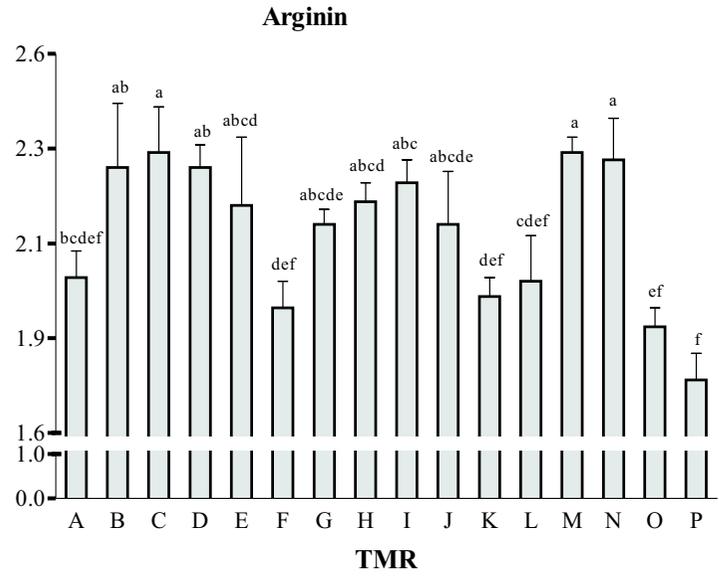
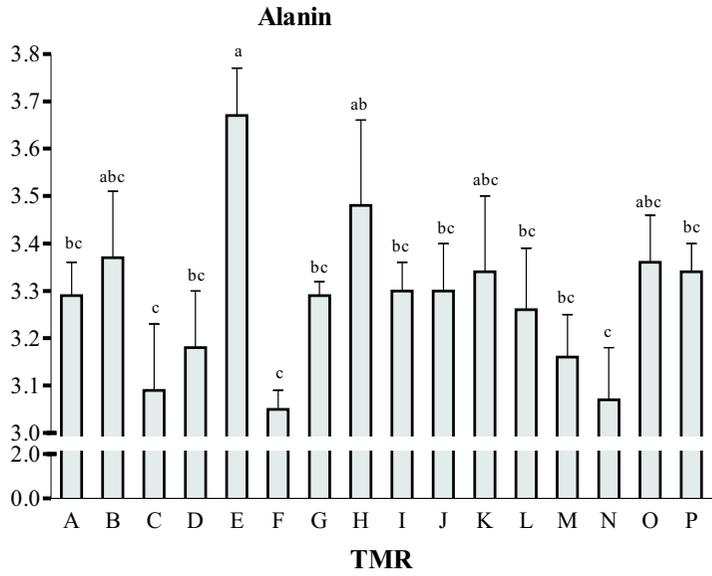
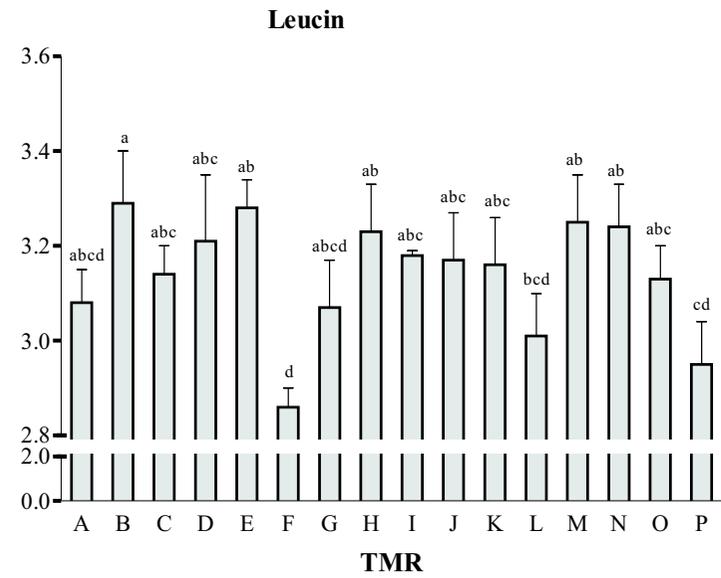
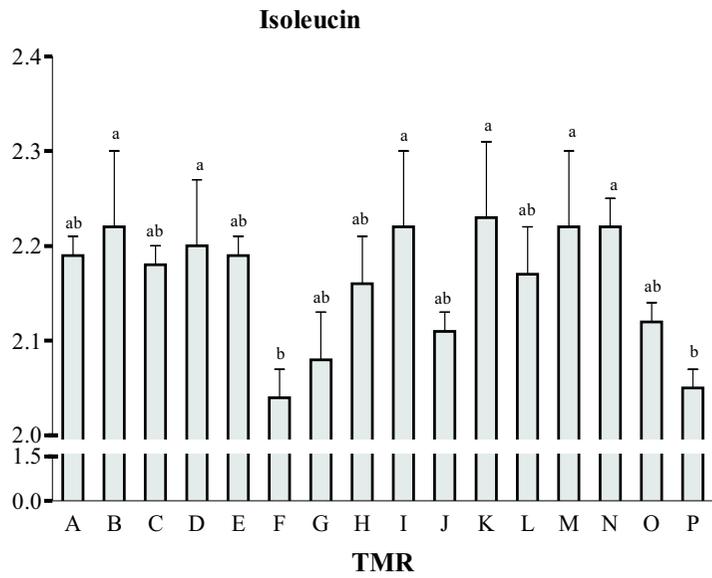
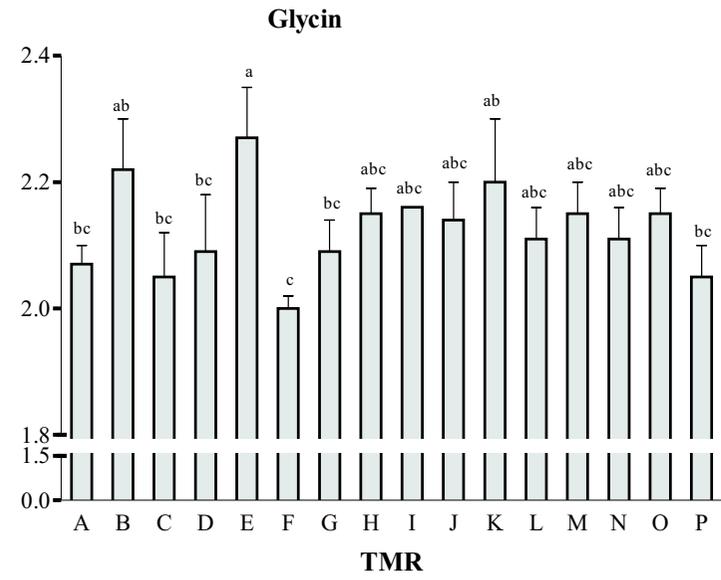
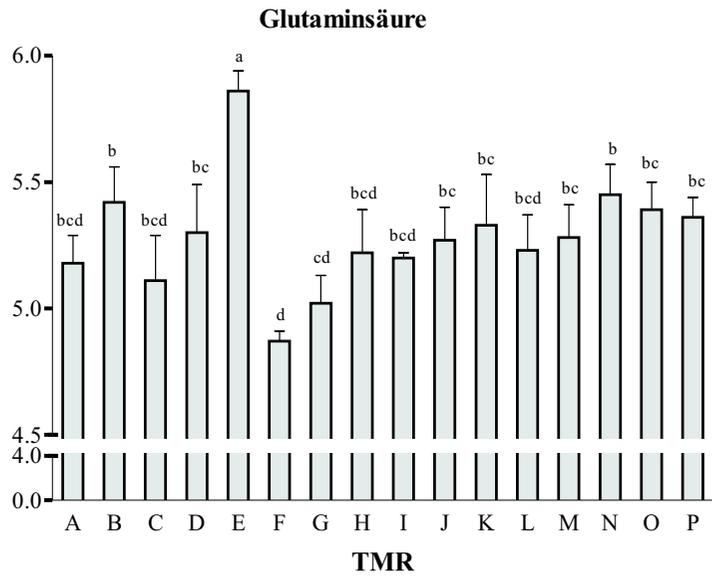
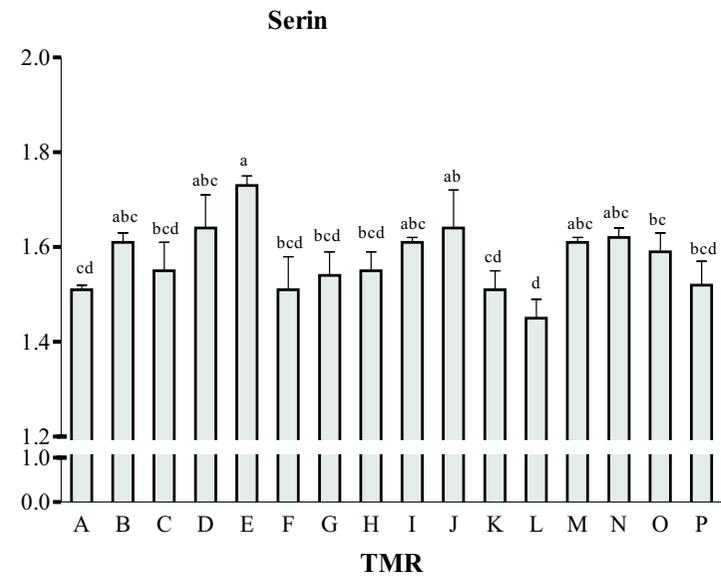
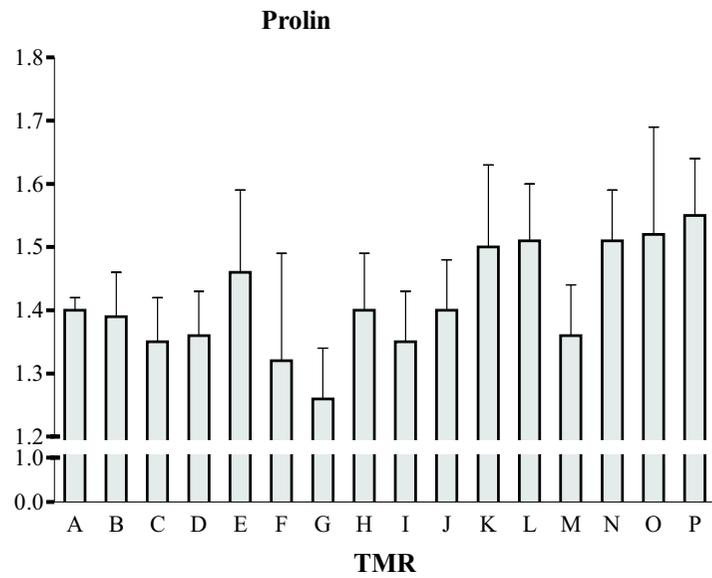
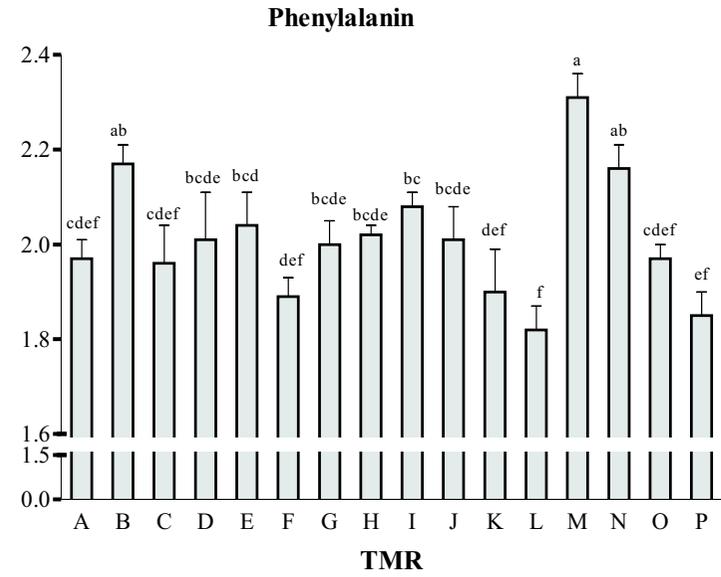
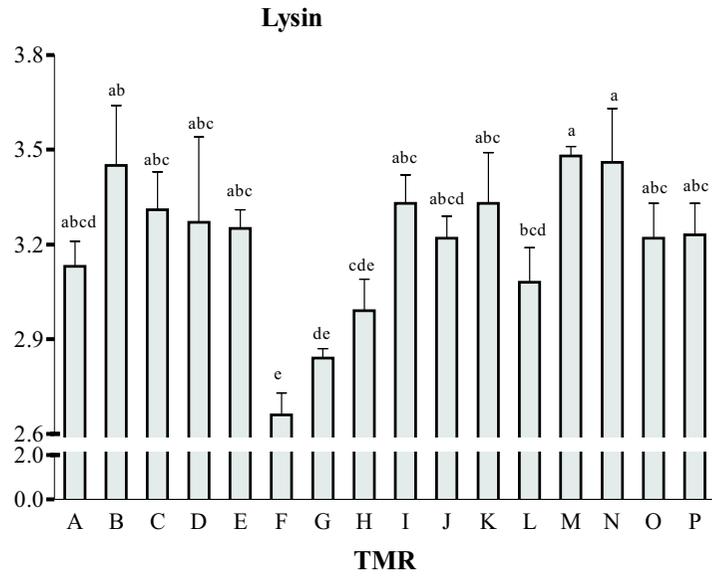


Abbildung 11: Beziehung zwischen dem Abbau der Organischen Substanz und der Rohfaser, dem Rohprotein sowie der Umsetzbaren Energie

Abbildung 12: Zusammensetzung des Proteins der LAB der einzelnen TMR bei "niedriger" Aminosäurekonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)







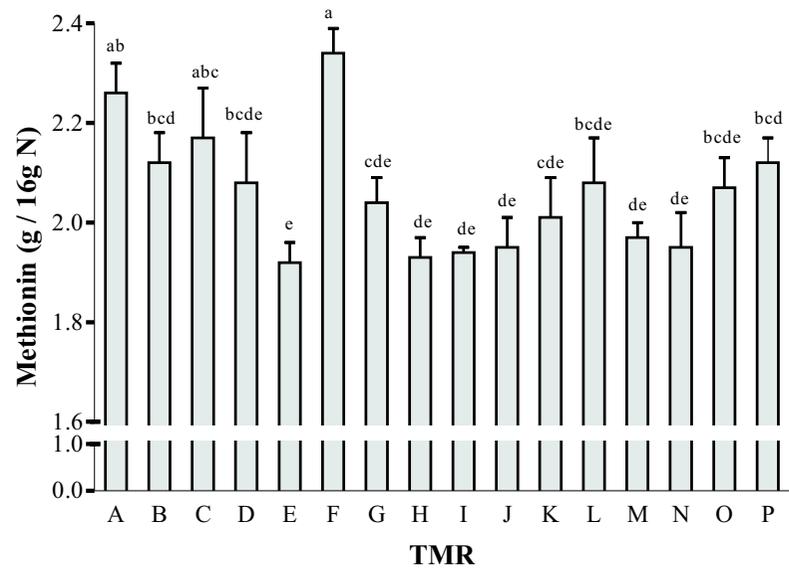
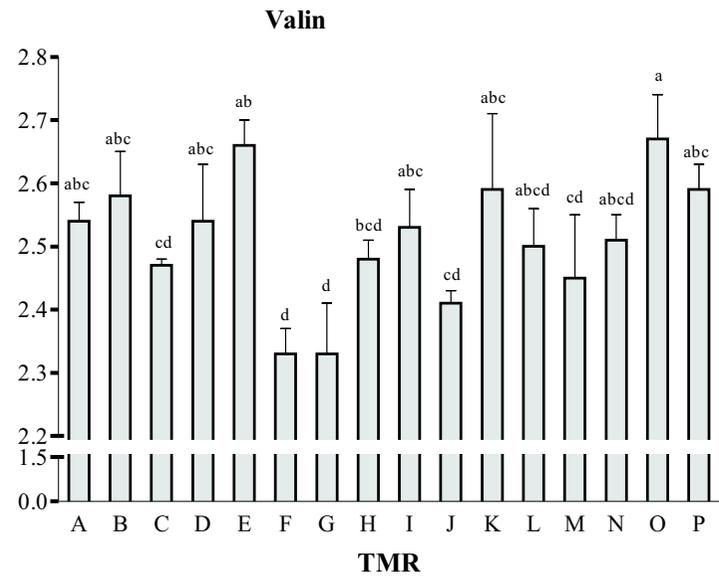
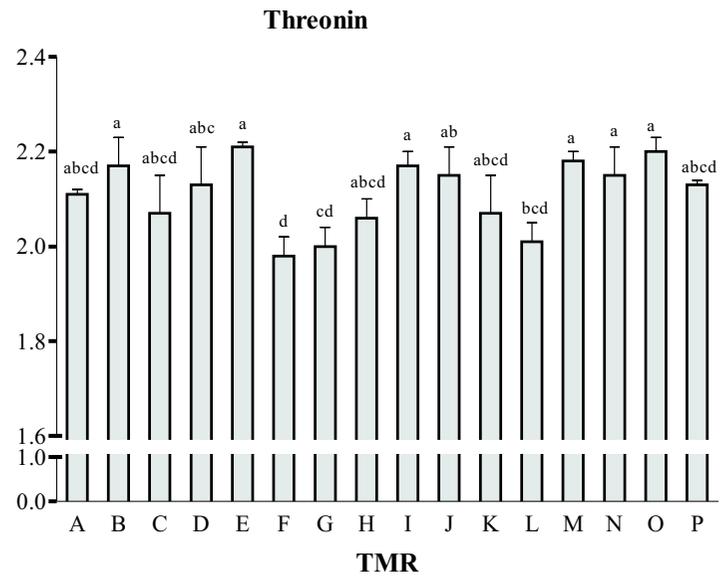
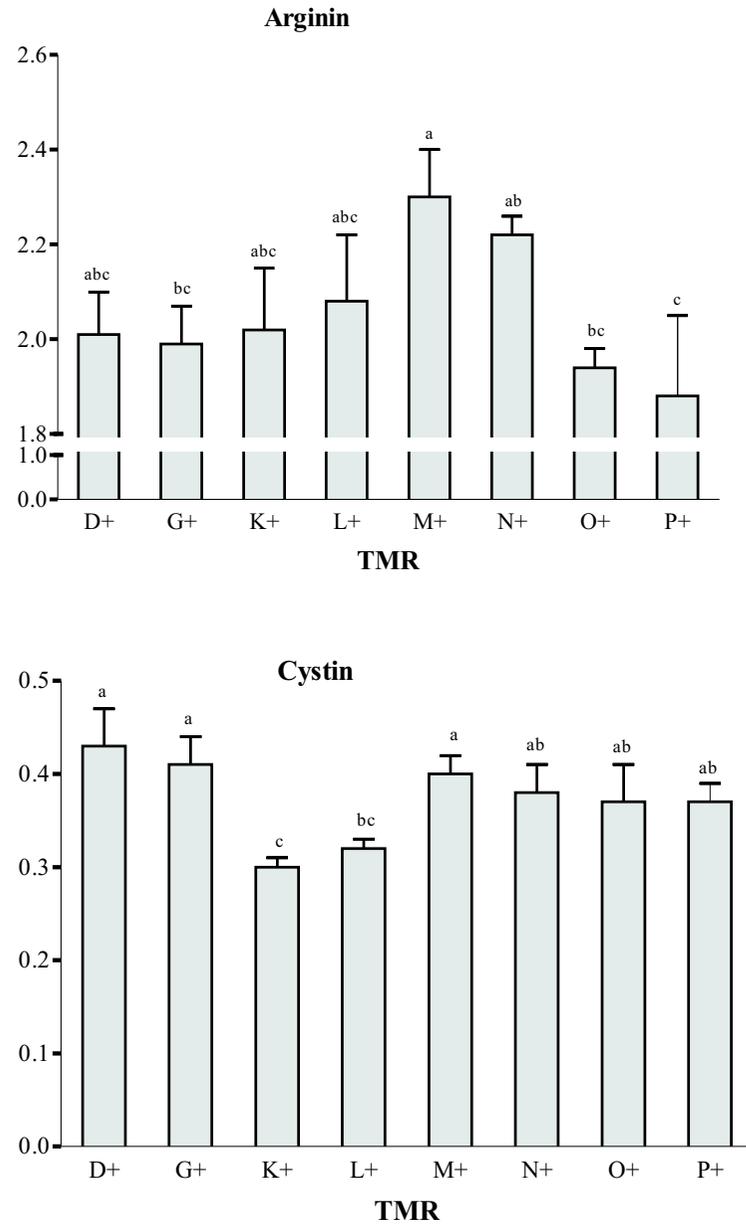
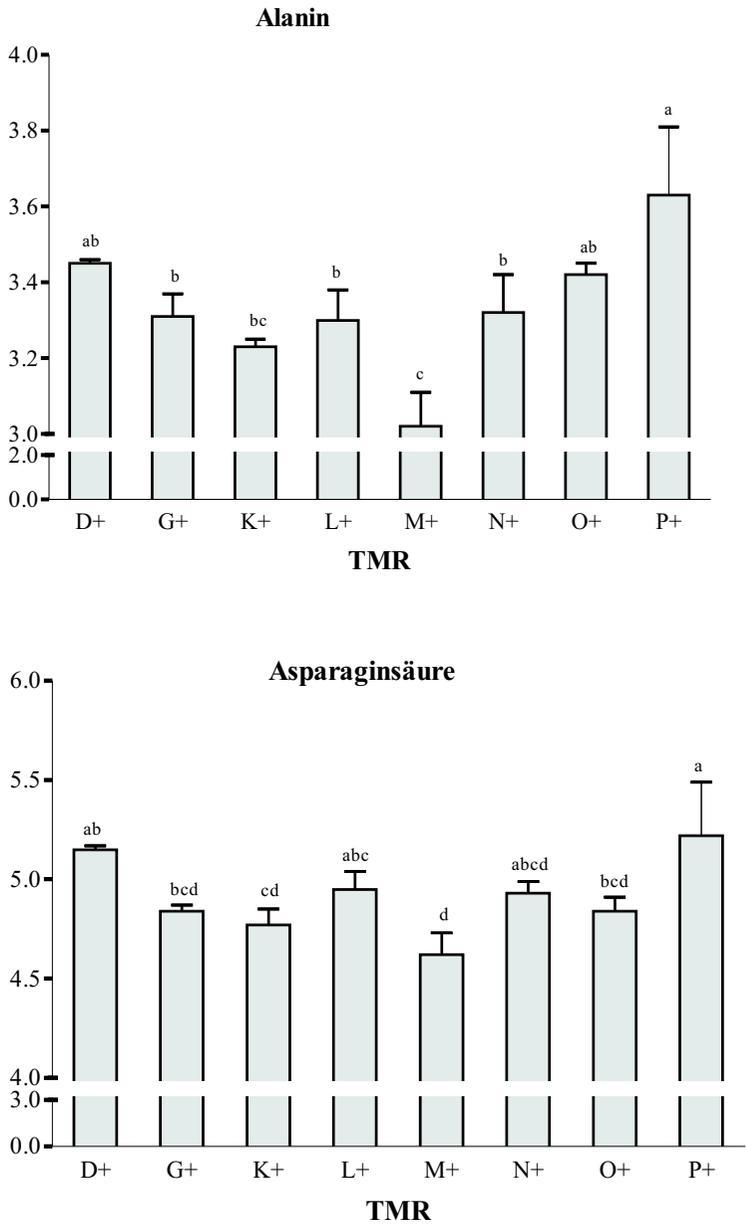
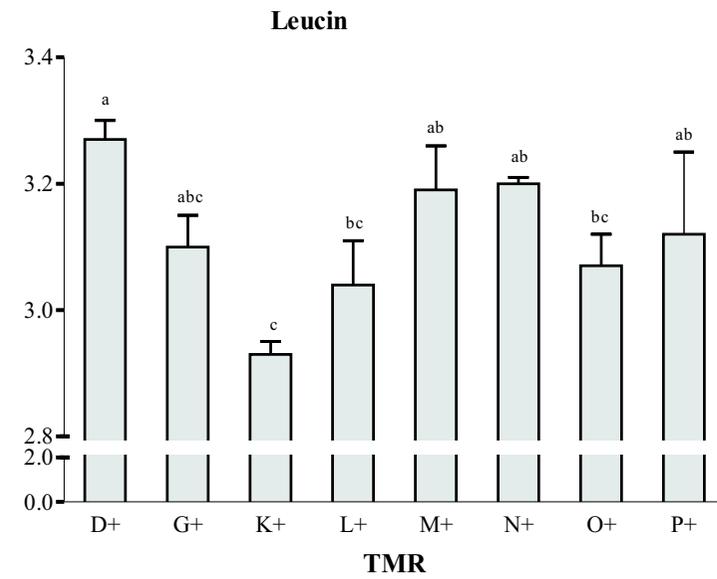
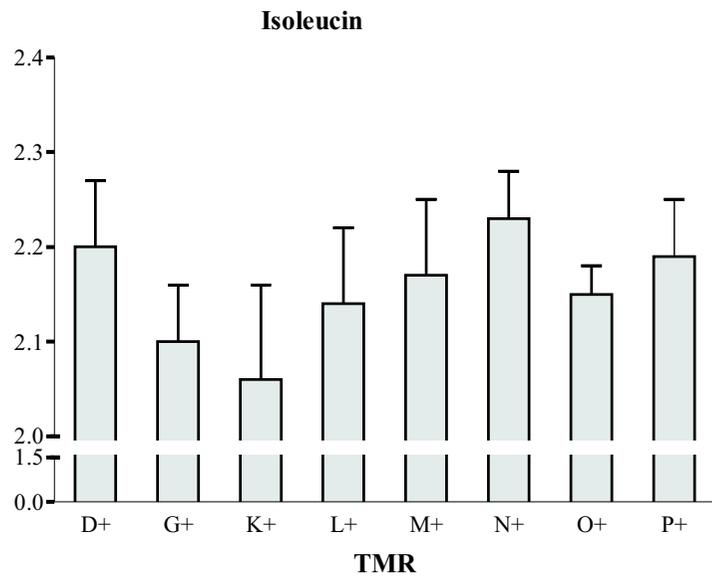
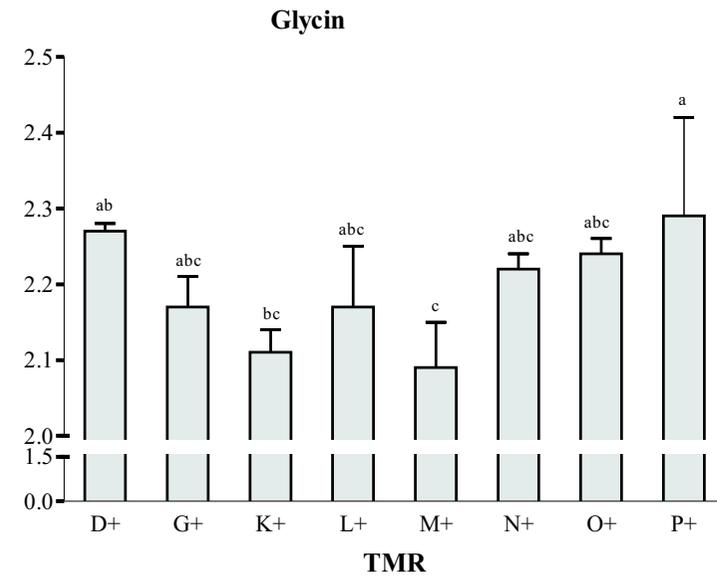
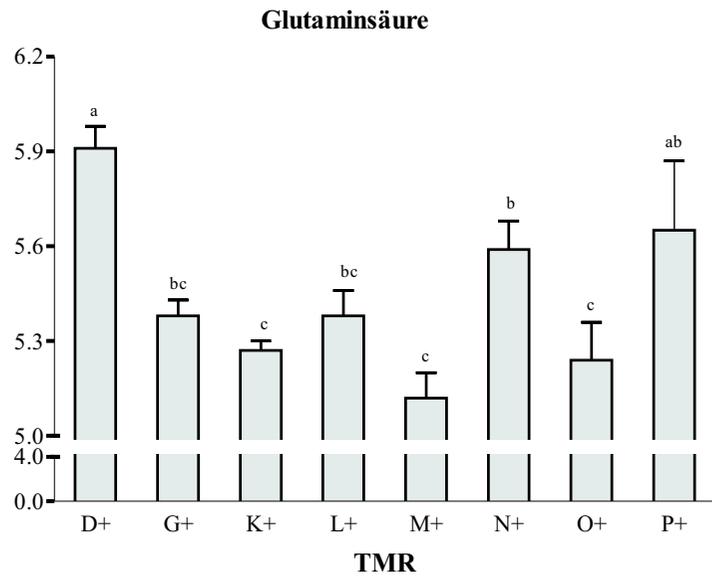
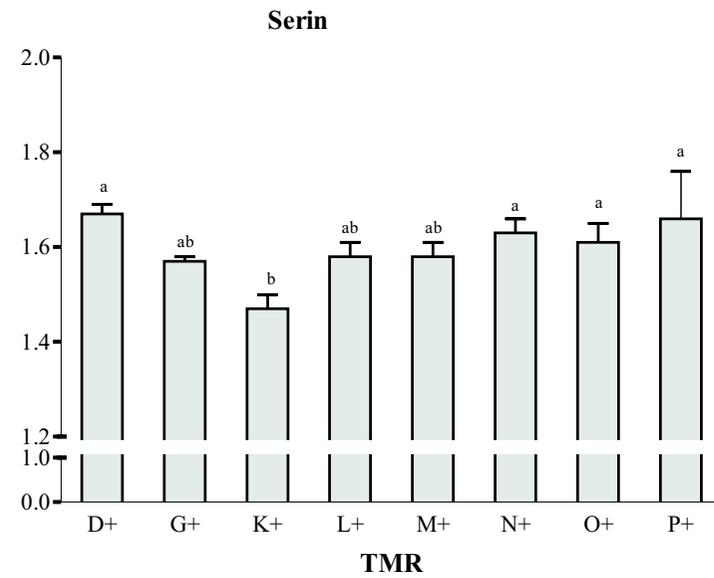
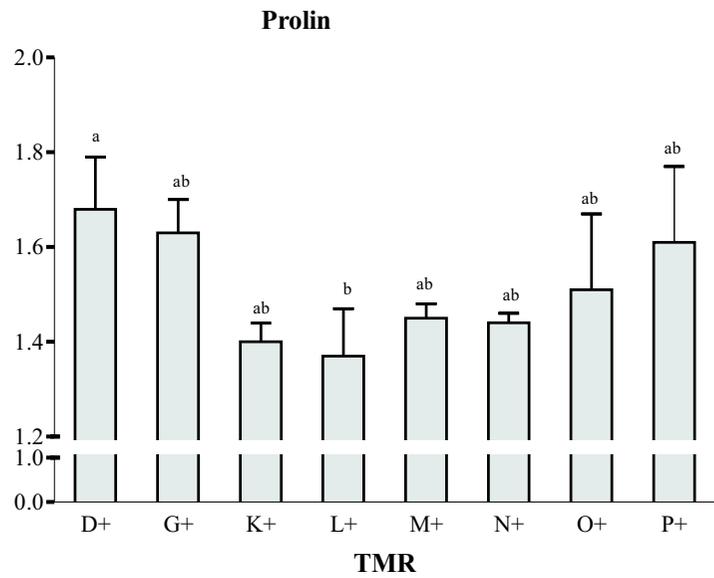
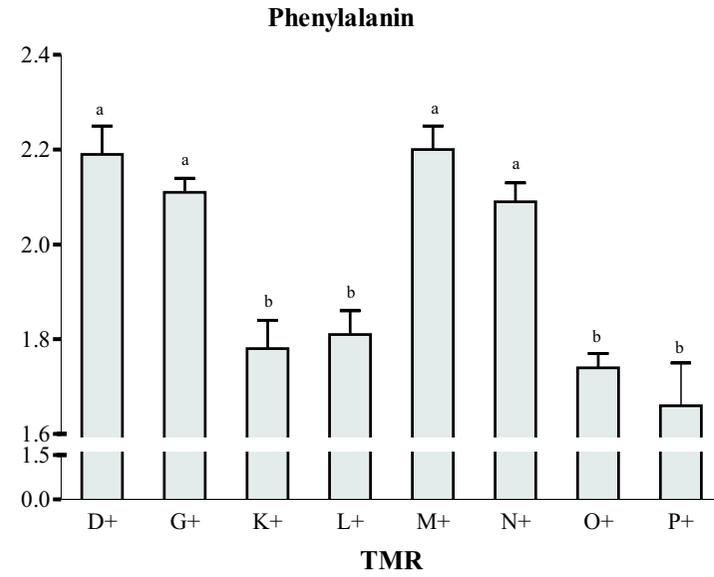
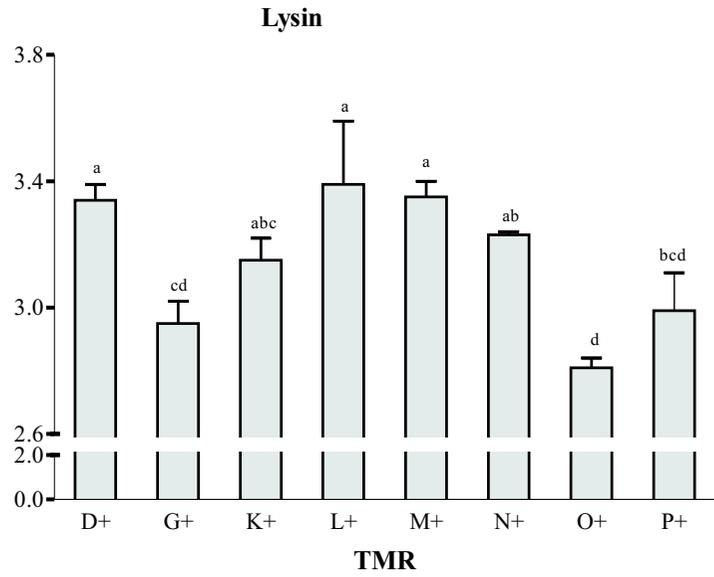


Abbildung 13: Zusammensetzung des Proteins der LAB der einzelnen TMR bei "hoher" Aminosäurekonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)





Fortsetzung Abbildung 13



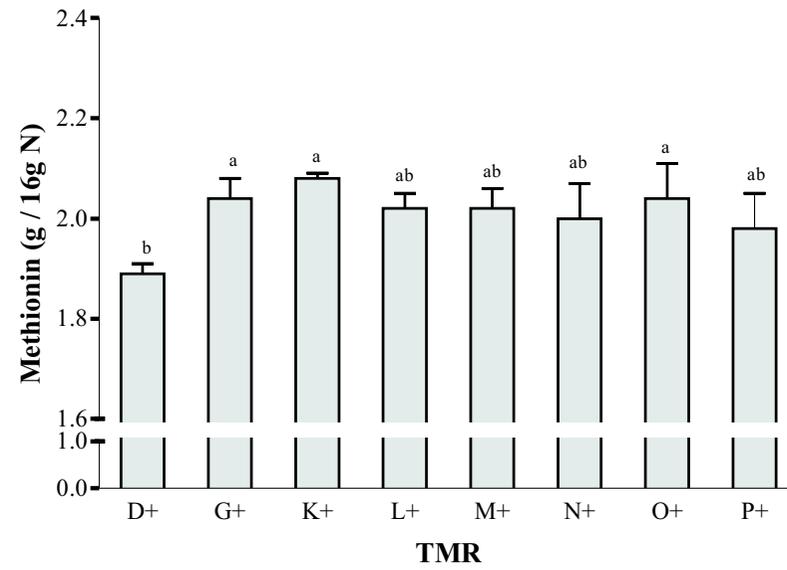
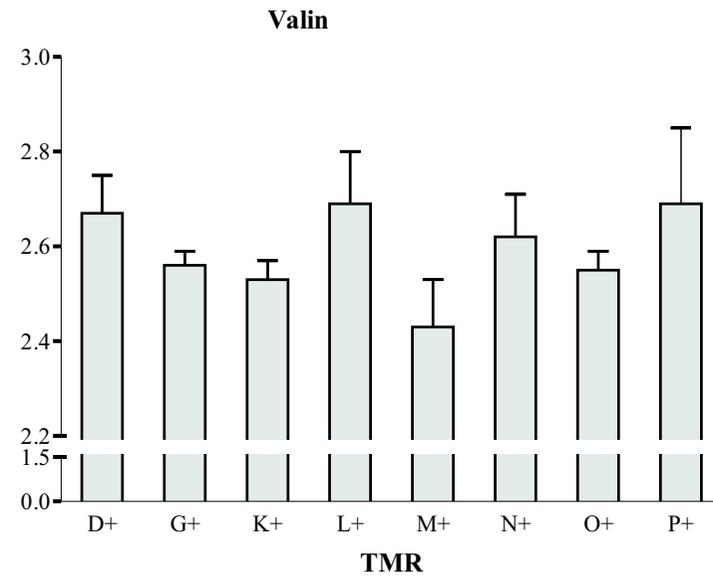
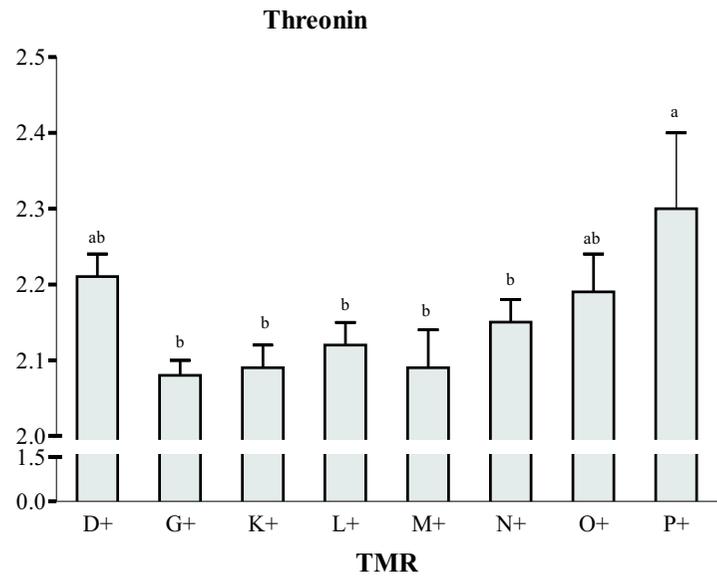
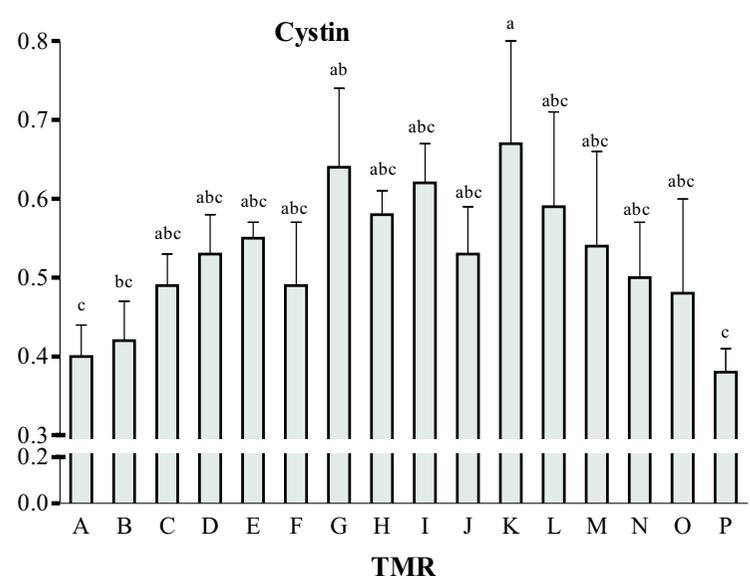
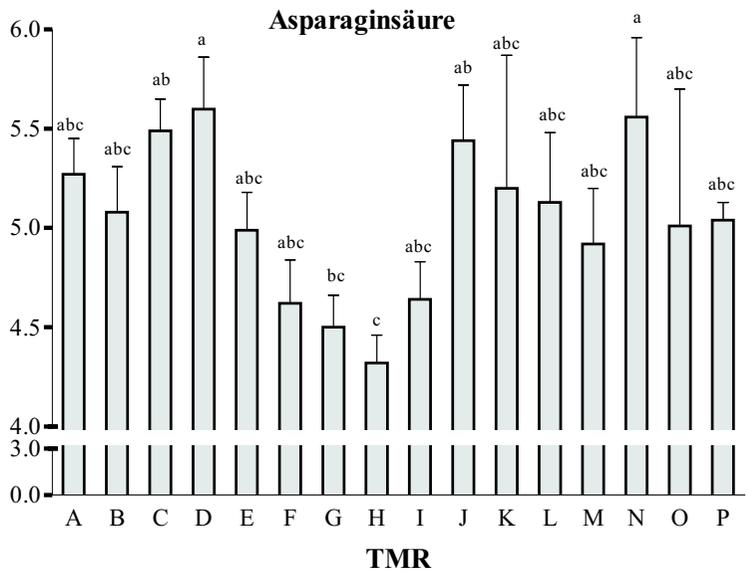
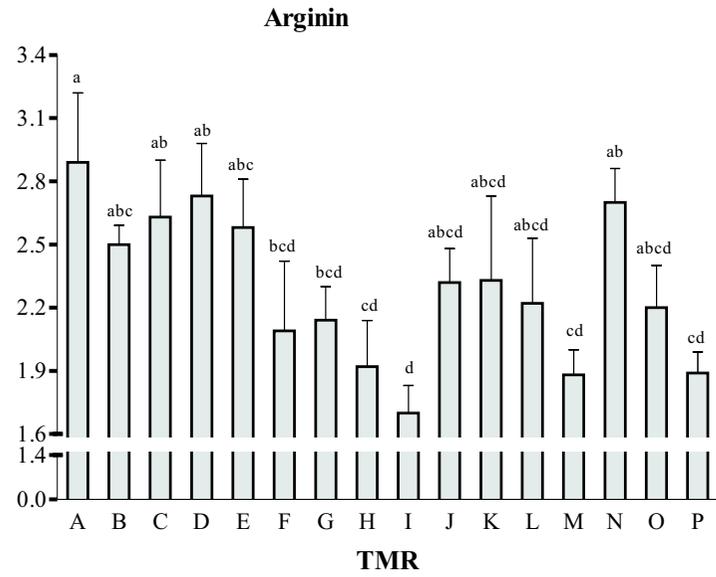
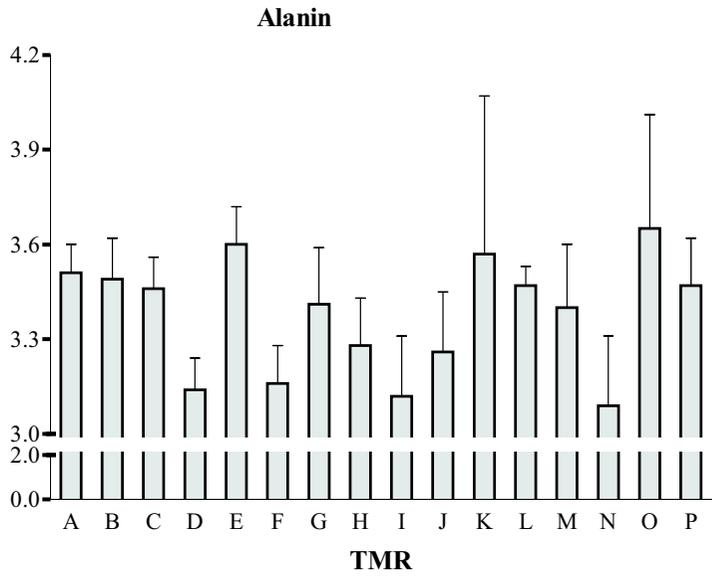
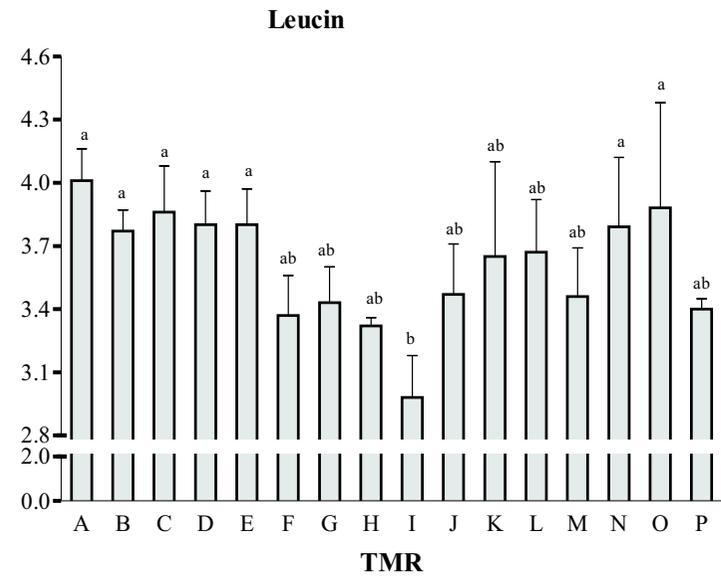
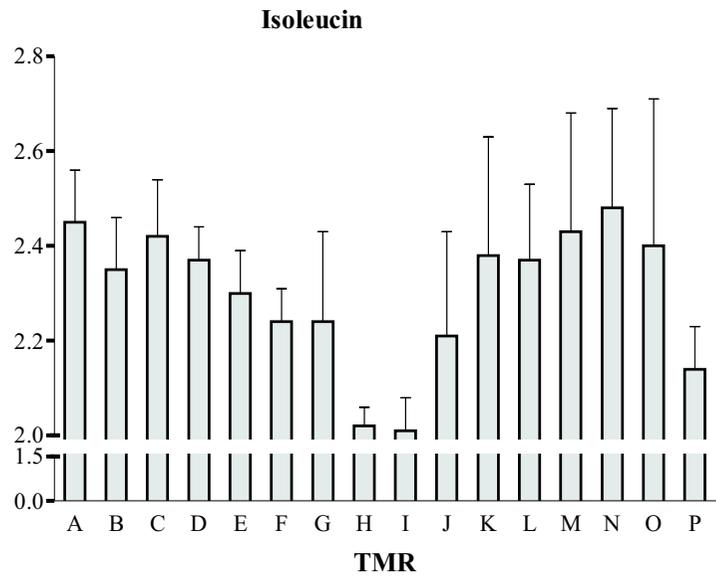
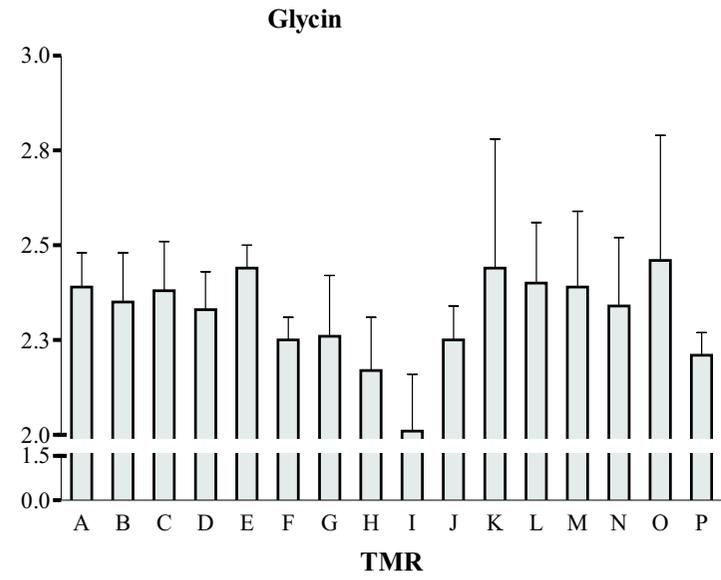
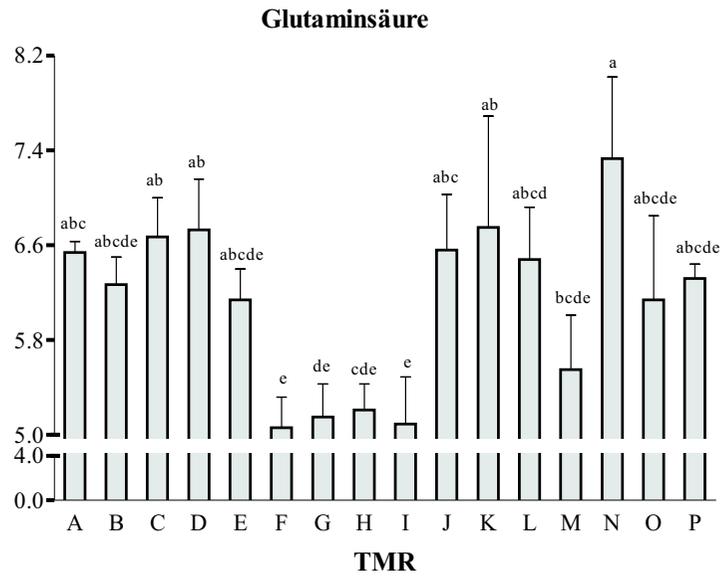
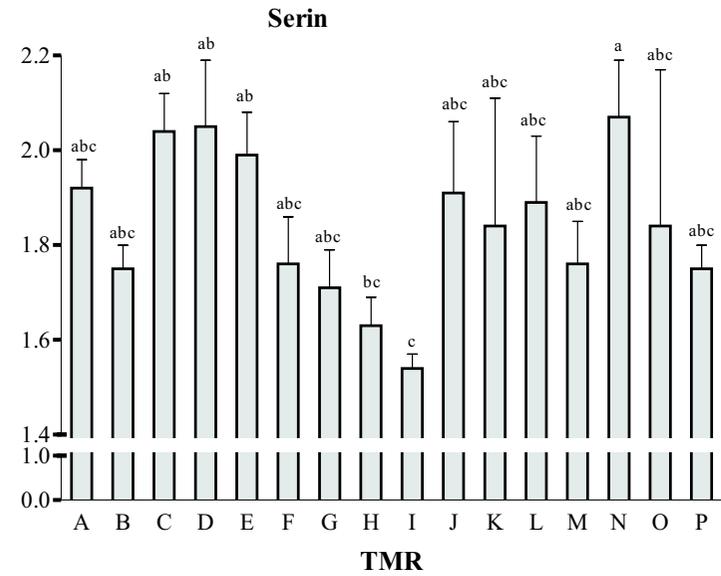
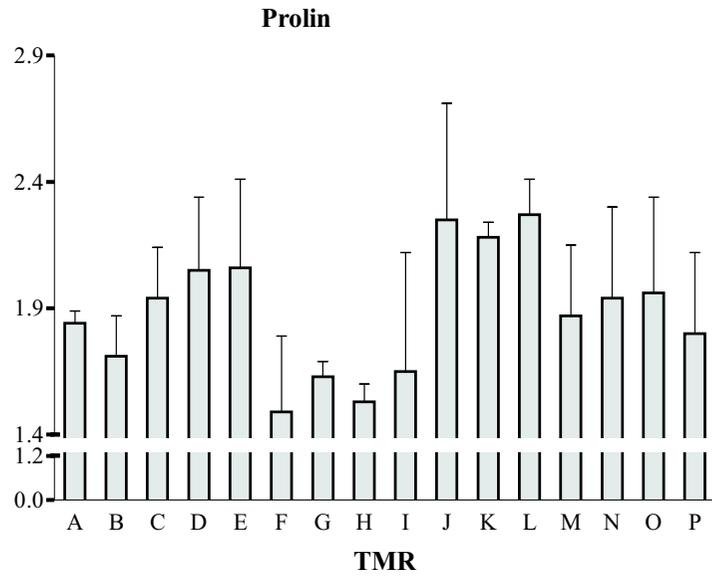
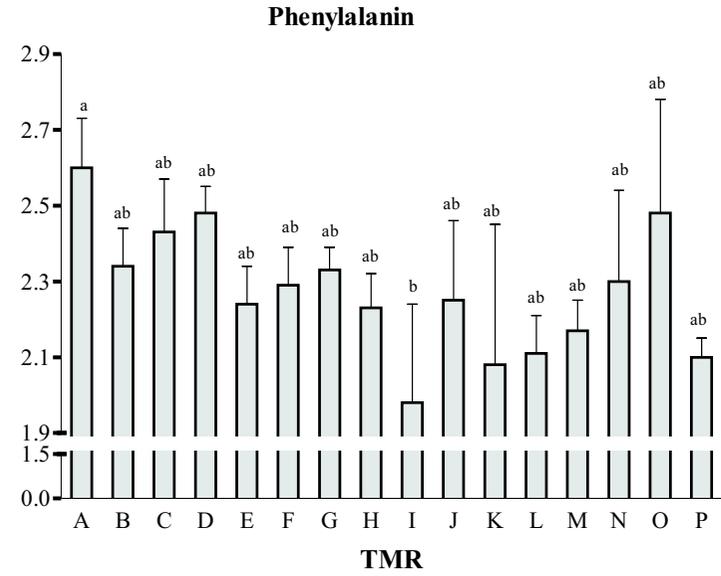
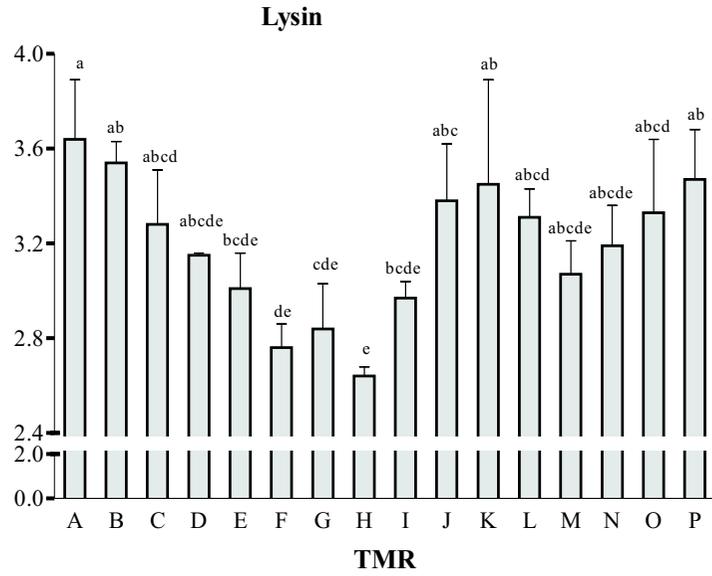
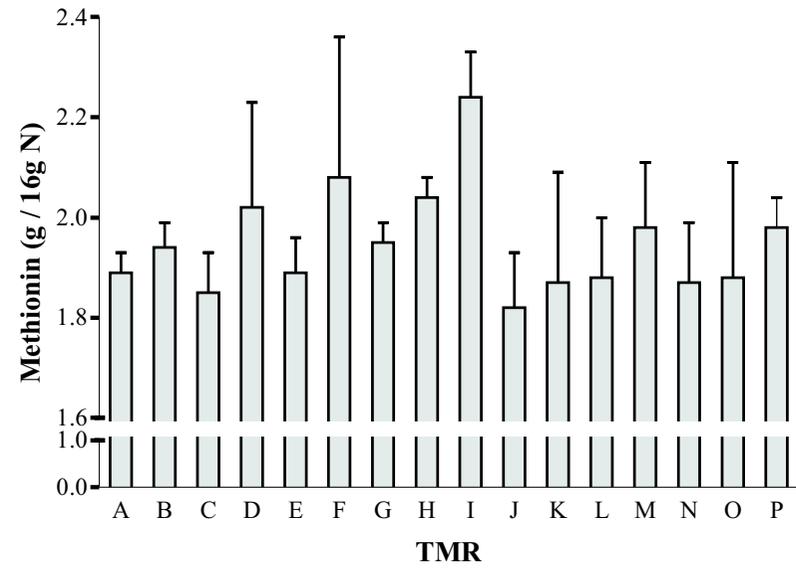
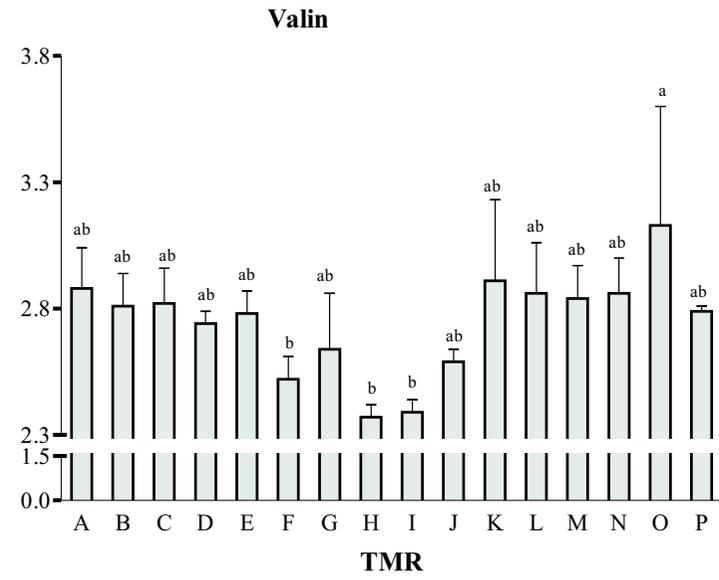
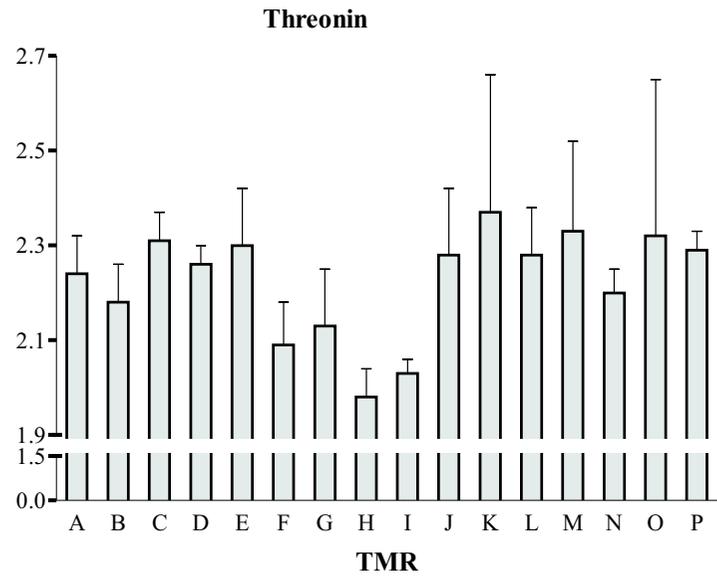


Abbildung 14: Zusammensetzung des Proteins der SAB der einzelnen TMR bei "niedriger" Amino-
 moniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methio-
 nin, wenn Methionin = 1 (^{a-e} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschie-
 de)









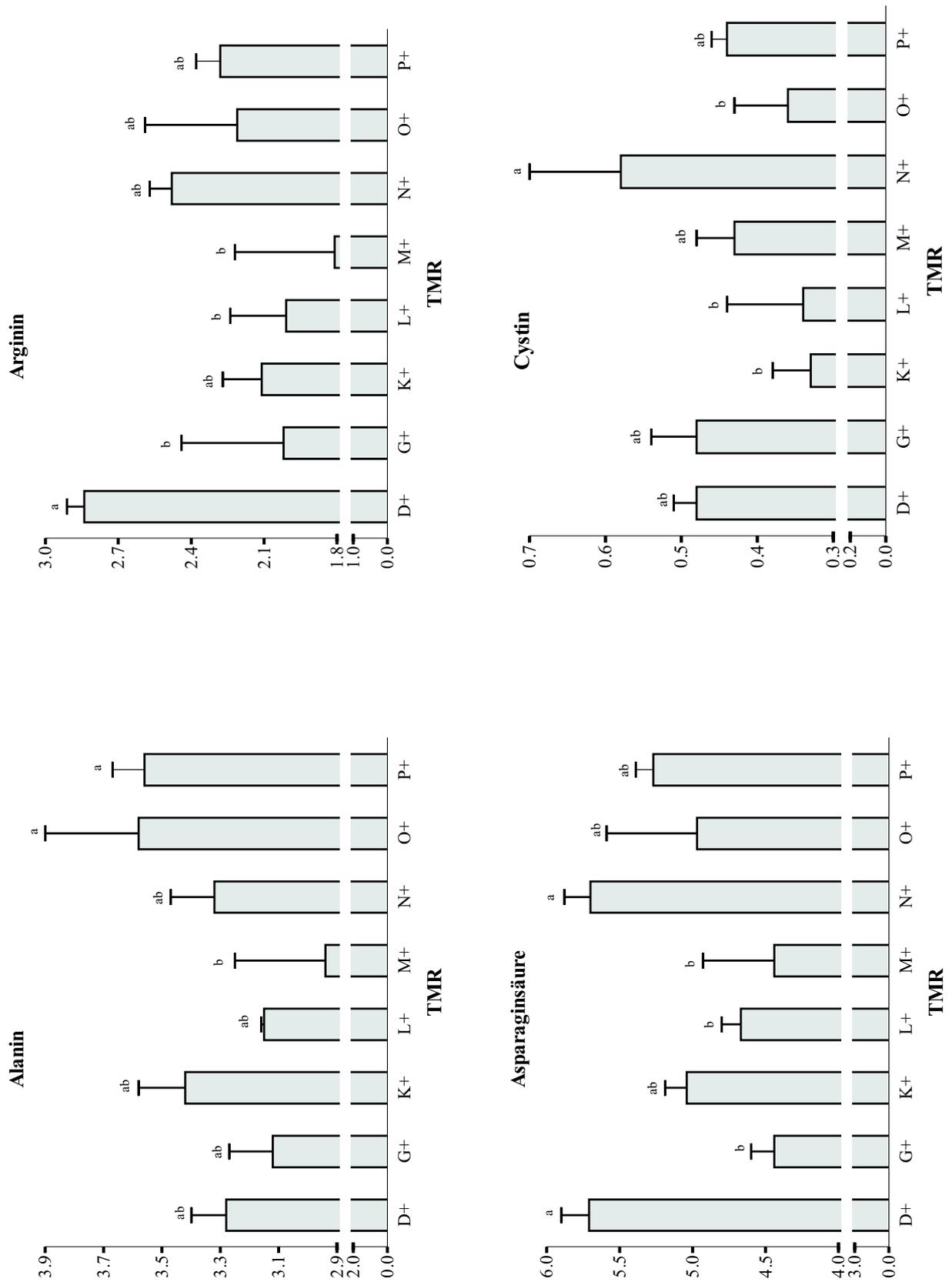
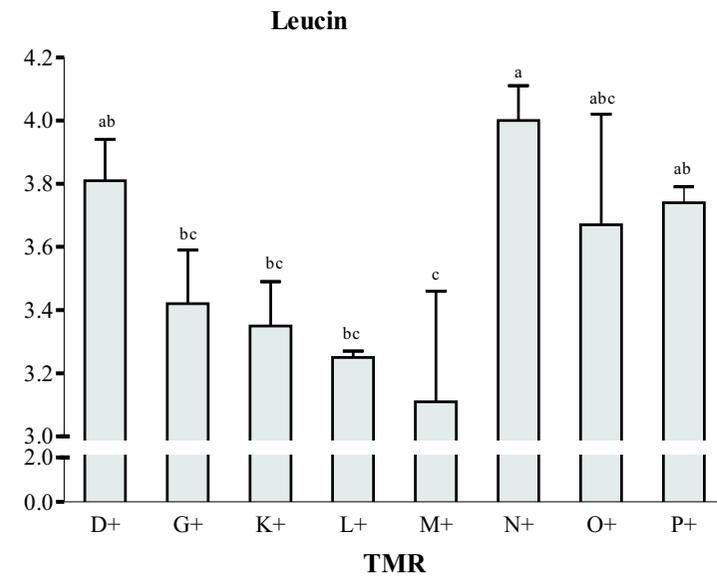
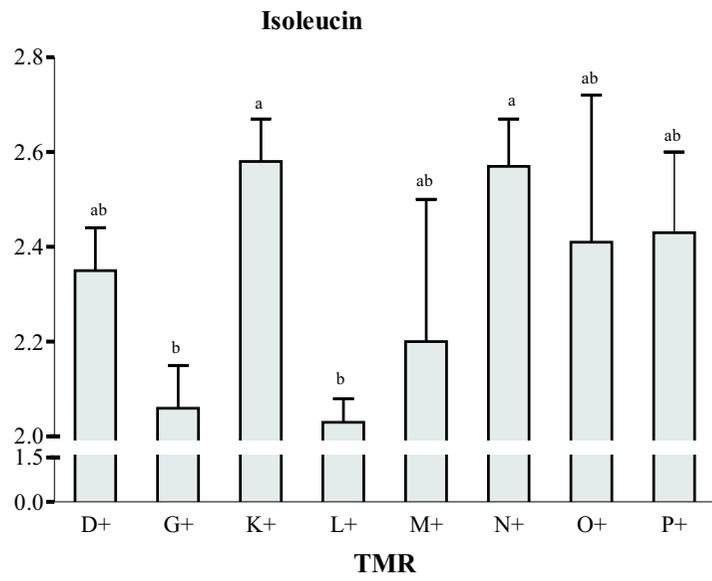
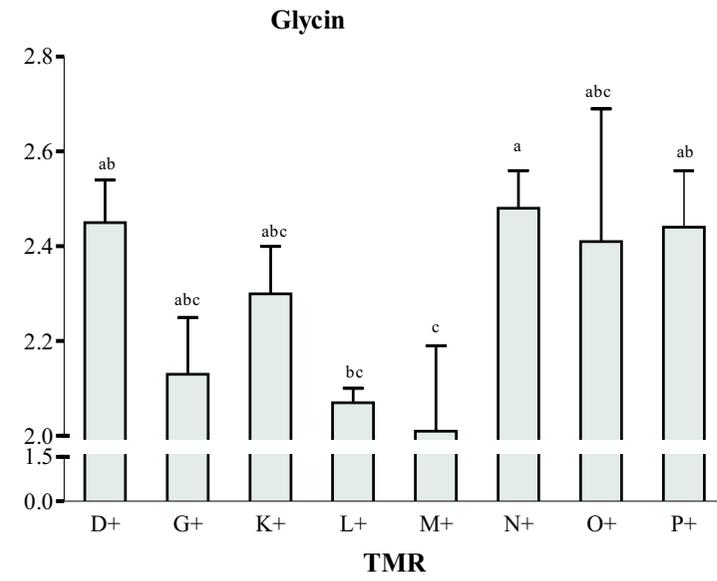
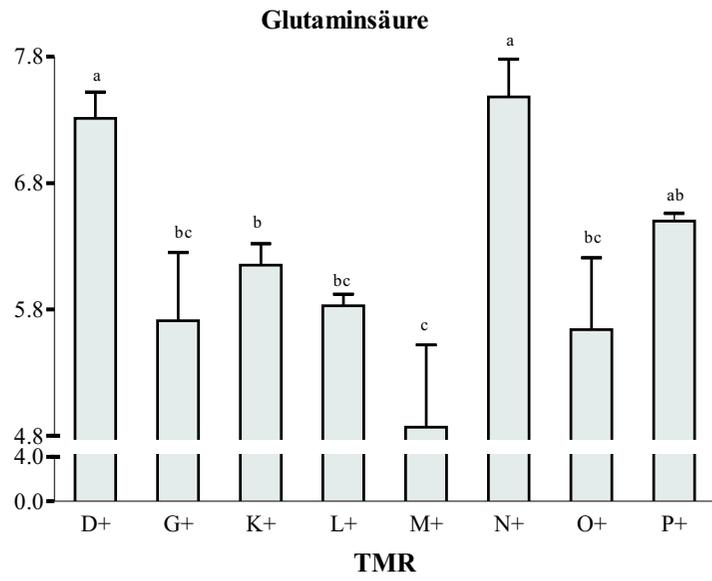
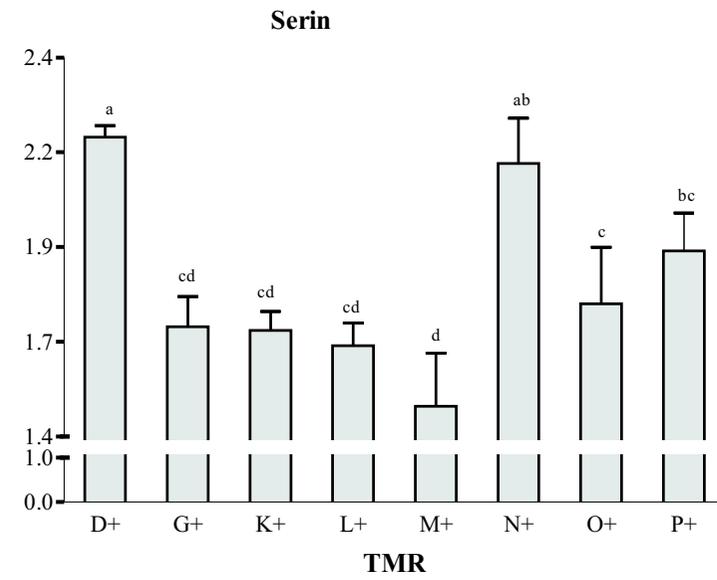
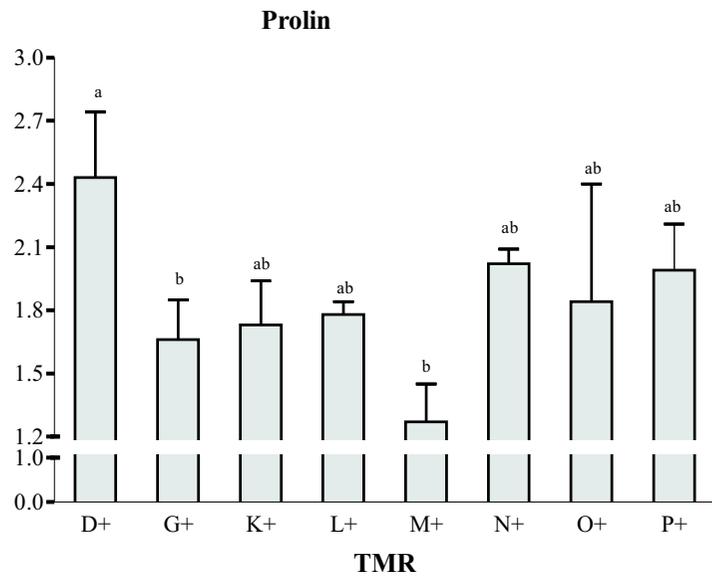
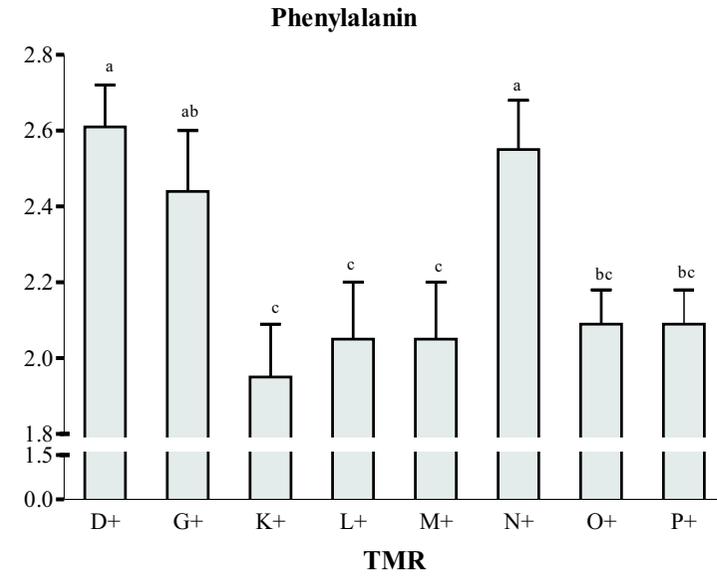
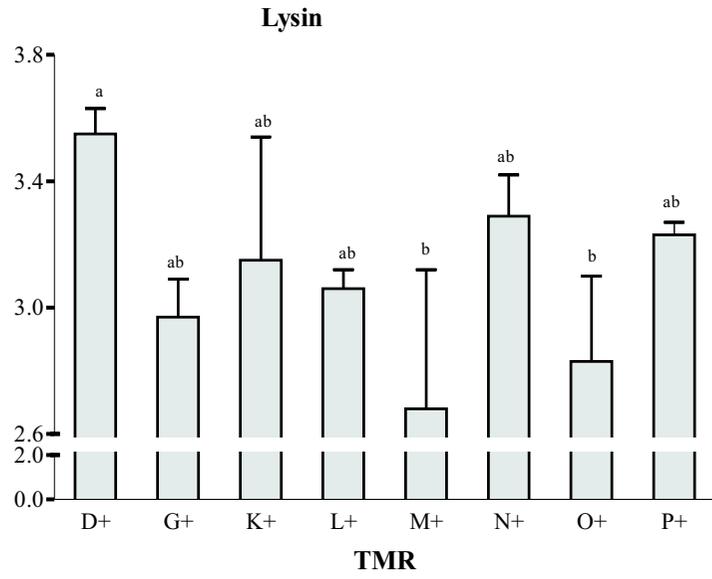
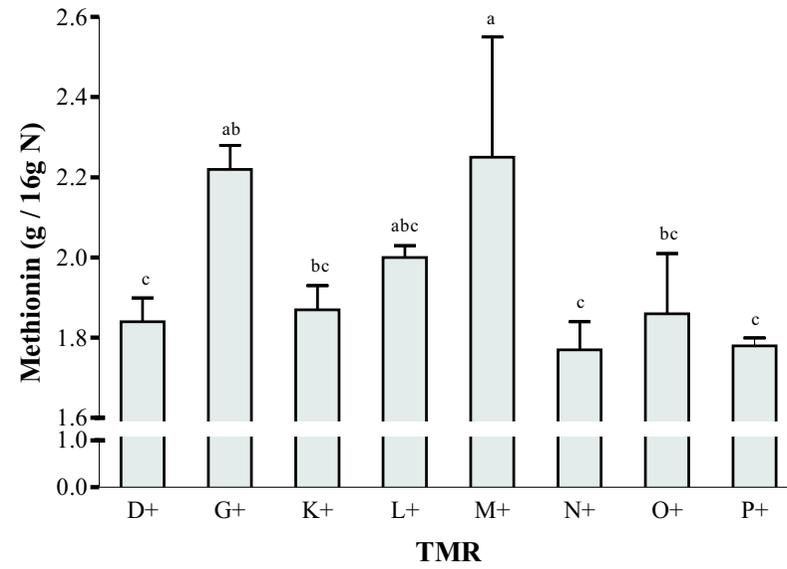
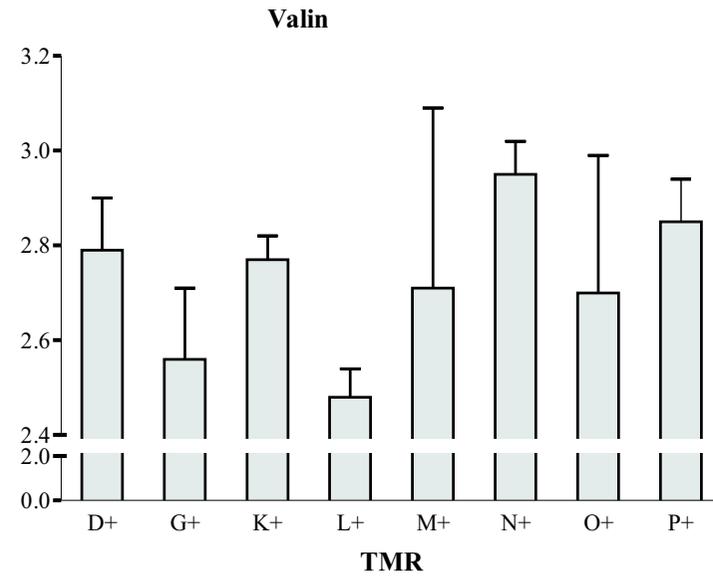
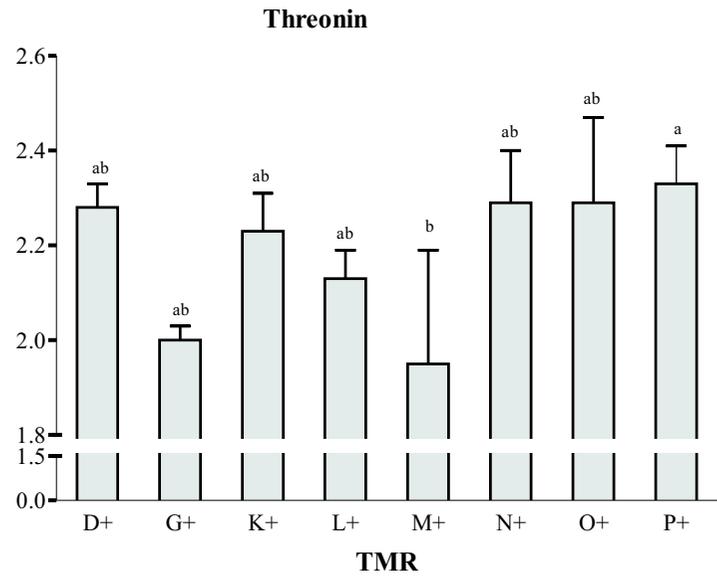


Abbildung 15: Zusammensetzung des Proteins der SAB der einzelnen TMR bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer, ausgedrückt als Verhältnis der jeweiligen Aminosäure zu Methionin, wenn Methionin = 1 (^{a,b}unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede)



Fortsetzung Abbildung 15





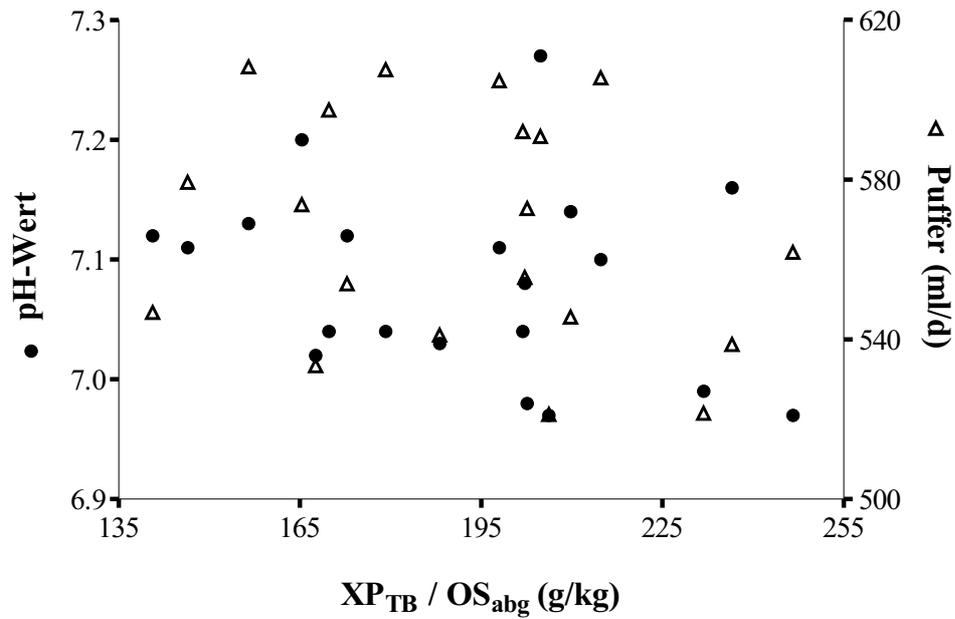


Abbildung 16: *Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz (g/kg) in Bezug zum pH-Wert und der Puffermenge (ml/d)*

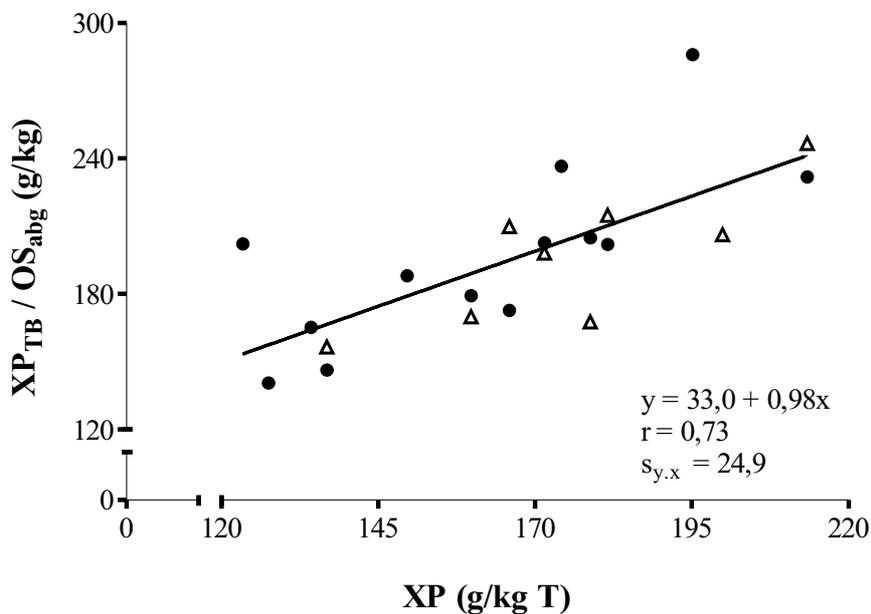


Abbildung 17: *Beziehung zwischen der Rohproteinkonzentration in den TMR und der Menge an gebildetem Mikrobenprotein je Einheit abgebaute Organische Substanz ('offene' Dreiecke kennzeichnen die Wertepaare der TMR, die bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden)*

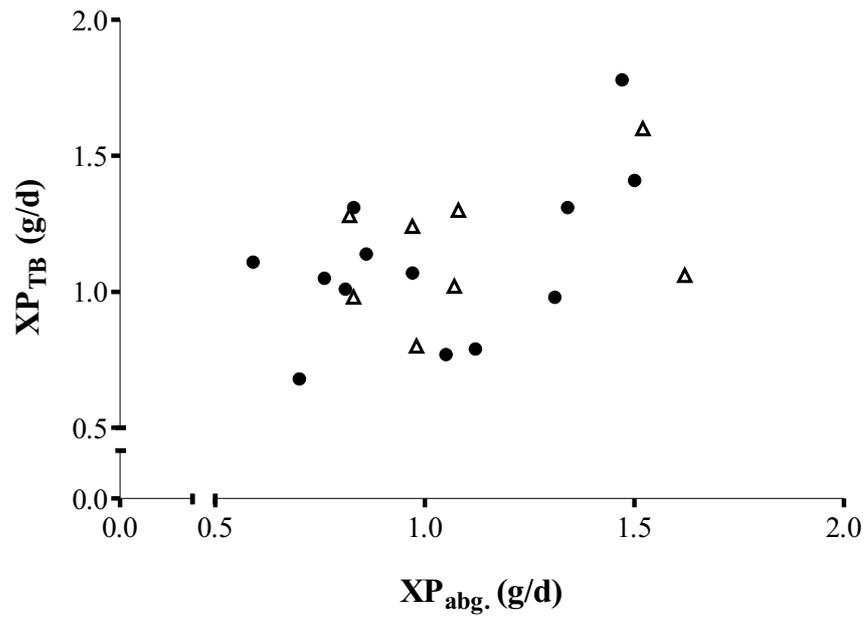


Abbildung 18: Beziehung des um die SAB korrigierten, abgebauten Rohproteins und der Menge an gebildetem Mikrobenprotein pro Tag ('offene' Dreiecke kennzeichnen die Wertepaare der TMR, die bei "hoher" Ammoniumkonzentration im Puffer geprüft wurden)

Erklärung

Ich versichere, dass ich vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angaben der Quellen gekennzeichnet.

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich hierfür nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt dieser Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer Prüfungsbehörde vorgelegt.

Mir ist bekannt, dass die Unrichtigkeit der vorstehenden Erklärung als Täuschungsversuch angesehen wird und den erfolglosen Abbruch des Promotionsverfahrens zur Folge hat.

Halle, den 17. 06. 2004

Jeannette Boguhn

Danksagung

Die Fertigstellung der vorliegenden Dissertation wäre ohne die Hilfe meiner Familie, einer Reihe von Freunden und Kollegen sowie der Mitarbeiter des Institutes für Ernährungswissenschaften nicht möglich gewesen.

Mein Dank gilt zunächst Herrn Prof. Dr. M. Rodehutschord für die Überlassung des Themas aber v.a. für das Vertrauen in meine Arbeit, die Hilfe bei der Bewältigung technischer und fachlicher Hindernisse und die stets freundschaftliche Unterstützung in jeder Phase der Untersuchung.

Weiterhin bin ich Herrn Dr. H. Kluth und Herrn Dr. H. Kluge zu großem Dank verpflichtet, da sie mir zu jeder Zeit helfend zur Seite standen, mir mit vielen Ideen die Umsetzung des Projektes ermöglichten und zudem immer ein offenes Ohr für meine Probleme hatten.

Auch den DoktorandenInnen der Arbeitsgruppe der Professur für Tierernährung und hier insbesondere Frau K. Mehlhorn, Frau R. Hempel und Herrn M. Bulang bin ich sehr dankbar für die zahlreichen fruchtbaren Diskussionen, die persönlichen Hilfestellungen und stets konstruktive Kritik. Daneben habe ich während meiner Zeit als Doktorandin auch viele Freunde in der Arbeitsgruppe um Herrn Prof. Dr. K. Eder gefunden.

Nicht vergessen sind die vielen fleißigen Hände bei der Be- und Verarbeitung der gesammelten Proben. Namentlich seien Frau I. Günther, Frau H. Lehmann, Frau I. Rapp und Frau A. Schmidt genannt, die nie müde wurden, mir bei analytischen Fragestellungen zu helfen.

Ich danke jedoch auch allen anderen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Institutes für Ernährungswissenschaften, die mir oft mit persönlichen Gesprächen über Tiefpunkte hinweghalfen.

Besonders herausheben möchte ich die freundschaftliche Unterstützung von Herrn O. Hödel und Herrn D. Barth, die Tag für Tag für die kleinen Sorgen und Nöte bei der experimentellen Arbeit am Nutztierwissenschaftlichen Zentrum der Universität Halle- Wittenberg in Merbitz zur Stelle waren und nie müde wurden, praktische und menschliche Hilfe anzubieten. Ich bin der Studienstiftung des Deutschen Volkes für die mir erwiesene finanzielle Unterstützung dieses Forschungsprojektes zu tiefem Dank verpflichtet. Daneben verbinden mich viele private, fachliche und sehr innovative Gespräche mit Prof. Dr. K.-E. Dette und seiner Familie sowie Prof. Dr. H. Obst und allen Stipendiaten der Universität in Halle auch für die "Zeit danach".

Der größte Dank gilt jedoch meiner Mutter, die mit bewunderungswürdiger Geduld täglich und immer wieder als Seelenröster und Motivator diente und mir stets alle außerdienstlichen Schwierigkeiten fern hielt. Mein Bruder, Dr. Ing. D. Boguhn, dagegen war stets Vorbild und Maßstab für meine Entwicklung als Wissenschaftlerin.

Nicht zuletzt mein Dank an alle Freunde, Bekannte und Förderer, die ich hier nicht alle namentlich nennen konnte, deren Hilfe und Anerkennung jedoch von mir nicht vergessen sind.

Lebenslauf

Name, Vorname	Boguhn, <u>Jeannette</u> Marlies
02.05.1970	in Dessau geboren
01.09.1976 - 04.07.1986	Besuch einer 10-klassigen POS mit dem Abschlussprädikat “mit Auszeichnung”
01.09.1986 - 30.04.1988	Berufsausbildung im VEG (S) Bernburg zum Facharbeiter für Tierproduktion und vorzeitiger Abschluss mit “Auszeichnung”
01.05.1988 - 30.04.1991	angestellt in der LPG (T) Wörbzig
01.05.1991 - 02.02.1993	tätig bei der Löblein Gutsverwaltungs GmbH Wörbzig, betriebsbedingte Kündigung zum 03.02.93
03.02.1993 - 30.06.1993	ohne Arbeitsrechtsverhältnis
01.07.1993 - 30.04.1997	angestellt in der Quellendorfer & Zehbitzer Agrar AGs GbR
07.11.1994 - 13.03.1997	Besuch der Fachschule für Agrar- und Hauswirtschaft Biendorf, Abschluss zur “staatlich geprüften Wirtschafterin für Agrarwirtschaft”
01.05.1997 - 30.09.1997	tätig in der Seegers- te Braake GbR in Calbe/OT Schwarz
01.10.1997 - 26.03.2002	Studium der Agrarwissenschaften an der Landwirtschaftlichen Fakultät der Martin- Luther- Universität Halle- Wittenberg, Abschluss mit der Gesamtnote 1,3
01.04.2002 - 30.06.2004	Promotionsstudentin am Institut für Ernährungswissenschaf- ten der Landwirtschaftlichen Fakultät der Martin- Luther- Universität Halle- Wittenberg
ab 01.07.2004	wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Ernährungs- wissenschaften der Landwirtschaftlichen Fakultät der Martin- Luther- Universität Halle- Wittenberg