

**Aus dem Institut für Tierernährung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Effekte von Diäten mit unterschiedlichen Proteingehalten  
und Faserstoffen auf verdauungsphysiologische  
Parameter beim Hund**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin**

vorgelegt von  
**Anne Laura Eisenhauer**  
geb. Bauer  
Tierärztin aus Berlin

Berlin 2019  
Journal-Nr.: 4120







**Aus dem Institut für Tierernährung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Effekte von Diäten mit unterschiedlichen Proteingehalten und Faserstoffen  
auf verdauungsphysiologische Parameter beim Hund**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**Anne Laura Eisenhauer**

geb. Bauer

Tierärztin aus Berlin

Berlin 2019

Journal-Nr.: 4120

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Leo Brunnberg  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Jörg Aschenbach

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

dogs, feeding, protein content, protein composition, fermentation products, digestion,  
blood, urine, bifidobacteriales, erysipelotrichales, aeromonadales

Tag der Promotion: 20.05.2019

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<https://dnb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-977-8

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2019**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2019 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin  
verlag@menschundbuch.de – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

meiner Familie





# Inhalt

Inhalt .....	I
Tabellenverzeichnis.....	VII
Abbildungsverzeichnis.....	XI
Abkürzungsverzeichnis.....	XII
1. Einleitung .....	1
2. Literatur.....	2
2.1. Faserstoffe .....	2
2.1.1. Systematik der Faserstoffe.....	2
2.1.2. Analytik .....	4
2.1.3. Effekte auf die intestinale Mikrobiota .....	7
2.1.4. Auswirkung verschiedener Faserstoffen auf verdauungsphysiologische Parameter .....	9
2.2. Biotreber .....	10
2.2.1. Aufbau, Struktur und Eigenschaften .....	10
2.3. Karottentrester .....	14
2.3.1. Aufbau, Struktur und Eigenschaften .....	14
2.4. Einsatz von Biotreber und Karottentrester bisher in der Hundeernährung .....	15
2.5. Proteine.....	16
2.5.1. Proteinquellen in der Hundeernährung.....	16
2.5.2. Auswirkung einer proteinreichen Diät .....	21
2.5.2.1. Dysbiosen und –fermentation.....	21
2.5.2.2. „BARF“ – Biologisch Artgerechte Rohfütterung .....	23
2.5.2.3. Auswirkungen proteinreicher Diäten auf die intestinale Mikrobiota .....	26
2.5.2.4. Auswirkungen proteinreicher Diäten auf Harnstoff und Kreatinin in Blut und Harn bei Hunden.....	28
2.6. Intestinale Mikrobiota .....	28
2.7. Bisherige Untersuchungen zu verschiedenen Faserstoffen in Kombination mit verschiedenen Proteinkonzentrationen an Hunden.....	30

2.8.	Ziel der Arbeit.....	33
3.	Material und Methoden.....	34
3.1.	Versuchsziel.....	34
3.2.	Versuchstiere .....	34
3.3.	Versuchsdiäten .....	35
3.4.	Versuchsplan .....	36
3.4.1.	Sammlung der Proben .....	37
3.5.	Untersuchungen.....	38
3.5.1.	Bestimmung der Körpermasse .....	38
3.5.2.	Bestimmung der Kotkonsistenz .....	38
3.6.	Blutentnahme .....	38
3.6.1.	Allgemeinuntersuchung.....	39
3.7.	Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit.....	39
3.7.1.	Prinzip.....	39
3.7.2.	Durchführung .....	39
3.7.2.1	Bestimmung der Rohnährstoffe.....	40
3.7.2.1.1	Trockensubstanz .....	40
3.7.2.1.2	Rohasche .....	40
3.7.2.1.3	Rohprotein.....	40
3.7.2.1.4	Rohfett.....	41
3.7.2.1.5	Rohfaser.....	41
3.7.2.1.6	NDF (Neutral Detergent Fiber).....	41
3.7.2.1.7	ADF (Acid Detergent Fiber) .....	42
3.7.2.1.8	TDF (Total Dietary Fiber).....	42
3.7.2.2	Bestimmung der Mengen- und Spurenelemente .....	43
3.7.2.2.1	Probenvorbereitung .....	43
3.7.2.2.2	Messung der Mengen- und Spurenelemente .....	44
3.7.2.3	Phosphorbestimmung.....	44
3.7.2.4	Titandioxidbestimmung.....	44

3.8.	Bestimmung der bakteriellen Metaboliten im Kot.....	44
3.8.1.	Kurzkettige Fettsäuren .....	45
3.8.1.1.	Prinzip.....	45
3.8.1.2.	Durchführung .....	45
3.8.2.	D- und L-Laktat .....	45
3.8.2.1.	Prinzip.....	45
3.8.2.2.	Durchführung .....	46
3.8.3.	Ammonium.....	46
3.8.3.1.	Prinzip.....	46
3.8.3.2.	Durchführung .....	46
3.8.4.	Phenol und Indol .....	47
3.8.4.1.	Prinzip.....	47
3.8.4.2.	Durchführung .....	47
3.8.5.	Biogene Amine.....	48
3.8.5.1.	Prinzip.....	48
3.8.5.2.	Durchführung .....	48
3.8.6.	Bestimmung des pH-Wertes.....	48
3.9.	Molekularbiologische Methoden .....	49
3.9.1.	Extraktion bakterieller DNA aus den Kotproben.....	49
3.9.2.	Illumina®-Sequenzierung.....	49
3.10.	Erstellung des Dendrogramms.....	50
3.11.	Bestimmung der Proteinabbauprodukte im Harn.....	50
3.11.1.	Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin.....	50
3.11.1.1.	Prinzip.....	50
3.11.1.2.	Durchführung .....	50
3.11.2.	Bestimmung von Indican .....	51
3.11.2.1.	Prinzip.....	51
3.11.2.2.	Durchführung .....	51
3.11.3.	Bestimmung von Phenol und Indol .....	52

3.11.3.1.	Prinzip .....	52
3.11.3.2.	Durchführung .....	52
3.11.4.	Bestimmung der Osmolalität .....	52
3.11.4.1.	Prinzip .....	52
3.11.4.2.	Durchführung .....	53
3.11.5.	Bestimmung des pH-Wertes .....	53
3.11.6.	Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Blut .....	53
3.12.	Statistische Auswertung .....	54
4.	Ergebnisse .....	55
4.1.	Versuchsdiäten .....	55
4.2.	Gesundheitszustand und Körpermasse der Hunde .....	58
4.3.	Trockenmasse, pH-Wert des Kotes und Kotkonsistenz .....	58
4.4.	Scheinbare Gesamtverdaulichkeit der Versuchsdiäten .....	59
4.5.	Intestinale mikrobielle Metabolite .....	63
4.6.	Zusammensetzung der fäkalen Mikrobiota .....	68
4.6.1.	Relatives Vorkommen bakterieller Phyla im Hundekot nach Fütterung der Versuchsdiäten .....	68
4.6.2.	Relatives Vorkommen bakterieller Ordnungen im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten .....	70
4.6.3.	Relatives Vorkommen bakterieller Genera im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten .....	72
4.6.4.	Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein × Faserquelle“ auf den Einfluss der Zusammensetzung bakterieller Phyla, Ordnungen und Genera im Kot .....	75
4.7.	Visualisierung der fäkalen Mikrobiota mittels Dendrogramm .....	80
4.7.1.	Visualisierung der relativen Abundanz der fäkalen Mikrobiota mittels „Heatmap“ .....	82
4.7.2.	Visualisierung der Verteilung der fäkalen Mikrobiota mittels Balkendiagramm .....	83
4.8.	Parameter in Harn und Blut .....	87
4.8.1.	Visualisierung der Korrelationen der Harnparameter zu Kreatinin .....	90

4.8.2.	Visualisierung der Relation der Exkretion von Kreatinin im Harn zu den Diäten .....	92
4.8.3	Natrium und Kalium im Harn zur Abschätzung des theoretischen Harnvolumens .....	94
5.	Diskussion.....	96
5.1.	Versuchsdesign.....	96
5.2.	Versuchstiere und –diäten.....	96
5.3.	Diskussion der Ergebnisse .....	97
5.3.1.	Kotkonsistenz, fäkale Trockenmasse und pH-Wert .....	97
5.3.2.	Scheinbare Gesamtverdaulichkeit der Versuchsdüäten.....	99
5.3.3.	Bakterielle Metaboliten der Kotproben.....	101
5.3.3.1.	D/L- Laktat .....	101
5.3.3.2	Kurzkettige Fettsäuren .....	102
5.3.3.3	Biogene Amine.....	103
5.3.3.4	Ammonium.....	104
5.3.3.5	Phenol und Indol .....	106
5.3.4	Illumina 16sDNA-Sequenzierung .....	107
5.3.5	Visualisierungen der fäkalen Mikrobiota mittels Dendrogramm, „Heatmap“ und Balkendiagramm .....	110
5.3.6	Beurteilung der Parameter in Harn und Blut.....	111
5.3.6.1	Harnstoff und Kreatinin im Blut.....	111
5.3.6.2	Harnstoff und Kreatinin im Harn .....	111
5.3.6.3	Indican im Harn.....	112
5.3.6.4	Phenol und Indol im Harn.....	113
5.3.6.5	Osmolalität und pH- Wert im Harn.....	114
5.3.6.6	Korrelationen von Kreatinin zu den anderen analysierten Harnparametern..	115
5.3.6.7	Natrium und Kalium zur Abschätzung des Gesamtharnvolumens und Berechnung der theoretisch ausgeschiedenen Menge anderer Harnparameter.....	115
5.4	Schlussfolgerung und Ausblick .....	116
6	Zusammenfassung.....	117

7	Summary.....	119
8	Literaturverzeichnis .....	121
	Anhang.....	139
	A1 Blutentnahme .....	139
	A2 Scheinbare Gesamtverdaulichkeit .....	139
	A3 Bestimmung von NDF, ADF und TDF .....	143
	A4 Bestimmung kurzkettiger Fettsäuren im Kot .....	144
	A5 Bestimmung von D- und L-Laktat im Kot .....	145
	A6 Bestimmung von Ammonium .....	148
	A7 Bestimmung von Phenol und Indol im Kot .....	150
	A8 Bestimmung biogener Amine im Kot.....	151
	A9 Extraktion der DNA aus den Kotproben .....	151
	A10 Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Harn .....	152
	A11 Bestimmung von Indican im Harn .....	152
	A12 Bestimmung von Phenol und Indol im Harn .....	153
	A13 Bestimmung der Osmolalität im Harn .....	154
	A14 Bestimmung des pH-Wertes in Kot und Harn .....	154
	Veröffentlichungen .....	155
	Danksagung .....	156
	Selbstständigkeitserklärung.....	157

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verschiedene Analysemethoden und deren Erfassung verschiedener Faserstoffe Opitz (1996) modifiziert nach Schrag (1999) und Krug (2010).....	7
Tabelle 2: Übersicht der Zusammensetzung von Birtreber in der Literatur [in g/100g Trockenmasse], modifiziert nach Lynch et al. (2016).....	13
Tabelle 3: Übersicht der Zusammensetzung von Karottentrester in der Literatur [in g/100 g Trockenmasse].....	15
Tabelle 4: Übersicht über den Rohproteingehalt [in % TS] sowie die scheinbare Verdaulichkeit [in %] verschiedener tierischer und pflanzlicher Proteinquellen für Hunde.....	19
Tabelle 5: Literaturübersicht über Studien mit verschiedenen Proteinquellen -und mengen sowie verschiedenen Faserstoffen und -mengen an Hunden.....	31
Tabelle 6: Gruppeneinteilung, Name, Geschlecht und Geburtsdatum der Versuchshunde...	35
Tabelle 7: Zusammensetzung der Versuchsdiäten.....	36
Tabelle 8: Beurteilung der Kotkonsistenz anhand eines Scoring Systems.....	38
Tabelle 9: Zusammensetzung und analytische Bestandteile der Versuchsdiäten.....	56
Tabelle 10: Übersicht der Faser- und Proteingehalte der Versuchsdiäten.....	57
Tabelle 11: Analytische Bestandteile des Birtrebers (Firma Tremonis GmbH, Dortmund) und des Karottentresters (Firma Ernteband Fruchtsaft GmbH, Winnenden).....	57
Tabelle 12: pH-Werte und Trockenmasse [g/kg ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf Versuchsdiäten; n=10.....	58
Tabelle 13: Durchschnittliche Kotkonsistenz der Fäzes der Hunde nach Versuchsfütterung; n=10.....	59
Tabelle 14: Scheinbare Gesamtverdaulichkeit [%] der Rohnährstoffe im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf verschiedenen Versuchsdiäten; n=10.....	60
Tabelle 15: Scheinbare Gesamtverdaulichkeit [%] der Mengenelemente im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf verschiedenen Versuchsdiäten; n=10.....	61
Tabelle 16: Scheinbare Gesamtverdaulichkeit [%] der Spurenelemente im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf verschiedenen Versuchsdiäten; n=10.....	62
Tabelle 17: Konzentration der mikrobiellen Metabolite D-Laktat, L-Laktat, verzweigt-kettige Fettsäuren (BCFA), kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) (gesamt), biogene Amine (gesamt) und Ammonium [ $\mu\text{mol/g}$ ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach deren Fütterung mit den fünf Versuchsdiäten; n=10.....	64

Tabelle 18: Konzentration von Putrescin, Histamin, Cadaverin, Spermidin und Spermin [ $\mu\text{mol/g}$ ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach deren Fütterung mit den fünf Versuchsdiäten; n=10 .....	65
Tabelle 19: Konzentration von Essigsäure, Propionsäure, i-Buttersäure, n-Buttersäure, i-Valeriansäure und n-Valeriansäure [ $\mu\text{mol/g}$ ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach deren Fütterung mit den fünf Versuchsdiäten; n=10 .....	66
Tabelle 20: Konzentration von Phenol, Indol, p-Cresol, 4-Ethylphenol und 7-Methylphenol [in $\mu\text{g/mg}$ ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf Versuchsdiäten, n=10 .....	67
Tabelle 21: Relatives Vorkommen [in %] bakterieller Phyla im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten; n=10.....	69
Tabelle 22: Relatives Vorkommen [in %] bakterieller Ordnungen im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten; n=10 .....	71
Tabelle 23: Relatives Vorkommen [in %] bakterieller Genera im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten; n=10 .....	73
Tabelle 24: Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein x Faserquelle“ auf die Zusammensetzung bakterieller Phyla im Kot der Hunde .....	75
Tabelle 25: Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein x Faserquelle“ auf die Zusammensetzung bakterieller Ordnungen im Kot der Hunde.....	76
Tabelle 26: Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein x Faserquelle“ auf die Zusammensetzung bakterieller Gattungen im Kot der Hunde.....	78
Tabelle 27: Ausgewählte Parameter im Harn und Blut nach Fütterung der Hunde mit den fünf verschiedenen Versuchsdiäten; n=10.....	88
Tabelle 28: Konzentration von Phenol, Indol, 4-Ethylphenol, 3-Methylindol und 7-Methylphenol [in $\text{nmol/ml}$ ] im Harn der Hunde nach Fütterung der fünf Versuchsdiäten, n=10 .....	89
Tabelle 29: P-Werte der Korrelationen der nicht normalisierten und normalisierten Parameter (=Parameter/Kreatinin) im Harn mit dem Faktor „Faser“ .....	90
Tabelle 30: P-Werte der Korrelationen der nicht normalisierten und normalisierten Parameter (=Parameter/Kreatinin) im Harn mit dem Faktor „Protein“.....	90
Tabelle 31: Übersicht der theoretisch ausgeschiedenen Harnvolumina/Tag [ml/Tag] über Natrium und Kalium berechnet sowie die daraus berechnete theoretische tägliche Ausscheidung ausgewählter Harnparameter bei den Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten, n=10.....	95
Tabelle 32: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien der Blutentnahme .....	139
Tabelle 33: Verwendete Geräte, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien zur Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit im Kot .....	139



Tabelle 34: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat-Lösung für die Bestimmung von Phosphor: Herstellung der Lösung A: Ammoniummolybdat-Lösung .....	141
Tabelle 35: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat-Lösung für die Bestimmung von Phosphor: Herstellung der Lösung B: Ammoniummetavanadat-Lösung .....	141
Tabelle 36: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat-Lösung für die Bestimmung von Phosphor: Herstellung der Nitrovanadatmolybdat-Lösung.....	142
Tabelle 37: Zusammensetzung der Kalibrierlösung für die Bestimmung von Phosphor .....	142
Tabelle 38: Pipettierschema der Standardreihe (in der Makroküvette) für die Bestimmung von Phosphor.....	142
Tabelle 39: Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien zur Bestimmung von NDF, ADF und TDF .....	143
Tabelle 40: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot der Hunde.....	144
Tabelle 41: Herstellung der Standardlösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot .....	144
Tabelle 42: Herstellung der Stammlösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot .....	145
Tabelle 43: Herstellung der Verdünnungslösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot.....	145
Tabelle 44: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung von D- und L-Laktat im Kot der Hunde.....	145
Tabelle 45: Herstellung der Lösung A: Kupfer-II-Sulfat-Lösung mit 2-Propanol zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot.....	146
Tabelle 46: Herstellung der Lösung B: Kupfer-II-Sulfat-Lösung zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot.....	146
Tabelle 47: Herstellung der Lösung C: Carrez I zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot .....	146
Tabelle 48: Herstellung der Lösung D: Carrez II zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot .....	147
Tabelle 49: Herstellung der Stammlösung (10 mmol/L) zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot.....	147
Tabelle 50: Herstellung der 1 mmol/L-Lösung zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot .....	147
Tabelle 51: Herstellung der 0,1 mmol/L-Lösung zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot .....	148
Tabelle 52: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung von Ammoniumkonzentration im Kot der Hunde .....	148

Tabelle 53: Herstellung des MOPS-Puffers (pH 7) zur Bestimmung von Ammonium .....	149
Tabelle 54: Herstellung von 1000 $\mu$ M Ammonium in MOPS (pH 7) zur Bestimmung von Ammonium .....	149
Tabelle 55: Herstellung einer Natriumhypochloritlösung (0,2 %) in 1 M Natriumhydroxid für die Bestimmung von Ammonium.....	149
Tabelle 56: Standardreihe für die Ammoniumbestimmung .....	150
Tabelle 57: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung von Phenol und Indol im Kot der Hunde.....	150
Tabelle 58: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung der biogenen Amine im Kot der Hunde .....	151
Tabelle 59: Verwendete Geräte und Materialien zur Extraktion der DNA aus den Kotproben der Hunde .....	151
Tabelle 60: Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien zur Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Harn der Hunde .....	152
Tabelle 61: Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien zur Bestimmung von Indican im Harn der Hunde.....	152
Tabelle 62: Standard-Stammlösung: Bestandteil des Kits; Konzentration: 30 mg/dl .....	153
Tabelle 63: Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien zur Bestimmung von Phenol und Indol im Harn der Hunde .....	153
Tabelle 64: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der Osmolalität im Harn der Hunde .....	154
Tabelle 65: Verwendete Geräte für die Bestimmung des pH-Wertes in Kot und Harn der Hunde .....	154

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Versuchsdesign und Probennahmezeitpunkte .....	37
Abbildung 2: Dendrogramm der fäkalen Mikrobiota der 10 Versuchshunde nach Fütterung der 5 Versuchsdiäten.....	81
Abbildung 3: Relative Abundanz der am häufigsten vorkommenden fäkalen Mikrobiota im Kot der Hunde nach Fütterung der Versuchsdiäten .....	82
Abbildung 4: Verteilung der fäkalen Mikrobiota der Hunde nach Fütterung der Versuchsdiäten .....	84
Abbildung 5: Verteilung der fäkalen Mikrobiota der Hunde nach Proteingehalt der Diäten....	85
Abbildung 6: Verteilung der fäkalen Mikrobiota der Hunde nach Faserquelle der Diäten .....	86
Abbildung 7: Korrelation von Kreatinin (Harn) zu Harnstoff (Harn) nach Fütterung der Versuchsdiäten .....	91
Abbildung 8: Korrelation von Kreatinin (Harn) zu Indican (Harn) nach Fütterung der Versuchsdiäten .....	91
Abbildung 9: Korrelation von Kreatinin (Harn) zur Osmolalität (Harn) nach Fütterung der Versuchsdiäten .....	92
Abbildung 10: Übersicht des über den Harn ausgeschiedenen Kreatinins nach Fütterung der Hunde mit den fünf Versuchsdiäten.....	93

## Abkürzungsverzeichnis

®	Eingetragenes Warenzeichen
Abb.	Abbildung
ADF	Acid Detergent Fiber
ADL	Acid Detergent Lignin
BARF	Biologisch Artgerechte Rohfütterung
BCFA	branched chain fatty acids/verzweigt-kettige Fettsäuren
Bp	Basenpaare
DNA	Desoxyribonucleic Acid/Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
Gf	Gesamtfasern
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IgG	Immunglobulin G
KM	Körpermasse
IF	lösliche Fasern
log	Logarithmus
max.	maximal
ME	Umsetzbare Energie
mk	männlich kastriert
mm	Millimeter
MOPS	3-N-Morpholinopropansulfonsäure
n.a.	nicht aufgeführt
n.d.	nicht detektiert
NDF	Neutral Detergent Fiber
NfE	Stickstofffreie Extraktstoffe
oS	organische Substanz
PCR	Polymerase Chain Reaction/Polymerase-Ketten-Reaktion
Ra	Rohasche
Rfa	Rohfaser
Rfett	Rohfett
Rp	Rohprotein
rpm	Umdrehungen pro Minute
rRNA	ribosomale Ribonucleic Acid/Ribonukleinsäure
SCFA	short chain fatty acids/kurzkettige Fettsäuren
sog.	sogenannt/e
spp.	species pluralis
sV	scheinbare Verdaulichkeit
Tab.	Tabelle
TDF	Total Dietary Fiber
TM	Trockenmasse
TS	Trockensubstanz
unIF	unlösliche Fasern
uS	Ursprüngliche Substanz
UV	Ultraviolett
VDLUFA	Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
VIS	visible

## Abkürzungsverzeichnis

w  
w/v  
z.B.

weiblich  
Masse pro Volumen  
zum Beispiel



### 1. Einleitung

In den letzten Jahren zeichnet sich ein steigender Trend unter Hundehaltern ab, Hunde entsprechend ihrem Vorfahren, dem Wolf, „natürlich“ zu ernähren. Diese Rationen sind oftmals sehr proteinreich und entsprechen mehr oder weniger in ihrer Zusammensetzung derjenigen eines Beutetieres. Es ist andererseits bekannt, dass überhöhte Eiweißgehalte in Rationen bei Hunden zu einem vermehrten Anfall an Metaboliten des Proteinstoffwechsels führen, die den Organismus belasten können. Allerdings liegen keine Studien vor, wie sich in diesem Zusammenhang Faserstoffe unterschiedlicher Fermentierbarkeit verdauungsphysiologisch bei Hunden verhalten.

Vor diesem Hintergrund sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, wie sich Diäten mit einem moderaten und einem erhöhten Proteingehalt in Kombination mit zwei unterschiedlich fermentierbaren Faserstoffen (Biertreber und Karottentrester) auf die scheinbare Gesamtverdaulichkeit der Nährstoffe sowie die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota bei Hunden auswirken. Um Rückschlüsse auf die Aktivität der intestinalen Mikrobiota ziehen zu können, wurden im Kot ausgewählte bakterielle Metabolite bestimmt. Zudem wurden Parameter des Proteinmetabolismus in Harn und Blut untersucht.

Weiterhin bestand das Ziel der Studie in der Gewinnung neuer Erkenntnisse, ob Biertreber und Karottentrester zukünftig in der Hundeernährung einsetzbar sind, da bisher Daten zu in-vivo Studien fehlen.

## 2. Literatur

### 2.1. Faserstoffe

#### 2.1.1. Systematik der Faserstoffe

Im Jahr 1864 wurde durch Henneberg und Stohmann mit der Weender Analyse zum ersten Mal eine verbindliche Methode publiziert, in der verschiedene Stoffgruppen in Futtermitteln summarisch erfasst werden. Als „Rohfaser“ werden hierbei hauptsächlich Zellulose, Hemizellulose und Lignin bezeichnet (Kamphues et al., 2014). Dieses Verfahren ist weltweit das Standardverfahren im Bereich der Faseranalytik, jedoch weist es einige Schwächen auf und ist heutzutage aus wissenschaftlicher Sicht aufgrund fehlender quantitativer Erfassung einzelner Faserfraktionen umstritten.

Von Prosky et al. (1988) und Van Soest et al. (1991) wurden erweiterte Analysen vorgestellt, um die Fraktionen der Fasern näher unterscheiden zu können.

In der Nahrung werden Faserstoffe umgangssprachlich als „Ballaststoffe“ (oder im angelsächsischen Sprachraum als „dietary fiber“) bezeichnet. Sie sind eine heterogene Stoffgruppe, für die es eine Vielzahl an Einteilungsmöglichkeiten und Definitionen gibt. Nach fast zwei jahrzehntelangen Diskussionen von Wissenschaftlern über eine geeignete und allgemein gültige Definition von Faserstoffen, veröffentlichte die *CODEX Alimentarius Commission* (CAC) im Jahr 2009 dazu einen eigenen Vorschlag. Die CODEX Kommission verfolgt damit das Ziel, eine weltweite Angleichung zu erreichen und eine Definition mit einer allgemeinen Akzeptanz zu schaffen (Jones, 2014).

Die Definition besagt (aus dem Original übersetzt): Diätetische Faserstoffe sind Kohlenhydratpolymere (engl.: carbon hydrogen oxygen, CHO) aus zehn oder mehr einzelnen Einheiten, welche im Dünndarm nicht von endogenen Enzymen hydrolysiert werden können und zu folgenden Kategorien zählen:

- Natürliche CHO Polymere, die mit der Nahrung aufgenommen werden,
- CHO Polymere, die auf physikalische, enzymatische oder chemische Weise aus Lebensmittelrohstoffen gewonnen werden,
- Synthetische CHO Polymere.

Unter dem Begriff „Fasern“ werden die in der Nahrung vorkommenden Überreste des Grundgerüsts von Pflanzenzellen beschrieben, die gegen die Verdauung durch körpereigene Enzyme im Gastrointestinaltrakt resistent sind (Trowell, 1972). Als Beispiele dafür werden



Lignin, Zellulose, Hemizellulosen, Pektin, Galaktomannane,  $\beta$ -Glukane sowie andere pflanzliche Polysaccharide genannt. Diese Stoffe werden auch unter dem Begriff der sog. „Nicht-Stärke-Polysaccharide“ (NSP) zusammengefasst, wobei Lignin davon auszuschließen ist, da es sich hierbei um ein Phenylpropanderivat handelt (Asp, 1987). Unter Nicht-Stärke-Polysacchariden versteht man alle Polysaccharide, die sich in der pflanzlichen Zellwand befinden (daher auch oftmals als „pflanzliche Gerüstsubstanzen“ bezeichnet), aber von Säugetieren aut-enzymatisch nicht abbaubar sind (Jeroch et al., 1999).

Neben Gerüstsubstanzen finden sich in Pflanzen auch Nicht-Stärke-Polysaccharide wie Inulin, welches ein Speicherkohlenhydrat darstellt. Auch diese Stoffe sind von Säugetieren enzymatisch nicht verdaubar (Cummings et al., 1997).

Im Gegensatz dazu ist es Säugetieren möglich, Stärke und andere  $\alpha$ -glykosidisch gebundene Kohlenhydrate enzymatisch abzubauen und somit zu verwerten.

Faserstoffe lassen sich nach Van Soest (1978) in zwei Klassen unterteilen:

1. Lösliche, fermentierbare Faserstoffe und
2. Unlösliche, nicht-fermentierbare Faserstoffe

Das Verhältnis zwischen löslichen und unlöslichen Faserstoffen ist in der Diätetik von entscheidender Bedeutung im Hinblick auf eine optimale Kotkonsistenz sowie intestinale Fermentation (Burkhalter et al., 2001). Zellulose und Lignin sind für Hunde wenig oder gar nicht fermentierbar bzw. unlöslich, wohingegen Pektine, Hemizellulosen, Inulin u.a. zu den löslichen, fermentierbaren Faserstoffen gezählt werden. Faserstoffe spielen für die mikrobielle Fermentation im Dickdarm eine wichtige Rolle und unterstützen bzw. fördern eine „stabile“ intestinale Mikrobiota (Van Soest, 1978).

### **Struktur und natürliches Vorkommen ausgewählter Faserstoffe**

#### Lignin

Lignin ist ein Polymer in der pflanzlichen Zellwand, welches nach Hemizellulose und Zellulose, zu den am häufigsten in der Natur vorkommenden Polymeren gehört. Die Hauptfunktion besteht in der strukturellen Unterstützung der Pflanze sowie im Schutz vor mikrobiellem Abbau (Hendriks und Zeeman, 2009). Es handelt sich hierbei nicht um ein Kohlenhydrat, sondern ein Phenylpropanderivat (Asp, 1987).

### Zellulose

Zellulose bildet das wichtigste Strukturpolysaccharid von pflanzlichen Zellwänden. Hierbei sind die Glukosemoleküle ausschließlich  $\beta$ -(1-4-) glykosidisch miteinander verbunden (Asp, 1987; Jeroch et al., 1999; Saini et al., 2015). Zellobiose (bestehend aus Glukose) ist dabei die kleinste, sich wiederholende Einheit (Saini et al., 2015). Jedes Glukosemolekül ist zu seinem benachbarten Glukosemolekül um  $180^\circ$  gedreht, was zu einer langgestreckten und unverzweigten Kette führt. Über Wasserstoffbrückenbindungen lagern sich diese Ketten aneinander, sodass sich sog. Mikrofibrillen ausbilden. Diese Mikrofibrillen sorgen durch entsprechende Verdrillung mit anderen Mikrofibrillen für die Stabilität in pflanzlichen Zellwänden (Jeroch et al., 1999).

Die meisten Verbindungen, die  $\beta$ -(1-4-) glykosidisch verknüpft sind, sind für Säugetiere aut-enzymatisch nicht aufschließbar (Jeroch et al., 1999).

### Hemizellulose

Bei Hemizellulose handelt es sich um ein kurzes, jedoch hochverzweigtes Polymer, welches sich aus Pentosen (D-Xylose und L-Arabinose) sowie Hexosen (D-Mannose, D-Galaktose, D-Glukose) zusammensetzt (Saini et al., 2015).

### Pektine

Als Pektine werden Polysaccharide bezeichnet, die in der pflanzlichen Zellwand eine Festigungs- und Stützfunktion haben. Sie bestehen fast ausschließlich aus D-Galacturonsäureestern, welche über eine  $\alpha$ -(1-4-) glykosidische Bindung miteinander verknüpft sind (Jeroch et al., 1999) und bilden in kühler Umgebung eine gelartige Masse aus (Asp, 1987).

Pektine finden sich z.B. reichlich in Verarbeitungsprodukten wie Trester von Apfel, Pfirsich, Papaya, Passionsfrucht und Zitrusfrüchten (Schieber et al., 2001).

### 2.1.2. Analytik

Die Analytik von Faserstoffen blickt auf eine weitreichende und vielfältige Vergangenheit zurück (McCleary, 2003). Sie spielt nicht nur in der Humanernährung eine wichtige Rolle (Englyst et al., 2007), sondern auch in der Ernährung von Hunden und Katzen (Jung, 1997; Opitz et al., 1998; de-Oliveira et al., 2012). Zur Bestimmung der nicht aut-enzymatisch verdaulichen Faserstoffe liegen mehrere Methoden vor. Man unterscheidet:

1. Gravimetrische Methoden (Weender Analyse und Detergenzverfahren nach van Soest)

2. Enzymatisch-gravimetrische Methoden: „Association of Official Analytical Chemists“ AOAC Verfahren nach Prosky
3. Gaschromatographische Methoden: NSP Methode nach Englyst

Im Folgenden sollen die einzelnen Methoden näher beschrieben werden.

1. Gravimetrische Methoden

- a. Weender Analyse

Diese Methode stellt ein summarisches Verfahren dar, bei dem die Anteile der stickstofffreien Extraktstoffe (engl.: nitrogen-free extracts, NfE) (durch Differenz berechnet) sowie Rohfaser (Rfa) erfasst werden (Kamphues et al., 2014). Hierbei wird als Rohfaser der Rückstand bezeichnet, der in verdünnten Säuren und Laugen sowohl unlöslich als auch fett- und aschefrei zurückbleibt. Dies betrifft vor allem Teile der Zellulose, Hemizellulose und des Lignins. Der Teil, welcher in der Lösung verbleibt, wird der NfE-Fraktion zugerechnet.

- b. Detergenzverfahren nach van Soest

Bei diesem Verfahren wird die Rohfaser in die Untergruppen Zellulose, Hemizellulose und Lignin eingeteilt. Unter dem Begriff „NDF“ (engl. = neutral detergent fiber) versteht man den Rückstand, der nach dem Kochen in neutraler Detergentienlösung (Natriumlaurylsulfat, EDTA, pH 7) verbleibt. Es handelt sich dabei hauptsächlich um Zellulose, Hemizellulose und Lignin.

Beim sog. „ADF“ (engl. = acid detergent fiber) handelt es sich um Rückstände nach dem Kochen in sauren Detergentien (Cetyltrimethylammoniumbromid in 1n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), dies sind vor allem Zellulose und Lignin (Van Soest, 1963). Löst man daraus wiederum mit 72%iger H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Lösung die Zellulose, erhält man im Rückstand das Lignin, was auch als „ADL“ (engl. = acid detergent lignin) bezeichnet wird.

Somit lassen sich die Anteile rechnerisch nach Kamphues et al. (2014) bestimmen:

Hemizellulose = NDF-ADF

Zellulose = ADF-ADL

Lignin = ADL

### 2. Enzymatisch-gravimetrisches Verfahren nach Prosky (AOAC)

Dieses Analyseverfahren ist das erste von der AOAC anerkannte Verfahren um den Gehalt einer Probe an Gesamtfaserstoffen (engl. = Total Dietary Fiber, TDF) zu bestimmen und findet weltweit Anwendung.

Im ersten Schritt werden die zu untersuchenden Proben bei 100°C mit einer hitzestabilen  $\alpha$ -Amylase gekocht, um die enthaltene Stärke zu hydrolysieren und zu depolymerisieren. Anschließend wird das Gemisch bei 60°C mit einer Protease inkubiert. Hierbei werden die Proteine gelöst und depolymerisiert. Als letztes Enzym kommt eine Amyloglucosidase zum Einsatz, welche die Stärkefragmente in Glucose hydrolysiert. Um die löslichen Fasern zu fällen und die zuvor depolymerisierten Proteine und Glucose zu entfernen, wird das vierfache Volumen an Ethanol (95%ig, 60°C warm) dazugegeben. Der Rückstand wird jetzt gefiltert, gewaschen (78%iges Ethanol, 95%iges Ethanol, Aceton), über Nacht im Trockenschrank getrocknet und anschließend zurückgewogen. Jeweils ein Duplikat wird auf Protein und Asche analysiert. Der Gehalt an TDF berechnet sich, indem das Gewicht des Protein- und Aschegehaltes vom Gewicht des gefilterten und getrockneten Rückstandes abgezogen wird.

Bei dieser Methode können der Gehalt an löslichen, unlöslichen sowie der Gesamtfasergehalt bestimmt werden (Prosky et al., 1985).

### 3. Gaschromatografische Methode (NSP nach Englyst)

Diese Methode bestimmt die Nicht-Stärke-Polysaccharide, wobei Stärke enzymatisch aufgeschlossen wird. Anschließend werden mittels saurer Hydrolyse die Fraktion der NSP ausgefällt (Englyst und Cummings, 1988). Die dabei anfallenden Zucker können z.B. gaschromatografisch weiter aufgeschlüsselt werden (z.B. in einzelne Monosaccharide) (Englyst und Cummings, 1988; Kamphues et al., 2014). Bei diesem Verfahren wird weiterhin zwischen löslichen und unlöslichen Fasern unterschieden (Englyst und Cummings, 1988).

Tabelle 1: Verschiedene Analysemethoden und deren Erfassung verschiedener Faserstoffe  
Opitz (1996) modifiziert nach Schrag (1999) und Krug (2010)

	Weender Analyse	(Van Soest, 1963; Van Soest und Wine, 1967)	NSP nach Englyst 1988 (Gaschromato- grafie)	nach AOAC nach Prosky (1985)							
	Rfa	NDF	ADF	ADL	Gf	IF	unIF	Gf	IF	unIF	
Lignin	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
Zellulose	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	
Hemizellulose	+/-	+	-	-	+/-	-	+/-	+	-	+	
Pektine	+/-	-	-	-	+/-	+/-	-	+	+	-	

+	größtenteils erfasst	ADL	Acid detergent lignin
-	geringfügig erfasst	Gf	Gesamtfasern
+/-	unterschiedlich erfasst	IF	lösliche Fasern
Rfa	Rohfaser	unIF	unlösliche Fasern
ADF	Acid detergent fiber		

### 2.1.3. Effekte auf die intestinale Mikrobiota

Der Einsatz von fermentierbaren Fasern in einer Diät führte bei Hunden in vielen Studien zu einer Beeinflussung der intestinalen Mikrobiota (Zentek, 1996; Topping und Clifton, 2001; Middelbos et al., 2007; Barry et al., 2009; Faber et al., 2011; Kröger et al., 2017) und dadurch zu einer veränderten fermentativen Aktivität im Darm (Barry et al., 2009). Durch die Fermentierung zu kurzkettigen Fettsäuren wird löslichen bzw. fermentierbaren Fasern ein positiver Einfluss auf die Erhaltung der Gesundheit von Kolonozyten zugeschrieben (Topping und Clifton, 2001; Bosch et al., 2008; Fung et al., 2012; Pieper et al., 2012), zudem können sie die intestinale Motilität fördern (Suchodolski, 2011a). Zu den kurzkettigen Fettsäuren zählen hauptsächlich Essigsäure (Acetat), Buttersäure (Butyrat) und Propionsäure (Propionat), wobei vor allem Buttersäure positive Wirkungen zugesprochen werden (Sunvold et al., 1995b; Topping und Clifton, 2001; Middelbos et al., 2007).

Lösliche Faserstoffe wie z.B. Pektin können das Wachstum von Laktatbildnern (Laktobazillen und Enterokokken) begünstigen (Zentek, 1996). Eine erhöhte Laktatproduktion im Darm wird

mit positiven Auswirkungen für den Wirt verbunden, da Laktat die Bildung toxischer Metaboliten im Darm (Indol, Amine, Ammonium) reduzieren kann (Terada et al., 1992; Zentek, 1996).

Auch bei Middelbos et al. (2007) konnte durch das Verfüttern von löslichen Faserstoffen die Abundanz von Laktobazillen und Bifidobakterien im Kot der Versuchshunde erhöht werden. Dies konnten auch Faber et al. (2011) in ihrer Studie bestätigen, indem sie Galactoglucomannan Oligosaccharide an Hunde verfütterten. Grieshop et al. (2004) konnten ebenfalls die Abundanz von Bifidobakterien im Kot von Hunden steigern, als sie für ihre Studie 1% Chicorée oder 1% Mannanoligosaccharide in den Versuchsdiäten einsetzten.

Diese Beobachtung bestätigen auch die Ergebnisse der Studie von Maria et al. (2017), in der die Auswirkungen einer unlöslichen Faserquelle (Zuckerrohr) und einer Diät mit einer löslichen Faserquelle (Rübenschntzel) bei Hunden auf die intestinale Mikrobiota untersucht wurde. Hier erzeugte Zuckerrohr ein Absinken der Abundanz von *Lactobacillus* spp. im Kot der Hunde.

Terada et al. (1992) verabreichten 1,5 g (1 mal täglich über 2 Wochen) des präbiotischen Oligosaccharids Lactosucrose an acht Schäferhunde. Dabei konnten sie zeigen, dass dadurch die Zahl der Bifidobakterien im Kot der Hunde signifikant anstieg ( $p \leq 0,05$ ), während die Konzentration von *Clostridium perfringens* signifikant vermindert wurde ( $p \leq 0,05$ ). Die fäkale Konzentration an Phenol, Indol, Skatol, Ammonium und Aminen konnte durch die Lactosucrose signifikant reduziert werden.

Es scheint jedoch eine gewisse Menge an löslichen Faserstoffen nötig zu sein, um die intestinale Mikrobiota beeinflussen zu können. Barry et al. (2009) konnten mit einer Supplementierung von 0,2 bzw. 0,4 % Inulin und kurzkettigen Fructooligosacchariden keine Veränderungen in der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota beobachten. Es ist denkbar, dass beide Faserquellen bereits vollständig im proximalen Verdauungstrakt bzw. Kolon fermentiert wurden, folglich daher keine Fruktane für die Fermentation im distalen Kolon vorhanden waren und somit keine Änderung der Mikrobiota im Kot nachgewiesen werden konnte (Barry et al., 2009).

#### 2.1.4. Auswirkung verschiedener Faserstoffen auf verdauungsphysiologische Parameter

Die Kotkonsistenz wird nicht nur durch die Quantität, sondern vor allem durch die Qualität pflanzlicher Faserstoffe beeinflusst (Zentek, 1995b). In einem in-vitro Versuch von Sunvold et al. (1995a) führte der Einsatz einer moderat fermentierbaren Faserquelle (Rübenschnitzel) zu einem wohlgeformten Kot.

In einer Studie von Zentek (1996) reagierten Hunde auf das Verfüttern der löslichen Faserstoffe Guar und Pektin mit einer weich-schmierigen Kotkonsistenz, während der Kot der Hunde beim Einsatz von Zellulose geformt war. Es wurde gefolgert, dass lösliche Fasern in Diäten für Hunde nur bedingt eingesetzt werden sollten, um negativen Effekten auf die Formung des Kots vorzubeugen.

In der Studie von Bosch et al. (2009) konnte keine Veränderung der Kotkonsistenz festgestellt werden, hier wurden 8,5 % Zellulose oder 8,5 % Zuckerrübenschnitzel und 2 % Inulin eingesetzt. Die in Zitruspülpe und Apfeltrester enthaltenen Pektine erzeugten in der Studie von Brambillasca et al. (2013) eine höhere Defäkationsfrequenz und -menge, jedoch ohne Beeinflussung der Kotkonsistenz. Diese Beobachtungen konnten auch in einer Studie von Fahey et al. (1990b) gemacht werden. Auch bei Middelbos et al. (2007) konnten keine Änderungen in der Kotkonsistenz bei Zusatz von löslichen Faserstoffen beobachtet werden. In dieser Studie wurden Zellulose, Rübenschnitzel oder Mischungen aus Fructooligosacchariden, Zellulose und Hefezellwänden zu je 2,5 % den Diäten zugesetzt.

Neben beschriebenen Effekten fermentierbarer Fasern auf die Kotkonsistenz kann der Einsatz von löslichen Fasern in einer Diät bei Hunden einen wichtigen Beitrag zur gastrointestinalen Gesundheit leisten (Middelbos et al., 2007; Brambillasca et al., 2013), beispielsweise durch eine vermehrte Produktion kurzkettiger Fettsäuren (Bosch et al., 2009). Die Studienlage zeigt, dass die intestinale Transitzeit vom Fasertyp und der Fasermenge abhängt (Mercurio und Behm, 1981; Burrows et al., 1982). Vor allem unlösliche Fasern werden mit dem Kot ausgeschieden und erhöhen die Kotmengen (Burrows et al., 1982; Fung et al., 2012), was durch die verkürzte Transitzeit im Kolon zu einer verringerten Exposition der Kolonozyten mit Karzinogenen führt (Fung et al., 2012). Somit wird das Risiko eines kolorektalen Tumors verringert (Fung et al., 2012). Allerdings liegen dazu bei Hunden keine Studien vor.

Zuckerrohrpülpe, als Beispiel einer unlöslichen Faserquelle, führte in der Studie von Maria et al. (2017) zu einer erhöhten fäkalen Trockenmasse ( $p \leq 0,05$ ). Dieser Effekt konnte auch in anderen Studien mit unlöslichen Faserstoffen beobachtet werden (Wichert et al., 2002; Kröger

et al., 2017), wobei dies jedoch von der Faserlänge abhängig ist (Wichert et al., 2002). In dieser Studie wurde beobachtet, dass es einen möglichen Zusammenhang zwischen der Faserlänge der Zellulose und deren Wasserbindungskapazität gibt. Mikrokristalline Zellulose (32-75 µm) führte im Gegensatz zu längerer Zellulose (300 µm) zu einer pastösen Kotkonsistenz. Fasern mit einer Länge von > 300 µm zeigten keinen Unterschied bei den Kotkonsistenzen, sodass die Wasserbindungskapazität von Zellulose insbesondere bei geringer Faserlänge eine Auswirkung zu haben scheint.

In einer Studie von Bosch et al. (2009) konnte gezeigt werden, dass der Einsatz von hoch fermentierbaren Faserstoffen in einer Ration das Sättigungsgefühl steigern kann. Damit ist dies möglicherweise ein interessanter Ansatz für adipöse Patienten. Auch Sabchuk et al. (2014) fanden in ihrer Studie heraus, dass Sojaschalen als Faserstoffe in einer Diät die Energieaufnahme von Hunden senken.

Ebenso ist bekannt, dass Faserstoffe allgemein (vor allem lösliche) eine wichtige Rolle in der Behandlung von Krankheiten des Gastrointestinaltrakts (chronische Dün- und Dickdarmerkrankungen, Colitis, Diarrhoe) spielen können (Guilford und Matz, 2003) oder die Palatibilität eines Futters beeinflussen (Koppel et al., 2015). In der Studie von Koppel et al. (2015) wurde untersucht wie sich verschiedene Faserstoffe (Guave, Zuckerrohr, Weizenkleie sowie eine Kontrollgruppe ohne zusätzliche Faserquelle) in verschiedenen Konzentrationen und Partikelgrößen auf die Futteraufnahme und die Palatibilität bei Hunden auswirken. Dabei wurden Diäten mit größerer Partikelgröße der Fasern bevorzugt. Daraus wurde geschlussfolgert, dass sowohl die Faserquelle als auch die deren Partikelgröße einen nicht unerheblichen Einfluss auf die Futteraufnahme und damit auch auf die Palatibilität eines Hundefutters haben.

## 2.2. Biertreber

### 2.2.1. Aufbau, Struktur und Eigenschaften

Als Biertreber wird ein Nebenprodukt bei der Bierherstellung bezeichnet, das als unlöslicher Teil des Gerstenmalzes zurückbleibt (Aura et al., 2013; Buffington, 2014; Mussatto, 2014). Die jährlich weltweit anfallende Menge an Biertreber wird auf  $38,6 \times 10^6$  t geschätzt (Mussatto, 2014). Biertreber gilt als sehr kostengünstiges Nebenprodukt (Mussatto et al., 2006; Ainsworth et al., 2007; Mussatto, 2014) und ist besonders reich an Kohlenhydraten, Protein sowie Mineralstoffen, wobei die jeweilige Zusammensetzung von verschiedenen Faktoren abhängt.



Dazu zählen beispielsweise die Wahl der verwendeten Gerste, die Wachstumsbedingungen und der Erntezeitpunkt sowie weitere Bedingungen die beim Mälzen und Maischen unterschiedlich sein können (Santos et al., 2003; Mussatto, 2014; Steiner et al., 2015). Unabhängig von den genannten Variationen enthält Biertreber viele Faserstoffe (70 % TM) und Protein (20 % TM) (Mussatto et al., 2006). Zucker stellen beim Biertreber eine wichtige Fraktion dar, wobei Hemizellulose hierbei hauptsächlich von Xylose, Arabinose und Zellulose aus Glucose gebildet werden (Mussatto, 2014). Besonders der Anteil an unlöslichen Fasern ist beim Biertreber sehr hoch (Makowska et al., 2013).

Nach Hemizellulose und Zellulose ist Lignin eines der am häufigsten in der Natur vorkommenden Polymere und befindet sich in der Zellwand. Die Hauptaufgabe von Lignin besteht in der Unterstützung der Stabilität der Pflanze sowie im Schutz vor mikrobieller Aktivität und oxidativem Stress (Perez et al., 2002). Auf struktureller Ebene betrachtet, ist Lignin ein amorphes, wasserunlösliches und optisch inaktives Heteropolymer (Perez et al., 2002).

Etwa 30 % des Proteingehaltes des Biertrebers bestehen aus essentiellen Aminosäuren (Mussatto, 2014). Weiterhin finden sich verschiedene Mineralstoffe im Biertreber, wobei der Gehalt an Silizium und Phosphor besonders hoch ist. Vor allem im Vergleich mit Getreidearten wie Reis oder Hafer weist Biertreber einen erhöhten Phosphor- und Calciumgehalt auf (Mussatto, 2014). Ebenfalls beachtlich ist der Vitamingehalt von Biertreber (Ikram et al., 2017).

Derzeit findet Biertreber seine Hauptverwendung in der Verfütterung an Rinder (McCarthy et al., 2012; Aura et al., 2013; Mussatto, 2014). Brauereien stellen Landwirten dieses Nebenprodukt zu einem geringen Preis zur Verfügung, die es anschließend in nasser oder getrockneter Form verfüttern (Mussatto, 2014). Doch auch bei anderen Tierarten wie Schweinen (Serena et al., 2009; Ngoc et al., 2012), Geflügel (Denstadli et al., 2010) und Fischen (Kaur und Saxena, 2004) wurde Biertreber wegen seiner günstigen Nährstoffzusammensetzung als Futtermittel bereits eingesetzt. Das Interesse ist mittlerweile auch für den Einsatz in der Humanernährung geweckt (Mussatto, 2014; Ikram et al., 2017). Durch den hohen Gehalt an Faserstoffen, Protein und Mineralien konnte eine Reihe positiver Effekte beim Einsatz in einer Diät beobachtet werden. Kanauchi et al. (2001) beschreiben durch die Gabe von Biertreber bei Patienten mit ulzerativer Colitis eine Verbesserung des klinischen Krankheitsbildes und eine erhöhte fäkale Butyratausscheidung.

Vor allem durch seinen hohen Gehalt an Faserstoffen stellt Biertreber eine gute Faserquelle für die menschliche Ernährung dar (Ainsworth et al., 2007; McCarthy et al., 2012; Makowska et al., 2013; Steiner et al., 2015).

## Literatur

Zusammenfassend ist Biertreber durch seinen hohen Protein - und Fasergehalt ein vielversprechendes und interessantes Produkt für Tierfutter und biotechnologische Anwendungen (Biogas- und Ethanolherstellung, Papierherstellung) (Xiros und Christakopoulos, 2012; Mussatto, 2014; Steiner et al., 2015).

Trotz aller Bemühungen, Biertreber auch anderweitig einzusetzen, finden Brauereien derzeit durch die Verfütterung an Wiederkäuer die größte Abnahmemöglichkeit (Mussatto, 2014). Eine Übersicht über die Zusammensetzung von Biertreber bietet Tabelle 2.

## Literatur

Tabelle 2: Übersicht der Zusammensetzung von Biertreber in der Literatur [in g/100g Trockenmasse], modifiziert nach Lynch et al. (2016)

	Kanauchi et al. (2001)	Santos et al. (2003)	Carvalho (2004)	Kaur und Saxena (2004)	Mussatto et al. (2006)	Xiros et al. (2008)	Niemi et al. (2012)	Ngoc et al. (2012)	Waters et al. (2012)	Buffington (2014)
Kohlenhydrate	59,0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	42,2	n.a.	64,9	49,1
- Arabinoxylose	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	28,4	n.a.	22,2	n.a.	22,2	n.a.
- Glucan	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	17,1	n.a.	n.a.	n.a.
- Zellulose	25,4	n.a.	21,9	n.a.	16,8	12,0	n.a.	11,2	n.a.	22,2
- Hemizellulose	21,8	n.a.	29,6	n.a.	28,4	40,0	n.a.	46,4	n.a.	26,8
Lignin	20,1	16,0	21,7	n.a.	27,8	11,5	19,43	11,2	n.a.	14,1
Rohfaser	n.a.	n.a.	n.a.	20,5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Rohprotein	24,0	31,0	24,6	24,5	15,2	14,2	22,8	30,8	n.a.	n.a.
Rohfett	10,6	3,00- 6,00	n.a.	n.a.	n.a.	13,0	11,0	n.a.	7,12	n.a.
Rohasche	2,40	4,00	1,2	4,7	4,60	3,30	4,70	n.a.	n.a.	n.a.

n.a. = nicht aufgeführt

## 2.3. Karottentrester

### 2.3.1. Aufbau, Struktur und Eigenschaften

Die Karotte (*Daucus carota*) ist eines der wichtigsten Wurzelgemüse weltweit (Nicolle et al., 2003; Sharma et al., 2012) und besitzt für Mensch und Tier viele gesundheitsfördernde Eigenschaften (Chau et al., 2004; Sharma et al., 2012). Karotten stellen eine gute Quelle von Karotinoiden, Faserstoffen und Spurenelementen dar (Sharma et al., 2012). Sie enthalten außerdem interessante sekundäre Pflanzenstoffe (Sharma et al., 2012). Vor allem die enthaltenen Faserstoffe und Karotinoide werden mit einem antioxidativem Schutz assoziiert (Nicolle et al., 2003). Eine wichtige Aufgabe der Karotinoide besteht in der Funktion als Vorstufe für Vitamin A (Nicolle et al., 2003). Durch ihren hohen Gehalt an natürlichen Antioxidantien gilt der Konsum von Karotten als krebsvorbeugend (Sharma et al., 2012).

Seit ein paar Jahren kann in vielen Ländern ein stetig wachsender Konsum von Karottensaft beobachtet werden (Schieber et al., 2001). Als Nebenprodukt der Gemüsesaftindustrie fallen jährlich tausende Tonnen Karottentrester an, welcher reich an Faserstoffen (hauptsächlich Pektine, Hemizellulose und Zellulose) ist.

Bisher wird Karottentrester hauptsächlich in der Tierernährung oder als Düngemittel eingesetzt (Chau et al., 2004; Hsu et al., 2006; Sharma et al., 2012). Ein Großteil verbleibt allerdings trotzdem als Abfallprodukt. Da Karottentrester einen hohen Anteil an organischer Substanz besitzt, besteht durch die große anfallende Menge ein ernstzunehmendes Umweltproblem, wenn nicht alternative Verwertungsmöglichkeiten genutzt werden (Yoon et al., 2005). Somit könnte Karottentrester eine Alternative zu bisherigen eingesetzten Faserquellen in der Hundeernährung darstellen (Swanson et al., 2001).

In Tabelle 3 ist eine Übersicht der Zusammensetzung von Karottentrester dargestellt.

Tabelle 3: Übersicht der Zusammensetzung von Karottentrester in der Literatur  
[in g/100 g Trockenmasse]

	Swanson et al. (2001)	Chau et al. (2004)	Nawirska und Kwaśniewska (2005)
Kohlenhydrate	n.a.	19,3	n.a.
Zellulose	n.a.	n.a.	51.6
Hemizellulose	n.a.	n.a.	12.3
Lignin	n.a.	n.a.	32.2
Pektin	n.a.	n.a.	3.88
TDF	55,2	63,5	n.a.
- löslich	19,3	13,4	n.a.
- unlöslich	35,9	50,1	n.a.
Rohprotein	11,3	8,44	n.a.
Rohfett	3,80	1,13	n.a.
Rohasche	n.a.	7,67	n.a.

n.a. = nicht aufgeführt

#### 2.4. Einsatz von Biertreber und Karottentrester bisher in der Hundeernährung

Die bisher am häufigsten genutzten Faserquellen in Heimtierfuttermitteln sind mikrokristallisierte Zellulose (schwer fermentierbare, unlösliche Faser) und Rübenschnitzel (mäßig fermentierbare, lösliche Faser) (de Godoy et al., 2013). Rübenschnitzel weisen ein günstiges Verhältnis zwischen löslichen und unlöslichen Fasern auf, wohingegen Zellulose als unlöslich bzw. kaum fermentierbare Faser gilt (de Godoy et al., 2013).

Der Einsatz von alternativen Faserquellen in der Heimtierernährung ist vielversprechend und interessant, da viele dieser bisher erforschten Alternativen Möglichkeiten zur Verbesserung der Tiergesundheit darstellen. Auch Tierbesitzer sind bestrebt, neue Faserquellen in die Ernährung ihres Haustieres zu integrieren, um gegen häufige Erkrankungen, ähnlich wie beim Mensch, zu kämpfen:

Diabetes mellitus, Insulinresistenz, Hyperlipidämie etc. (de Godoy et al., 2013). Jedoch gibt es reichlich Forschungsbedarf auf diesem Gebiet, um die optimale Dosierung zu ermitteln, in der Faserstoffe in einer Diät für Hunde mit solchen Erkrankungen enthalten sein sollte (de Godoy et al., 2013).

Bisher gibt es nur sehr wenige Studien, die den Einsatz und die Effekte von Karottenprodukten in der Hundeernährung untersucht haben (Zentek und Meyer, 1993; Swanson et al., 2001). Beim Vergleich der Fermentation verschiedener Obst- und Gemüsefasern im Dickdarm von Hunden zeigte Karottentrestler eine gute Fermentierbarkeit und begünstigte die intestinale Bildung kurzkettiger Fettsäuren (Swanson et al., 2001). In der Studie von Zentek und Meyer (1993) führten getrocknete, granuliert Möhren zu einer reduzierten Bildung potentiell schädlicher mikrobieller Stoffwechselprodukte im Verdauungstrakt, was vermutlich durch eine pH-Absenkung im Dickdarm mit Hemmung proteolytischer Bakterien verursacht wurde. Die Diäten zeigten eine gute Akzeptanz bei den Hunden, allerdings war die scheinbare Verdaulichkeit von Rohprotein signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Interessanterweise waren die Harnstoffgehalte im Plasma deutlich geringer, was auf eine niedrigere renale Belastung schließen lässt.

Bisher liegen keine Veröffentlichungen vor, inwieweit Biertreber in einer Diät bei Hunden eine Auswirkung auf die Verdaulichkeit, die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota sowie deren Metabolite hat. Da er jedoch eine günstige Nährstoffzusammensetzung aufweist, könnte er als günstiges Nebenprodukt zukünftig auch in der Hundeernährung/-diätetik eine wichtige Rolle spielen.

Daher sollte die vorliegende Studie den Einsatz von Biertreber und Karottentrestler als Faserstoffquellen an Hunden untersuchen und der Einfluss der unterschiedlichen Fermentierbarkeit der Faserstoffe in Kombination mit zwei unterschiedlichen Rohproteinkonzentrationen auf verdauungsphysiologische Parameter geklärt werden.

## 2.5. Proteine

### 2.5.1. Proteinquellen in der Hundeernährung

Proteine werden zu den Hauptnährstoffen gezählt (Hendriks et al., 2012) und spielen eine wichtige Rolle für die Energiebereitstellung, den Muskelaufbau sowie andere metabolische Funktionen. Sie bestehen aus verschiedenen essentiellen sowie nicht-essentiellen Aminosäuren (Dust et al., 2005). Je nach Alter und Aktivität des Hundes werden unterschiedliche Mengen an Protein in der Nahrung benötigt. Folglich hat ein Welpe einen höheren Bedarf, da er sich im Wachstum befindet und noch Muskulatur aufbauen muss (Dust et al., 2005). Man unterscheidet pflanzliche und tierische Proteinquellen, wobei pflanzliche

Proteinquellen im Vergleich häufig weniger variabel in ihrer chemischen Zusammensetzung sind (Bednar et al., 2000). Auf der anderen Seite enthalten pflanzliche Proteinquellen, im Gegensatz zu tierischen Proteinquellen, einen höheren Anteil an Faserstoffen (Bednar et al., 2000). Eine hochwertige Proteinquelle zeichnet sich durch eine hohe präzäkale Verdaulichkeit aus (Zentek, 2016). Je hochwertiger also eine Proteinquelle ist, desto weniger Protein gelangt ins Colon und umso geringer ist die Menge an Protein, die gefüttert werden muss (Nery et al., 2010).

Die Futtermittelindustrie für Heimtiere bemüht sich durch die Verwendung von Abfall- bzw. Nebenprodukten aus der Lebensmittelproduktion um eine Nachhaltigkeit (Beloshapka et al., 2016; Deng et al., 2016). Ein Beispiel ist die Nutzung von tierischen Proteinlieferanten in Heimtierfuttermitteln, insbesondere prozessierte Proteine aus Säugetieren, Vögeln und Fischen (Beloshapka et al., 2016). Fisch und dessen Verarbeitungsprodukte zeichnen sich durch viele essentielle und nicht-essentielle Aminosäuren sowie durch einen hohen Gehalt an n-3 Fettsäuren aus (Folador et al., 2006). Ebenso stellen auch Schwein, Geflügel und Rind eine gute Quelle an essentiellen Aminosäuren für Heimtiere dar (Faber et al., 2010).

In einer Studie von Vester Boler et al. (2012) wurde deutlich, dass verschiedene tierische Proteinquellen eine Auswirkung auf die postprandiale Ausschüttung von Hormonen haben, die u.a. das Sättigungsgefühl regulieren.

Seit einigen Jahren erfährt die Futtermittelindustrie für Heimtiere eine immer größere Nachfrage der Besitzer nach einer qualitativ hochwertigen Ernährung ihres Tieres (Dust et al., 2005). Daraus ergibt sich ein zunehmender Bedarf an alternativen Proteinquellen, die sowohl den Bedarf aller Aminosäuren decken als auch schmackhaft sind (Dust et al., 2005). Durch alternative Proteinquellen von niederen Tieren oder Pflanzen kann beispielsweise die Umweltbelastung reduziert werden (Swanson et al., 2013). Jedoch erschwert das fehlende Wissen der Nährstoffverdaulichkeit und des Energiegehaltes neuer Proteinquellen deren Nutzung in Heimtierfuttermitteln (Deng et al., 2016).

Neuartige Proteinquellen sind beispielsweise: Sprühgetrocknetes tierisches Plasma, welches eine beträchtliche Menge an funktionellen Proteinen wie z.B. IgG oder Transferrin enthält (Quigley et al., 2004); Lammmehl, Hirschmehl, Alligatormehl (Deng et al., 2016), Insektenprotein (Bosch et al., 2014) oder verarbeitetes Sojaprotein (Beloshapka et al., 2016).

In kommerziell erhältlichen Futtermitteln für Hunde ist Geflügelmehl die am häufigsten genutzte Proteinquelle (Barry et al., 2009; Nery et al., 2010). In zahlreichen Studien wurde Geflügelmehl als Proteinquelle eingesetzt, da es eine hohe Qualität und eine gute Verdaulichkeit aufweist (Fahey et al., 1992; Burkhalter et al., 2001; Hesta et al., 2003; Grieshop et al., 2004; Quigley et al., 2004; Guevara et al., 2008; Barry et al., 2009; Bosch et al., 2009; Faber et al., 2011; Deng et al., 2013; Kröger et al., 2017). Durch variierende Anteile von

Federn, Knochen, Füße und Schnäbeln hat Geflügelmehl jedoch eine variable Verdaulichkeit (Johnson et al., 1998; Maria et al., 2017).

In der Studie von Nery et al. (2010) wurden verschiedene Proteinquellen (Weizenkleber und Geflügelmehl) und –konzentrationen (220 g/kg TM, 290 g/kgTM, 390 g/kg TM) im Hinblick auf die Verdaulichkeit und Beeinflussung der Kotqualität, bei großen und kleinen Hunderassen getestet. Dabei zeigte eine erhöhte Konzentration von Geflügelmehl in der Diät einen höheren Feuchtegehalt des Kotes, unabhängig der Rassengröße.

Zentek (1995b) untersuchte ebenfalls die Effekte verschiedener Proteinquellen (Griebe­n­mehl, Sojaprotein (hydrolysiert) und Maiskleber) auf die chemische Zusammensetzung des ilealen Chymus und des Kots, die Mikrobiota sowie deren Metabolite. Griebe­n­mehl in erhöhter Menge (isoliert (769 g/kg TM) oder als Bestandteil einer Diät (504 g/kg TM)) verfüttert, führte bei den Versuchshunden zu einer weich-schmierigen Kotkonsistenz. Diese Beobachtung wird auf die Tatsache zurückgeführt, dass bei einer Fütterung von reinem Griebe­n­mehl die fäkale Wasserbindungskapazität durch die fehlende Aufnahme von wasserbindungsfähigen pflanzlichen Fasern herabgesetzt ist (Zentek, 1995b). Griebe­n­mehl gilt als äußerst schmackhaft (Zentek, 1995b). Der fäkale pH-Wert zeigte sich im leicht sauren Bereich für die pflanzlichen Eiweißträger, während er bei der Gabe von Griebe­n­mehl alkalisch war. Die scheinbare Verdaulichkeit von Rohprotein war höher bei den Griebe­n­ als bei den vegetarischen Diäten, was auf die höhere bakterielle Fermentation tierischer Proteinquellen zurückgeführt wurde.

In Tabelle 4 wird eine Übersicht über den Rohproteingehalt verschiedener tierischer und pflanzlicher Proteinquellen für Hunde dargestellt.



## Literatur

Tabelle 4: Übersicht über den Rohproteingehalt [in % TS] sowie die scheinbare Verdaulichkeit [in %] verschiedener tierischer und pflanzlicher Proteinquellen für Hunde

	Rohproteingehalt in % TS	sV <sup>1</sup> Rohprotein in %	Literaturquelle	Präzäkale sV in % nach Meyer et al. (1989); Zentek (2016)
<b>Tierische Proteinquellen</b>				
Fleisch und Knochenmehl (Rind)	24,5	82,4	(Bednar et al., 2000)	Fleischmehl: 86
Geflügelnebenprodukte	24,4	81,6	(Felix et al., 2012)	
	28,1	-		
Geflügelmehl	26,9	87,5	(Bednar et al., 2000)	79
	30,5	76,9	Clapper et al. (2001)	
Hühnerbrust	30,0	94,7	Faber et al. (2010)	Fleisch, frisch: 96
Rindslende	30,7	94,4		
Schweinefleisch	31,2	94,7		
Seelachs	32,0	94,8		
Lachs	30,8	94,7		

## Literatur

Pflanzliche Herkunft			
	28,6	-	Felix et al. (2012)
	28,3	-	Maria et al. (2017)
Sojaextraktionsschrot	31,9	83,9	(Clapper et al., 2001)
	25,5	82,7	(Bednar et al., 2000)
Bierhefe	47,0	88,8	Martins et al. (2014)

80-83

<sup>1</sup> sV = scheinbare Verdaulichkeit

## 2.5.2. Auswirkung einer proteinreichen Diät

### 2.5.2.1. Dysbiosen und -fermentation

Der Abbau von Proteinen im Dünndarm beginnt mit der hydrolytischen Spaltung von Proteinen durch bakterielle Peptidasen und Proteasen in kleinere Bestandteile wie Peptide und Aminosäuren (Blachier et al., 2007; Windey et al., 2012). Durch die Fermentation von Kohlenhydraten zu kurzkettigen Fettsäuren ist der pH-Wert im proximalen Teil des Dickdarms eher im sauren Bereich. Im weiter distal gelegenen Teil des Dickdarms kommt es zur Fermentation von Proteinen (Windey et al., 2012). Durch den Abbau der Aminosäuren durch die intestinale Mikrobiota entstehen Stoffwechselprodukte wie kurzkettige Fettsäuren, verzweigtkettige Fettsäuren, Ammoniak, Indole, Phenole, Amine sowie die Gase H<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> (Macfarlane et al., 1992), wobei einige der dabei entstehenden Metabolite für den Wirt schädlich sind (Smith und Macfarlane, 1997).

Intestinale Dysbiosen können z.B. durch Inflammationen ausgelöst werden und wurden mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (engl.: Inflammatory Bowel Disease), akuter Diarrhoe, intestinalen Stasen und anderen Motilitätsstörungen assoziiert (Suchodolski, 2016). Bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen konnte eine Umverteilung der Abundanz bakterieller Genera festgestellt werden. Genera, welche zum Phylum der *Proteobacteria* gehören, konnten vermehrt im Kot betroffener Hunde gefunden werden, wohingegen es bei den Phyla *Fusobacteria*, *Bacteroidetes* und Genera von *Firmicutes* (*Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Ruminococcaceae*, *Blautia*) zu einem Absinken kam (Suchodolski et al., 2012; Suchodolski, 2016). In einer Studie von Minamoto et al. (2014) konnte ebenfalls eine statistisch signifikante Abnahme von *Fusobacteria* ( $p < 0.001$ ), *Ruminococcaceae* ( $p < 0.001$ ), *Blautia* spp. ( $p < 0.001$ ) sowie *Faecalibacterium* spp. ( $p < 0.001$ ) im Kot von Hunden beobachtet werden, die klinische Anzeichen einer gastrointestinalen Erkrankung zeigten.

Die Ergebnisse einer weiteren Studie von Minamoto et al. (2015) konnten ebenfalls bestätigen, dass bei Hunden mit einer diagnostizierten chronisch-entzündlichen Darmerkrankung das Vorkommen der Genera *Blautia*, *Faecalibacterium* spp. und *Turicibacter* spp. im Kot signifikant reduziert war. Da diese Bakterien kurzkettige Fettsäuren und andere immunmodulierende Metabolite produzieren, ist bei einer Dysbiose mit Effekten auf den Wirt zu rechnen (Suchodolski, 2016). So konnte in Studien gezeigt werden, dass eine Abnahme von einem nicht klassifizierten Genus der Familie der *Ruminococcaceae* und *Faecalibacterium* spp. mit einer Erhöhung der fäkalen Konzentration an Butyrat aber einer verringerten Menge an

Propionat im Kot von Hunden mit akuter Diarrhoe (Guard et al., 2015) und IBD (Minamoto et al., 2015) einhergehen.

Beim Menschen ist bekannt, dass ein Ungleichgewicht der intestinalen Mikrobiota zu Adipositas, entzündlichen Darmerkrankungen und zum Kolonkarzinom führen können (Windey et al., 2012; Le Roy et al., 2013; Ramakrishna, 2013; Walsh et al., 2014; Gerard, 2016; Marchesi et al., 2016).

Adipositas ist heutzutage nicht mehr nur ein Problem, das mit einer immer höheren Prävalenz beim Menschen auftritt, sondern auch beim Haustier präsent ist (Li et al., 2017). Über viele Jahre wurde eine proteinreiche, kohlenhydratarme Diät befürwortet, um bei adipösen Menschen und Tieren eine Reduzierung der Körpermasse zu erreichen (Bierer und Bui, 2004). Für Erkrankungen wie dem Kolonkarzinom oder der ulzerativen Colitis könnte die Fermentation von Proteinen im Enddarm ätiologisch bedeutsam sein (Windey et al., 2012)

Durch die Proteinfermentation bzw. durch eine erhöhte Proteinmenge in der Ration können bei Hunden fäulniserregende Abbauprodukte (wie Ammoniak, Sulfide, Phenole und Amine) entstehen, die für die Darmschleimhaut potenziell toxisch sind und den Darmepithelzellmetabolismus stören (Macfarlane et al., 1992; Zentek, 1995a; Blachier et al., 2007; Barry et al., 2009; Nery et al., 2012; Windey et al., 2012; Pinna et al., 2018). Auch die Barrierefunktion des Darmepithels kann durch diese Metabolite erheblich beeinträchtigt werden (Windey et al., 2012). Durch eine erhöhte Proteinmenge in der Ration zeigen diese Hunde erhöhte Harnstoffgehalte in Blut und Harn, intestinale Dysbiosen und –fermentationen äußern sich häufig in Flatulenz und Durchfall (Hang et al., 2013, Kölle et al., 2015).

In der Studie von Pinna et al. (2018) führte ein moderat erhöhter Proteingehalt (304 g/kg Rp TM) zu einem Anstieg der fäkalen Ammoniakkonzentration. Andere Produkte intestinaler bakterieller Proteolyse (wie biogene Amine) wurden durch eine Erhöhung des Proteingehaltes jedoch nicht beeinflusst.

Hesta et al. (2003) konnten bei Hunden einen Anstieg der fäkalen Ammoniakkonzentration verzeichnen, denen zuvor ein Fleisch- und Knochenmehl oder Griebenmehl zusätzlich zu einem normalen kommerziellen Futtermittel gefüttert wurde. In der gleichen Studie führte eine Zulage von Geflügelmehl jedoch zu einer Verringerung der  $\text{NH}_3$ -Konzentration im Kot.

Ammoniak zählt neben schwefelhaltigen sowie Phenolverbindungen zu den Hauptgeruchskomponenten von Fäzes (Hesta et al., 2003). Durch den Zusatz von Lactosucrose in einem Hundefutter konnte die fäkale Ammoniakkonzentration sowie weitere, den Geruch des Kotes beeinflussende Substanzen gesenkt werden (Terada et al., 1992).

Die Proteinqualität sowie die Proteinmenge spielen eine wichtige Rolle bei der Beeinflussung der Kotkonsistenz von Hunden (Zentek, 1996; Nery et al., 2010; Hang et al., 2013). So führen

minderwertige, bindegewebsreiche Proteinquellen wie Rinderlunge und Griebenmehl zu einem weichen, schmierigen Kot (Zentek, 1996; Zentek et al., 2003). Die Kotqualität und -konsistenz sind für Tierbesitzer ein wichtiges Merkmal, denn für jede negative Veränderung können bestimmte Futtermittel als schädliche Ursache verantwortlich gemacht werden (Barry et al., 2009).

### 2.5.2.2. „BARF“ – Biologisch Artgerechte Rohfütterung

Seit mehreren Jahren wächst in Deutschland der Trend, Hunde proteinreich zu ernähren, um die Fütterung „natürlich“ entsprechend der Situation beim Vorfahren Wolf nachzustellen (Kölle und Schmidt, 2015; Vervuert und Rückert, 2017). Ein besonders populäres und häufig diskutiertes Beispiel unter Hundehaltern stellt die Ernährung mittels „BARF“ dar. Ursprünglich steht die Abkürzung für „Bone And Raw Food“ (Knochen und rohes Futter) oder „Biologically Appropriate Raw Food“ (biologisch angemessenes rohes Futter) (Kölle und Schmidt, 2015). Heutzutage wird der Begriff „BARF“ sinngemäß mit „Biologisch Artgerechte Rohfütterung“ ins Deutsche übersetzt (Kölle und Schmidt, 2015).

Diese Diäten basieren praktisch ausschließlich auf rohem Fleisch, Innereien, Knochen sowie (meist) rohem Obst und Gemüse (Freeman et al., 2013; Kölle und Schmidt, 2015) und können in zwei Kategorien eingeordnet werden: entweder kommerziell erhältlich oder durch den Besitzer selbst zusammengestellt (Freeman et al., 2013). Manche Besitzer füttern zusätzlich kleine Mengen an gekochten Kohlenhydraten, wie Reis, Kartoffeln oder Nudeln (Dillitzer et al., 2011). Verschiedene Studien konnten zeigen, dass verschiedene Regionen im Genom des Hundes sich im Laufe der Zeit als Antwort auf die Domestikation zugunsten der Fett- und Stärkeverdauung verändert haben (Axelsson et al., 2013; Arendt et al., 2014; Freedman et al., 2014; Arendt et al., 2016; Reiter et al., 2016).

Befürworter von BARF argumentieren, durch die bei Herstellung herkömmlicher Futtermittel angewandten Methoden (z.B. Erhitzen) würden wichtige Nährstoffe und Enzyme verloren gehen (Joffe und Schlesinger, 2002). Dies trifft zu einem gewissen Teil auch zu, jedoch sind die Verluste in der Regel marginal. Haustierbesitzer beziehen laut Umfragen ihre Informationen zu Rationsgestaltungen meist aus Internetforen oder populärwissenschaftlicher Literatur (Kölle und Schmidt, 2015). Ein Teil der Diäten wird von den Besitzern dem jeweils aktuellen Ernährungstrend des Menschen angepasst („low-carb, „low-fat“), was für Hunde jedoch selten geeignet ist (Remillard, 2008). Durch die Zubereitung eigener Rationen haben viele Besitzer das Gefühl, besonders positiv für die Pflege (Remillard, 2008) und das Wohlbefinden (Schlesinger und Joffe, 2011) des Tieres zu sorgen.

Häufig wird durch diese Art der Fütterung auf gesundheitliche positive Effekte verwiesen (z.B. Besserung einer Futtermittelallergie (Remillard, 2008; Kölle und Schmidt, 2015), Verbesserung der Gesundheit, Verbesserung des Wohlbefindens, verbesserte Fellqualität sowie sauberere Zähne durch das Kauen von Knochen (Freeman et al., 2013)). Allerdings liegen dazu keine gezielten Studien vor. Der Eindruck eines „schöneren, glänzenden Fellkleids“ (Freeman et al., 2013) ist möglicherweise durch den erhöhten Fettgehalt vieler BARF-Diäten erklärbar; gleichzeitig birgt dies jedoch Risiken von Magen-Darm-Erkrankungen oder einer Adipositas (Freeman et al., 2013). Auch die Gabe von Knochen ist als kritisch zu betrachten, da es zu Zahnfrakturen und gastrointestinalen Verletzungen kommen kann (Freeman et al., 2013; Zentek, 2016).

Durch das Verfüttern von rohen, unerhitzten Futtermitteln (wie z.B. Eiern und Fisch), kommt es zur Aufnahme antinutritiver Faktoren (Avidin, Thiaminasen etc.), welche zu Krankheitsbildern wie Hautveränderungen, Paralysen oder Enzephalopathien führen können. Durch Erhitzen werden diese Stoffe inaktiviert (Vervuert und Rückert, 2017).

In den letzten Jahren befassten sich einige Studien mit der Ausscheidung von Salmonellen durch Hunde, die zuvor mit rohem Fleisch gefüttert wurden. Das Ausscheiden von *Salmonella* spp. hat eine Kontamination der Umwelt zur Folge und birgt die Gefahr der Übertragung auf den Menschen (Joffe und Schlesinger, 2002; Finley et al., 2006; Finley et al., 2007; Finley et al., 2008; Lefebvre et al., 2008; Kölle und Schmidt, 2015; Vervuert und Rückert, 2017). Dagegen zeigten Hunde, die mit einem kommerziell erhältlichen Futter ernährt wurden, keine fäkale Ausscheidung von *Salmonella* spp. (Joffe und Schlesinger, 2002; Lenz et al., 2009; Schlesinger und Joffe, 2011).

Schweineohren, welche z.B. gerne an Hunde als Belohnung gegeben werden, können mit *Salmonella* spp. belastet sein und somit eine für den Menschen potentielle Infektionsquelle darstellen (Finley et al., 2006; Lefebvre et al., 2008). Hunde treten hierbei oftmals symptomlose Träger und Ausscheider auf (Finley et al., 2007).

Die höchste Prävalenz von *Salmonella* spp. ist bei Hühnerfleisch zu finden (Finley et al., 2008). In einigen Fällen wurden Serotypen isoliert, die Resistenzen gegen antimikrobielle Substanzen aufwiesen (Finley et al., 2008). In diesem Zusammenhang wurden auch Antibiotika-resistente *Escherichia coli* gefunden (Nilsson, 2015).

Neben Bakterien können auch diverse ein- oder mehrzellige Parasiten (auch humanpathogene Arten) über die Aufnahme von rohem Fleisch auf Hunde übertragen werden (Kölle und Schmidt, 2015; van Bree et al., 2018): *Toxocara canis* (Overgaauw, 1997), *Toxoplasma gondii* (Dubey et al., 2005), *Echinococcus multilocularis* (Antolova et al., 2009), *Yersinia enterocolitica* (Fenwick et al., 1994) und *Campylobacter jejuni* (Lenz et al., 2009).

Generell sollte von der Rohfütterung abgeraten werden, wenn sich immunsupprimierte Personen, Schwangere oder Kinder in einem Haushalt mit dem Hund befinden und somit in

unmittelbarem Kontakt mit diesem stehen (LeJeune und Hancock, 2001; Joffe und Schlesinger, 2002; Finley et al., 2006; Kölle und Schmidt, 2015). Ebenso sollten Hunde, die in Altenheimen oder als Therapiehunde zum Einsatz kommen, durch die mögliche Übertragung von potenziell pathogenen und antimikrobiell resistenten Bakterien, nicht mit Rohfleisch ernährt werden (Finley et al., 2006; Finley et al., 2007; Lefebvre et al., 2008).

Doch es bestehen nicht nur Probleme aus Sicht der Hygiene und Übertragung von Krankheitserregern. Die häufigsten Probleme bei der BARF-Fütterung werden in einer Über- bzw. Unterversorgung von Nährstoffen gesehen (Kölle und Schmidt, 2015). In einer Studie von Dillitzer et al. (2011) wurden verschiedene Rationen auf ihre Zusammensetzung überprüft. Dabei wurden bei einigen Rationen Defizite in der Versorgung von Kalzium, Jod, Zink, Kupfer, Vitamin A und D festgestellt. Das Calcium-Phosphor-Verhältnis betrug oftmals weniger als 0,6:1. In Abhängigkeit vom Alter sollte jedoch ein Calcium-Phosphor-Verhältnis von 1,3 bis 2:1 bestehen (Zentek, 2016).

Typische Rationskomponenten wie beispielsweise Fleisch (ohne Knochen), Schlachtabfälle sowie Getreide enthalten nur sehr wenig Calcium. Da die verwendeten Futtermittel oft viel mehr Phosphor als Calcium enthalten, kann es zu einem inversen Calcium-Phosphor-Verhältnis von bis zu 1:10 kommen (Remillard, 2008). Gerade bei Tieren im Wachstum kann eine inadäquate Nährstoffversorgung zu erheblichen Problemen im Wachstum und der Entwicklung führen (Mack und Kienzle, 2016).

Durch das Verfüttern von Schlund kann es zu einer alimentären Hyperthyreose kommen, da sich an diesem Stück Fleisch üblicherweise noch die Schilddrüse befindet (Kohler et al., 2012; Zeugswetter et al., 2013; Kölle und Schmidt, 2015; Kempker et al., 2017). Dies kann schwerwiegende Auswirkungen auf den Reproduktionstrakt bei Hündinnen haben (Sontas et al., 2014). Manche Labore bieten sogenannte „BARF-Profile“ an, bei denen z.B. Calcium, anorganisches Phosphat, Zink, Jod u.a. Parameter im Blut untersucht werden. Da der Körper jedoch über Kompensationsmechanismen verfügt, bleiben selbst bei einer Unterversorgung die jeweiligen Blutwerte unauffällig (Vervuert und Rückert, 2017). Somit bleibt festzustellen, dass eine Überprüfung der Ration selbst stets vor der Überprüfung der relevanten Blutwerte erfolgen sollte (Vervuert und Rückert, 2017).

Eine weitere beschriebene Problematik bei der BARF-Fütterung besteht in der Überversorgung mit Protein (Buff et al., 2014), da die klassischen Rationen wenig kohlenhydratreiche Futtermittel enthalten und vor allem aus Fleisch und Innereien bestehen (Remillard, 2008; Freeman et al., 2013; Kölle und Schmidt, 2015). Eine Studie von Schmidt et al. (2018) untersuchte mögliche Unterschiede im fäkalen caninen Mikrobiom und nutzte dazu Kotproben von 27 Hunden, die durch BARF ernährt wurden sowie von 19 Hunden, denen eine kommerziell erhältliche Diät gefüttert wurde. Zunächst wurde festgestellt, dass den BARF-Hunden durch die Ernährung eine signifikant höhere Protein- und Fettmenge bei signifikant

niedrigerer Faser- und Kohlenhydratmenge zugeführt wurde. Entsprechende Hunde hatten eine signifikant höhere Abundanz an *Lactobacillales*, *Enterobacteriaceae*, *Fusobacterium* und *Clostridium* spp. im Kot.

Wie bereits in Kapitel 2.5.1 beschrieben, werden Proteine beim Hund überwiegend im Dünndarm verdaut (Zentek, 2016). Durch eine Überversorgung in der Ration oder bei unzureichender Verdaulichkeit (z.B. bei bindegewebsreichen Produkten) gelangt das aufgenommene Protein vermehrt in den Dickdarm (postileal), wo durch mikrobielle Fermentation Abbauprodukte wie z.B. Ammoniak und biogene Amine entstehen. Diese Abbauprodukte führen zu einer Belastung des Organismus und haben sowohl lokale als auch systemische Auswirkungen. So werden z.B. die Leber und Nieren durch einen hohen Anfall an Stickstoff-Verbindungen stark belastet, da überschüssiger Stickstoff (in Form von Harnstoff) ausgeschieden werden muss. Die Überlastung der Nieren bei einem zu hohen Proteingehalt in der Nahrung wird vor allem bei älteren Hunden als Risikofaktor angesehen (Zentek, 2016). Auch für Hunde, die an gewissen Erkrankungen leiden (z.B. Nephropathien, Hepatopathien, nicht allergischen Darmerkrankungen) ist diese Art der Fütterung nicht zu empfehlen (Kölle und Schmidt, 2015).

Als Schlussfolgerung kann gesagt werden, dass die Art und Höhe der Proteinversorgung eine entscheidende Rolle für die Vorbeugung einer intestinalen Dysbiose und -fermentation spielt (Zentek, 2016).

Zusammenfassend stützen aktuell vorliegende Publikationen keine eindeutigen Vorteile für eine BARF-Fütterung im Vergleich zu kommerziell erhältlichem Hundefutter.

### 2.5.2.3. Auswirkungen proteinreicher Diäten auf die intestinale Mikrobiota

Li et al. (2017) untersuchten die Auswirkungen einer proteinreichen, kohlenhydratarmen Diät, einer proteinarmen, kohlenhydratreichen Diät und einer Referenzdiät auf das intestinale Mikrobiom bei über- und normalgewichtigen Hunden. Die proteinreiche, kohlenhydratarme Diät (49.4 % Protein, 10.9 % Kohlenhydrate) zeigte eine merkliche Erhöhung von Firmicutes (insbesondere der Familien Clostridiaceae, Lachnospiraceae und Ruminococcaceae), während die Zahl an *Bacteroidetes*, im Vergleich zu den Hunden, denen eine Referenzdiät gefüttert wurden (28.1 % Protein, 33.2 % Kohlenhydrate), abnahm. Besonders bei den übergewichtigen Hunden zeigte sich bei Fütterung der proteinarmen, kohlenhydratreichen Diät (25.5 % Protein, 38.8 % Kohlenhydrate) in einer Familie der *Bacteroidetes* eine knapp fünffache Zunahme von *Prevotellaceae*. Innerhalb der Familie der *Clostridiaceae* konnte bei den Spezies *Clostridium perfringens*, *Clostridium hiranonis* und *Clostridium butyricum* ein



Zuwachs beobachtet werden. *Clostridium butyricum* ist bekannt für seine Fähigkeit, kurzkettige Fettsäuren zu produzieren, welche mit gesundheitlichen Vorteilen für den Wirt in Verbindung gebracht werden (Li et al., 2017). Kurzkettige Fettsäuren stellen eine wichtige Energiequelle für die intestinalen Zellen dar und hemmen inflammatorische Prozesse (Hamer et al., 2008) wie beispielsweise im Dickdarm (Fung et al., 2012).

Nicht nur die Proteinmenge sondern auch deren Quelle hat einen Einfluss auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota beim Hund (Barry et al., 2009). In einer Studie von Zentek et al. (2004) wurden Hunde mit Diäten gefüttert, für welche Geflügel oder Rind als Proteinquelle genutzt wurden (je ein extrudiertes Trockenfutter und je ein Dosennassfutter). Dabei erzeugten die Nassfutterdiäten sowie die Trockenfutterdiät mit Geflügel eine höhere fäkale Konzentration an *Clostridium perfringens* (zwischen  $\log 7,6 \pm 0,5$  und  $8,7 \pm 0,4/g$  Fäzes). Ein Wechsel auf die Trockenfutterdiät mit Rind als Proteinquelle führte zu einer verminderten Konzentration ( $\log 6,1 \pm 1,4/g$  Fäzes), der Umstieg auf eine Fütterung mit einer kommerziellen Diät (Geflügelfleisch und –nebenprodukte) konnte die Konzentration an *Clostridium perfringens* noch weiter senken ( $\log 3,3 \pm 0,6/g$  Fäzes). Dabei hatten die Diäten mit Geflügel bzw. Rind als Proteinquelle einen Rohproteingehalt zwischen 376 und 438 g/kg TM, die kommerzielle Diät dagegen nur zwischen 275 und 286 g/kg TM. Diese Studie zeigt, dass auch produktionstechnische Faktoren (Nass- oder Trockenfutter) die intestinale Mikrobiota beeinflussen können. In einer anderen Studie von Zentek et al. (2003) wurden neun Beagle drei verschiedene Diäten gefüttert und anschließend der Effekt dieser Diäten auf die fäkale Konzentration an Bifidobakterien und *Clostridium perfringens* ermittelt und verglichen. Dabei enthielt die proteinreiche Diät 726 g/kg TM Rohprotein, die beiden anderen Diäten hatten einen moderaten Proteingehalt (265 bzw. 259 g/kg TM Rohprotein). Für die proteinreiche Diät wurden minderwertige Proteinquellen eingesetzt (Rinderlunge und Griebenmehl). In allen Kotproben der Hunde, die zuvor die proteinreiche Diät konsumiert hatten, konnte eine Zunahme von *Clostridium perfringens* festgestellt werden. Es wurde beobachtet, dass der Anstieg von *Clostridium perfringens* unabhängig von der vorigen Diät innerhalb von einem Tag nach Wechsel auf die proteinreiche Diät stattgefunden hatte.

Proteinreiche Diäten begünstigen das Wachstum unerwünschter Bakterien (wie beispielsweise *Clostridium perfringens*) und können zu einer Verminderung von Bifidobakterien beitragen, was zu einer weicheren Kotkonsistenz führen kann (Zentek et al., 2003).

### 2.5.2.4. Auswirkungen proteinreicher Diäten auf Harnstoff und Kreatinin in Blut und Harn bei Hunden

Die Messung von Kreatinin im Blutplasma ist ein häufig gemessenes Analyt in der Human- sowie Tiermedizin als indirekter Messindikator für die glomeruläre Filtrationsrate (Braun et al., 2003). Bei Kreatinin handelt es sich um ein Abbauprodukt, das in einer non-enzymatischen Reaktion aus Phosphokreatin und Kreatin entsteht (Braun et al., 2003; Giudice et al., 2009). Es wird glomerulär vollständig filtriert und bei Hund und Katze nur in sehr geringem Maß tubulär resorbiert. Bei gesunden Hunden bewegt sich der Plasmakreatininspiegel zwischen 35 – 106 mmol/l (Zentek, 2016).

Harnstoff ist ein weiterer Parameter, der im Blut von Hunden und Katzen häufig zur Überprüfung der Nierenfunktion gemessen wird. In der Leber wird er über den Harnstoffzyklus aus Ammoniak gebildet. Bei gesunden und nüchternen Hunden beträgt der Plasmaharnstoffspiegel zwischen 3,3 – 5 mmol/l (Zentek, 2016). Da der Harnstoffmetabolismus von vielen Faktoren (z.B. von der Proteinmenge einer Diät (Davenport et al., 1994; Zentek, 2016)) beeinflusst wird, ist er nicht das Mittel der Wahl, um die glomeruläre Filtration zu bestimmen.

Während die Kreatininkonzentration im Plasma hauptsächlich von der jeweiligen Muskelmasse des Hundes abhängig ist, ist die Ausscheidung von Kreatinin über den Harn über die Zeit konstant (Braun et al., 2003).

Als Fazit kann formuliert werden, dass die Parameter Harnstoff und Kreatinin unterschiedlich vom Proteingehalt der Diät beeinflusst werden. Sie stellen somit einen Anhaltspunkt dar, inwiefern die Niere mit Proteinabbauprodukten belastet ist.

## 2.6. Intestinale Mikrobiota

Der intestinalen Mikrobiota wird eine wichtige Rolle für Tiergesundheit zugesprochen (Zentek et al., 2003; Suchodolski, 2011a, 2016), da sie an funktionellen und immunologischen Prozessen beteiligt ist (Suchodolski, 2011a).

Auch beim Menschen existieren zahlreiche Studien, die sich mit dem Einfluss der intestinalen Mikrobiota auf die Gesundheit beschäftigen (Clemente et al., 2012; Rosenbaum et al., 2015). Durch diätetische Maßnahmen wie dem Einsatz von Präbiotika oder der Art bzw. Menge der diätetischen Nährstoffe ist es möglich, bei Mensch und Tier die symbiotische Beziehung

## Literatur

zwischen intestinaler Mikrobiota und dem Wirt zu modulieren (Walsh et al., 2014). Es ist bekannt, dass neben genetischen Einflüssen und Umwelteinflüssen die Ernährung den größten Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiota im Darm hat (De Filippo et al., 2010; Suchodolski, 2011a; David et al., 2014; Xu und Knight, 2015).

Beim Menschen kann die intestinale mikrobielle Gemeinschaft in drei Hauptgruppen eingeteilt werden, bei denen folgende bakterielle Gattungen dominieren: *Bacteroides*, *Prevotella* und *Ruminococcus* (Arumugam et al., 2011). *Prevotella* wurden mit der Aufnahme pflanzlicher Kohlenhydrate in Verbindung gebracht (De Filippo et al., 2010; Wu et al., 2011), während bei Aufnahme von tierischem Fett und Protein vermehrt *Bacteroides* im Kot gefunden werden (Wu et al., 2011).

Bei Hunden und Katzen bestehen mehr als 99 % der bakteriellen Phyla im Gastrointestinaltrakt aus *Firmicutes* (hauptsächlich bestehend aus den Ordnungen *Clostridiales* (Suchodolski, 2011b)), *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* und *Actinobacteria* (Middelbos et al., 2010; Suchodolski, 2011a). Die restlichen 1 % stellen die Phyla *Spirochaetes*, *Tenericutes*, *Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria*, *Chloroflexi* sowie nicht weiter definierte Linien dar (Suchodolski, 2011a). Als die am häufigsten vorkommenden Gattungen beim Hund werden *Bacteroides*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium spp.* sowie die Familie der *Enterobacteriaceae* beschrieben (Simpson et al., 2002; Suchodolski, 2011a).

Derzeit bestehen noch einige Wissenslücken bei der Interaktion zwischen dem Hund und seinem Mikrobiom (Li et al., 2017; Pinna et al., 2018). Im Gegensatz zum Menschen existieren bis dato nur wenige Studien, die sich mit der Zusammensetzung des caninen intestinalen Mikrobioms beschäftigt haben (Simpson et al., 2002; Middelbos et al., 2010; Li et al., 2017). Viele Annahmen, welche Bakterien schädlich bzw. nützlich sein können, stammen aus der Humanmedizin. Im Hinblick, dass der Hund im Gegensatz zum Mensch eine carnivore Spezies ist, unterscheidet sich das Mikrobiom von dem des Menschen (Pinna et al., 2018).

Bisher ist beim Hund auch ein begrenztes Wissen vorhanden, inwiefern das diätetische Protein-Kohlenhydrat-Verhältnis einen Einfluss auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota hat (Li et al., 2017)

### 2.7. Bisherige Untersuchungen zu verschiedenen Faserstoffen in Kombination mit verschiedenen Proteinkonzentrationen an Hunden

In den letzten Jahren haben sich bereits mehrere Studien mit der Frage auseinandergesetzt, welche Effekte Diäten bei Hunden mit variablen Proteingehalten in Kombination mit verschiedenen Fasern unterschiedlicher Fermentierbarkeit haben. Hierbei wurden beispielsweise die scheinbare Verdaulichkeit von Nährstoffen, die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota und die fäkale Konzentration verschiedener bakterieller Metabolite (kurzkettige Fettsäuren, Ammonium) untersucht. Eine Übersicht zu bisherigen Untersuchungen beim Hund bietet Tabelle 5.

Keine der Untersuchungen hat sich bisher mit den Auswirkungen von Biertreber und Karottentrester in Kombination mit verschiedenen Proteinkonzentrationen bei Hunden beschäftigt. Ebenso fehlen in diesem Zusammenhang bisher Ergebnisse zu Metaboliten in Harn und Blut.

## Literatur

Tabelle 5: Literaturübersicht über Studien mit verschiedenen Proteinquellen -und mengen sowie verschiedenen Faserstoffen und -mengen an Hunden

Autor	Fermentierbare Faserquelle	Nicht fermentierbare Faserquelle	Mäßig fermentierbare Faserquelle	Proteinquelle	Proteinkonzentration	Fasergehalt	Untersuchte Parameter der Studie
Hesta et al. (2003)	Fructooligosaccharid und Isomaltoligosaccharide	-	-	Fleisch- und Knochenmehl, Grießenmehl, Geflügelmehl	45 % - 50 % TS	3 % der Gesamtration	sV und fäkale Ammoniumkonzentration
Weber et al. (2007)	Flohsamenschale, Fructooligosaccharid, Rübenschnitzel, Weizen	Zellulose	-	Geflügelfleisch, hydrolysiertes tierisches Protein	22,8 %, 30 %, 34 % TS	18,5 %, 28 %, 35 % TDF	sV von Rohprotein, freiwillige Futteraufnahme, Untersuchungen zum Sättigungsgefühl, Geschmackspräferenztest
German et al. (2010)	Flohsamenschale, Fructooligosaccharid, Rübenschnitzel, Weizen	Zellulose	-	unbekannt	30 % und 34 % TS	18,5 % und 28 % TDF	Prozentualer Gewichtsverlust bzw. – körperfettverlust in adipösen Hunden
Wambacq et al. (2016)	Zuckerrübenschnitzel und Guarkernmehl	Zellulose	-	unbekannt	16,6 % und 16,7 % TS	9,0 % und 10,1 % TDF	Scheinbare Stickstoffverdaulichkeit, kurzkettige Fettsäuren, postprandiale Parameter im Serum (Acylcarnithin, Aminosäurenprofil)

## Literatur

Maria et al. (2017)	Rübenschnitzel	Zuckerrohr	Sojabohnenmehl	Geflügelmehl, Sojabohnenmehl	28,3 % - 30,5 % TS	11,3 %–13,7 % TDF	sV, Metabolite der intestinalen Mikrobiota, Immunparameter
Pinna et al. (2018)	Fructooligosaccharid	-	-	Griebenmehl vom Schwein	22,9 % -30,4 % TS	85,0 – 109 g/kg TM NDF	sV, Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota

---

### 2.8. Ziel der Arbeit

Der Hund ist seit 15 000 - 20 000 Jahren domestiziert und kann nicht als reiner „Fleischfresser“ bezeichnet werden. Durch die Domestikation ist er an eine vermehrte Stärkeverdauung adaptiert. Um den Hund entsprechend „natürlich“ zu ernähren, gibt es unter Hundehaltern einen immer größer werdenden Trend, Hunde, entsprechend seinem Vorfahren Wolf, proteinreich zu ernähren („BARF“). Die Folgen einer eiweißreichen Ernährung (wie Diarrhoe, Flatulenzen, Belastung von Leber und Niere) sind bekannt. Unbekannt ist jedoch, wie sich Faserstoffe in Kombination mit erhöhtem Proteingehalt verdauungsphysiologisch beim Hund verhalten.

Daher hatte die vorliegende Arbeit zum Ziel, Diäten mit einem moderaten und einem erhöhten Proteingehalt in Kombination mit zwei unterschiedlich fermentierbaren Faserstoffen auf verdauungsphysiologische Effekte beim Hund zu untersuchen. Zusätzlich wurden mikrobiologische Parameter getestet sowie ausgewählte Parameter des Proteinstoffwechsels in Harn und Blut untersucht.

Als Faserstoffe wurden Karottentrestler und Biertreber ausgewählt, welche als Nebenprodukte aus der Lebensmittelindustrie stammen und eine günstige Nährstoffzusammensetzung aufweisen. Derzeit liegen keine in-vivo Studien bei Hunden vor.

Mit dieser Arbeit soll ein Beitrag zur Rationsgestaltung für Hunde geleistet werden.

### **3. Material und Methoden**

#### 3.1. Versuchsziel

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, den Einfluss von Karottentrestern und Biertreber in Kombination mit mäßigem bzw. hohem Proteingehalt in der Diät auf verdauungsphysiologische und mikrobiologische Parameter beim Hund zu untersuchen. Dazu wurden Kot-, Harn-, und Blutproben untersucht.

Dieser Versuch wurde am Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin durchgeführt. Die Genehmigungsnummer ist G 0228/17.

#### 3.2. Versuchstiere

Die Studie wurde mit zehn adulten, gesunden Hunden der Rasse Beagle am Institut für Tierernährung, Freie Universität Berlin, durchgeführt. Dabei wurden die Tiere in fünf Gruppen à zwei Hunde eingeteilt (Tab. 6).

Die Hunde wurden während der gesamten Versuchszeit paarweise gehalten und an den Tagen der Kotsammlung jeweils für eine sehr kurze Dauer einzeln gesetzt, um eine Zuordnung und Sammlung des Kots zu ermöglichen.

Die Tiere hatten täglich zwei- bis vier Stunden Auslauf.



Tabelle 6: Gruppeneinteilung, Name, Geschlecht und Geburtsdatum der Versuchshunde

Gruppe	Name	Geschlecht <sup>1</sup>	Geburtsdatum
1	Mojo	Mk	01.07.2014
	Cleo	W	17.10.2012
2	Fee	W	01.07.2014
	Cassy	W	01.07.2014
3	Pongo	Mk	01.07.2014
	Phoebe	W	24.10.2011
4	Mia	W	01.07.2014
	Bonnie	W	01.07.2014
5	Pepe	Mk	01.07.2014
	Didi	Mk	01.07.2014

<sup>1</sup> mk = männlich kastriert, w = weiblich

### 3.3. Versuchsdiäten

Die verschiedenen Versuchsdiäten wurden am Institut für Tierernährung gemischt und hergestellt. Anschließend wurden sie pelletiert, um eine Formstabilität zu erhalten und eine Entmischung der Komponenten zu verhindern. Eine Übersicht der Zusammensetzung der Versuchsdiäten bietet Tabelle 7.

Diese Trockenalleinfutter wurden den Hunden jeweils zweimal täglich gefüttert, wobei die tägliche Futtermenge pro Hund pro Tag dem individuellen Energiebedarf angepasst wurde (nach Meyer/Zentek 0,5 MJ ME/KM<sup>0,75</sup>)

Tabelle 7: Zusammensetzung der Versuchsdiäten

<b>Futtermittel</b>	<b>Diät A</b>	<b>Diät B</b>	<b>Diät C</b>	<b>Diät D</b>	<b>Diät E</b>
Reisquellmehl	61,1	40,0	61,7	40,6	69,1
Geflügelmehl	9,50	24,3	8,70	23,9	12,2
Griebenmehl	3,20	13,3	6,70	16,8	3,70
Biertreber	14,8	15,1	-	-	1,70
Karottentrester	-	-	10,8	11,0	1,60
Mineral-Premix <sup>1</sup>	1,60	1,70	1,60	1,70	1,70
K-Hydrogencarbonat	1,30	0,90	1,00	0,60	1,20
Knochenmehl	1,70	0,10	1,90	0,20	1,70
Rapsöl	6,70	4,40	7,30	4,90	6,90
Titandioxid	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

<sup>1</sup> Analytische Bestandteile und Gehalte: 6,4 % Rohprotein, 1,8 % Rohfett, 2,5 % Rohfaser, 49,7 % Rohasche, 0,2 % Calcium, 0,3 % Phosphor, 13,0 % Natrium, 5,5 % Magnesium, 0,1 % Methionin. Zusatzstoffe je kg: 600.000 IE Vitamin A, 120.000 IE Vitamin D3, 8.000 mg Vitamin E, 300 mg Vitamin K3, 250 mg Vitamin B1, 250 mg Vitamin B2, 400 mg Vitamin B6, 5.000 mg Eisen (Eisen-(II)-carbonat), 1.000 mg Kupfer (Kupfer-(II)-sulfat, Pentahydrat), 5.000 mg Zink (Zinkoxid), 2000 µg Vitamin B12, 2.500 mg Niacin, 100 mg Folsäure, 25.000 µg Biotin, 1.000 mg Pantothensäure, 80.000 mg Cholinchlorid, 6.000 mg Mangan (Mangan-(II)-oxid), 45 mg Jod (Calciumjodat), 35 mg Selen (Natriumselenit)

### 3.4. Versuchsplan

Die Diäten wurden in einem cross-over Design (Abb. 1) an zehn Beagle jeweils 3 Wochen lang gefüttert. Nach der Anpassungsphase von jeweils zwei Wochen erfolgte in der dritten Woche die Sammlung der Proben (Kot, Harn, Blut).

Hunde	1. Periode 14 Tage	2. Periode 14 Tage	3. Periode 14 Tage	4. Periode 14 Tage	5. Periode 14 Tage
1 + 2	Diät A	Diät E	Diät D	Diät C	Diät B
3 + 4	Diät B	Diät A	Diät E	Diät D	Diät C
5 + 6	Diät C	Diät B	Diät A	Diät E	Diät D
7 + 8	Diät D	Diät C	Diät B	Diät A	Diät E
9 + 10	Diät E	Diät D	Diät C	Diät B	Diät A

Probennahme    Probennahme    Probennahme    Probennahme    Probennahme

Abbildung 1: Versuchsdesign und Probennahmezeitpunkte

### 3.4.1. Sammlung der Proben

Nach einer jeweils zweiwöchigen Anpassungsphase, erfolgte in der dritten Woche die Sammlung von Kot und Harn über mehrere Tage, um eine repräsentative Mischprobe zu erhalten.

Kot wurde von jedem Hund frisch nach dem Absetzen im Raum oder beim Spaziergang bzw. im Auslauf gesammelt und sofort bei  $-80^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren gelagert.

Somit konnte die intestinale mikrobielle Zusammensetzung, die Konzentration mikrobieller Metabolite und der pH-Wert ermittelt werden. Für die Bestimmung der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit der Nährstoffe, wurde Kot über mehrere Tage gesammelt und gemischt. Um den Hunden einen mehrtägigen Aufenthalt in einem Stoffwechselkäfig zu ersparen, wurde der Harn nicht-invasiv mit einer speziellen Auffangvorrichtung für Rüden und Hündinnen beim täglichen Spaziergang aufgefangen. Dies wurde vor der Studie intensiv mit den Hunden geübt. Im Harn wurden Harnstoff, Kreatinin, Indikan, Phenol, Indol, 4-Ethylphenol, 3-Methylindol, 7-Methylphenol, Natrium, Kalium pH-Wert sowie die Osmolalität untersucht.

Ebenfalls erfolgte in der Probenwoche je einmalig eine Blutentnahme, wodurch die Untersuchung von Harnstoff und Kreatinin sowie die Anfertigung eines Blutbildes ermöglicht wurde.

### 3.5. Untersuchungen

#### 3.5.1. Bestimmung der Körpermasse

Die Körpermasse der Hunde wurde einmal wöchentlich bestimmt und dokumentiert.

#### 3.5.2. Bestimmung der Kotkonsistenz

Einmal wöchentlich wurde die Kotkonsistenz jedes Hundes bestimmt und dokumentiert. Diese Beurteilung fand mit Hilfe eines Scoring Systems statt (Tab. 8)

Tabelle 8: Beurteilung der Kotkonsistenz anhand eines Scoring Systems

Fäzes	Score
- geformt, hart und trocken	1
- geformt und trocken, nicht hart	2
- geformt aber sehr weich	3
- breiartig	4
- flüssig (Diarrhoe)	5

### 3.6. Blutentnahme

Es erfolgten insgesamt fünf Blutentnahmen pro Hund. Durch die Punktion der *V. cephalica antebrachii* bzw. *V. saphena lateralis* mit einer sterilen Einmalkanüle wurde das Blut in Monovetten aufgefangen. Für die Untersuchungen wurden 1,2 ml Blut in einem EDTA K Röhrrchen aufgefangen, 5,4 ml in einer S-Monovette sowie 2,7 ml Blut in einem Li-Heparinröhrrchen.

Das Blut bzw. Plasma wurde zur Untersuchung in die Kleintierklinik der Freien Universität Berlin gebracht und dort analysiert.

Die für die Blutentnahme verwendeten Gebrauchsmaterialien sind in Tab. 32 aufgeführt (Anhang).

### 3.6.1. Allgemeinuntersuchung

Am Tag der Blutentnahme wurde jeweils eine allgemeine Untersuchung durchgeführt, dabei wurde auf den Allgemeinzustand, Verhalten, Pflegezustand, Körperhaltung, Ernährungszustand, Schleimhäute sowie die rektale Körpertemperatur geschaut.

### 3.7. Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit

#### 3.7.1. Prinzip

Durch den Verdaulichkeitsmarker Titandioxid ( $\text{TiO}_2$ ) konnte die scheinbare Gesamtverdaulichkeit (sV) der Rohnährstoffe sowie Mengen- und Spurenelemente im Futter bestimmt werden. Das Titandioxid wurde in einer Konzentration von 0,2 % ins Futter eingemischt. Da die Rohnährstoffe und das Titanoxid sowohl im Futter als auch im Hundekot bestimmt wurden, konnte anhand folgender Formel die scheinbare Verdaulichkeit berechnet werden.

$$sV (\%) = 100 - \left[ \left( \frac{\text{Indikator im Futter}}{\text{Indikator im Kot}} \right) \times \left( \frac{\text{Nährstoff im Kot}}{\text{Nährstoff im Futter}} \right) \times 100 \right]$$

#### 3.7.2. Durchführung

Nach einer Adaptationsphase von 14 Tagen wurden in den darauffolgenden 4-5 Tagen Kotproben eingesammelt und miteinander gemischt. Diese Mischproben wurden bei  $-20^\circ\text{C}$  bis zur Weiterverarbeitung gelagert und davon anschließend etwa 150 g abgewogen. Diese Mischproben wurden nun über mehrere Tage gefriergetrocknet. Nach dem Mahlen auf 0,5 mm konnten die Rohnährstoffe (Rohasche, Rohfaser, Rohfett, Rohprotein, NDF, ADF, TDF), die Mengenelemente (Kalzium, Phosphor, Magnesium, Kalium und Natrium), die Spurenelemente (Eisen, Mangan, Zink, Kupfer) im Kot anhand der VDLUFA (Methodenbuch III, Naumann Basler 2012) bestimmt werden.

Dadurch lagen alle Parameter vor um anschließend die scheinbare Gesamtverdaulichkeit berechnen zu können. Alle dafür verwendeten Materialien sind in Tabelle 33 aufgeführt (Anhang).

### 3.7.2.1 Bestimmung der Rohnährstoffe

#### 3.7.2.1.1 Trockensubstanz

Um die Trockensubstanz (TS) der Futter- bzw. Kotproben zu bestimmen, wurden etwa 1 g der Probe (E) in einen Porzellantiegel (T1) eingewogen und anschließend bei 103°C für die Dauer von 4 Stunden in einem Trockenschrank getrocknet.

In einem Exsikkator konnten die Proben abkühlen, bevor die Porzellantiegel erneut gewogen wurden (T2). Anhand folgender Formel wurde anschließend der Gehalt an Trockensubstanz ermittelt.

$$\text{Berechnung (TS in g/kg)} = \left[ \frac{T_2 - T_1}{E} \right] \times 1000$$

#### 3.7.2.1.2 Rohasche

Für die Bestimmung der Rohasche (Ra) wurden ca. 1 g Futter bzw. 0,5 g der Kotprobe (E) in einen Porzellantiegel (T1) eingewogen und in einem Muffelofen bei 600°C über Nacht verascht. Nachdem die Tiegel in einem Exsikkator abgekühlt waren, erfolgte ein erneutes Wiegen der Proben (T2) und somit konnte der Rohaschegehalt durch Differenz ermittelt werden.

$$\text{Berechnung (Ra in g/kg)} = \left[ \frac{T_2 - T_1}{E} \right] \times 1000$$

#### 3.7.2.1.3 Rohprotein

Der Gehalt an Rohprotein (Rp) wurde durch die Ermittlung des Stickstoffgehaltes nach der Dumas-Methode bestimmt. Es wurden hierfür etwa 300 mg der Futter- bzw. Kotprobe und 250 mg Glutaminsäure als Standard je in ein Probengefäß eingewogen. Hierbei kam ein Makro-Elementanalysator zum Einsatz.

### 3.7.2.1.4 Rohfett

Der Rohfettgehalt (Rfe) der Futter- bzw. Kotproben wurde anhand des Soxhlet-Verfahrens bestimmt. Dafür wird 1 g der zu bestimmenden Probe (E) in einen Filterbeutel eingewogen. Dieser wird durch Hitze verschlossen und anschließend zur Extraktion in eine Soxhlethülse gegeben. Das Glas, welches das Fett auffängt wurde vorher gewogen und somit die Tara bestimmt (T1). Die Fettextraktion erfolgt mittels Petrolether. Nach der Prozedur wurde das Glas mit Inhalt bei 103°C in einem Trockenschrank getrocknet und anschließend zurückgewogen (T2). Durch Bestimmung der Differenz ließ sich nun der Rohfettgehalt bestimmen.

$$\text{Berechnung (Rfe in g/kg)} = \left[ \frac{T2-T1}{E} \right] \times 1000$$

### 3.7.2.1.5 Rohfaser

Für die Bestimmung der Rohfaser (Rfa) wurden jeweils 0,5 g Futter bzw. Kot (w2) in einen Filterbeutel (w1) eingewogen, verschlossen und nacheinander mit 1,25 %iger Schwefelsäure sowie 1,25 %iger Natronlauge gekocht. Die Filterbeutel wurden anschließend für 2-3 Minuten in Aceton eingelegt, danach in einem Trockenschrank mindestens für 6 Stunden getrocknet und anschließend zurückgewogen (w3). Über Nacht wurden die Proben in ihrem jeweiligen Filterbeutel bei 600°C verascht, in einem Exsikkator abgekühlt und der Tiegel zurückgewogen (w4).

$$\text{Berechnung (Rfa in g/kg)} = \frac{(w3 - w4) - (w1 \times c1)}{w2} \times 1000 \quad c1 = \text{Blindwertkorrektur}$$

### 3.7.2.1.6 NDF (Neutral Detergent Fiber)

Zur Bestimmung des Gehaltes an NDF (hauptsächlich Zellulose, Hemizellulose und Lignin) wurden 0,5 g Futter bzw. Kot (w2) in ein zuvor gewogenes und beschriftetes Filterbag (w1) eingewogen und verschlossen. Diese Bags (max. 24) sowie zwei Blindwerte pro Lauf wurden anschließend in den Ankom® Fiber Tec 2000 gegeben, 4 ml einer hitzestabilen alpha-Amylase zugefügt und die Gehalte an NDF extrahiert. Nach der Extraktion wurden die Bags für etwa 5 Minuten in Aceton gelegt, um restliches Wasser zu entfernen. Nach der Trocknung im Trockenschrank über Nacht bei 104°C, wurden die Bags im Exsikkator zum Auskühlen gelagert und anschließend zurückgewogen (w3). Alle verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 39 aufgeführt (Anhang).

$$\text{NDF in \%} = \left( \frac{w3 - (w1 \times c1)}{w2} \right) \times 100$$

c1 = Blindwertkorrektur

Als Modifizierung der VDLUFA, wurde anschließend vom Inhalt der Bags der Futterproben Rohprotein bestimmt (Dumas-Methode), da von einer Verfälschung der NDF-Ergebnisse durch den Proteingehalt des Versuchsfutters auszugehen war. Nach der Proteinkorrektur lagen die NDF-Werte im zu erwartenden Bereich (Tab. 9).

### 3.7.2.1.7 ADF (Acid Detergent Fiber)

Um in Futter oder Kotproben den Gehalt an Zellulose und Lignin (auch als ADF bezeichnet) zu ermitteln, wurden 0,5 g Futter bzw. Kot (w2) in ein zuvor gewogenes Filterbag (w1) eingewogen und dieser verschlossen. Anschließend wurden diese Bags (max. 24) zusammen mit zwei Blindwerten pro Lauf in den Suspender des Ankom<sup>®</sup>-Messgeräts gegeben und dieser verschlossen. Es wurde automatisch die zuvor hergestellte ADF-Lösung zugegeben (20 g Cetyltrimethylammoniumbromid mit 0,5 molarer Schwefelsäure ad 1l aufgefüllt). Nach der Extraktion wurden die Bags für einige Minuten in Aceton eingeweicht, über Nacht bei 104°C im Trockenschrank getrocknet, im Exsikkator ausgekühlt und zurückgewogen (w3). Alle verwendeten Geräte und Materialien befinden sich in Tabelle 39 (Anhang).

$$\text{ADF in \%} = \left( \frac{w3 - (w1 \times c1)}{w2} \right) \times 100$$

c1 = Blindwertkorrektur

### 3.7.2.1.8 TDF (Total Dietary Fiber)

Um den Gehalt an TDF in Futterproben zu bestimmen wurde das Protokoll K-TDFR-100A/K-TDFR-200A 08/16 der Firma Megazyme<sup>®</sup> (Irland) angewendet. Dafür wurden zunächst je als Duplikat 1 g der zu untersuchenden, entfetteten Probe in ein Becherglas eingewogen (plus jeweils ein Blindwert), mit je 40 ml einer MES-TRIS Pufferlösung (0,05 M, pH 8,2) versetzt und mit Hilfe eines Magnetrührers durchmischt. Anschließend wurden je 50 µl einer hitzestabilen alpha-Amylase-Lösung hinzugegeben, die Bechergläser mit Aluminiumfolie abgedeckt und für 30 Minuten in einem 100°C warmen Wasserbad inkubiert. Somit wurde die enthaltene Stärke hydrolysiert und depolymerisiert. Nach der Abkühlung im Eisbad auf 60°C, erfolgte die Zugabe



von 10 ml destilliertem Wasser und 100 µl einer Protease-Lösung, um Proteine zu lösen und zu depolymerisieren. Das Wasserbad wurde auf 60°C gekühlt und die Proben darin anschließend für weitere 30 Minuten inkubiert. Anschließend wurden 5 ml einer 0,56 molaren Salzsäurelösung zugegeben und der pH-Wert kontrolliert bzw. gegebenenfalls mittels 5 %iger Natronlauge bzw. Salzsäure angepasst (pH-Wert sollte 4,1 - 4,8 sein). Nach der Zugabe von 200 µl Amyloglucosidase-Lösung (um Stärkefragmente in Glucose zu hydrolysieren) wurden die Bechergläser erneut im Wasserbad für 30 Minuten inkubiert. Um die unlösliche Fraktion zu bestimmen, wurden die Glastiegel mit 0,3 g (Modifizierung: laut Protokoll 0,1 g) Celite gefüllt und dieses durch 3 ml destilliertes Wasser aufgeschwemmt und wieder abgesaugt, um eine ebene Matte zu erhalten. Nun wurde der Inhalt der Bechergläser durch die Glastiegel gefiltert und die Rückstände zweimal mit auf 70°C erwärmtem destilliertem Wasser gewaschen. Das entstandene Filtrat, in welchem die löslichen Faserstoffe enthalten sind, wurde mit dem vierfachen Volumen an Ethanol (auf 60°C) versetzt. Nun konnten enthaltene lösliche Faserstoffe für 60 Minuten bei Raumtemperatur präzipitieren. Danach erfolgte ebenfalls die Filtration durch einen Glastiegel mit einer zuvor hergestellten Matte aus Celite. Nach der Filtration wurde der Rückstand nacheinander mit je zwei mal 15 ml Ethanol (78 %, 95 %) sowie Aceton gewaschen.

Die Glastiegel (mit im Rückstand enthaltenen unlöslichen Faserstoffen) wurden zweimal mit 10 ml Ethanol (95 %) sowie Aceton gewaschen. Alle Glastiegel wurden über Nacht im Trockenschrank bei 103°C getrocknet. Je ein Duplikat wurde auf Rohprotein bzw. Rohasche analysiert und anschließend vom Gewicht des gefilterten und getrockneten Rückstandes abgezogen.

Somit ergaben sich die Ergebnisse für lösliche und unlösliche Fraktionen sowie des Gesamtgehaltes an TDF an Faserstoffen in der Probe. Alle verwendeten Geräte und Material finden sich in Tabelle 39 (Anhang).

### 3.7.2.2 Bestimmung der Mengen- und Spurenelemente

#### 3.7.2.2.1 Probenvorbereitung

Der Rückstand der Rohaschebestimmung diente hier als Ausgangsmaterial für die Bestimmung der Mengen- und Spurenelemente.

Die Proben wurden mit 7 ml Reinstwasser sowie 2,1 ml konzentrierter Salzsäure versetzt und 60 Minuten in einem auf 220°C vorgeheiztem Sandbad erhitzt.

Nach Abkühlung der Proben, wurden sie über einen gefalteten Rundfilter mit Hilfe von Reinstwasser in 25 ml Messkolben überführt.

### 3.7.2.2 Messung der Mengen- und Spurenelemente

Die Analyse des Gehaltes an den Mengenelementen Kalzium, Natrium, Kalium und Magnesium sowie der Spurenelemente Eisen, Zink, Kupfer und Mangan erfolgte mittels Atomabsorptionsspektrometer.

### 3.7.2.3 Phosphorbestimmung

Die Messung von Phosphor erfolgte durch Zugabe der Aschelösung mit einem Vanadatmolybdat-Reagenz. Dieses besteht aus Salpetersäure sowie den Phosphorkomplexbildnern Ammoniumvanadat und Ammoniummolybdat. Es entsteht eine Gelbfärbung, deren Intensität sich proportional zur Konzentration verhält. Die Extinktion wird photometrisch bei der Wellenlänge  $\lambda = 436 \text{ nm}$  gemessen und der Phosphorgehalt anhand einer Kalibrierreihe berechnet. Alle verwendeten Materialien finden sich in den Tabellen 34-38 (Anhang).

### 3.7.2.4 Titandioxidbestimmung

Von den zu untersuchenden Kotproben wurden jeweils 100 mg und von den Futtermittelproben je 200 mg in ein Glasaufschlussgefäß eingewogen. Bevor die Proben bei  $400^\circ\text{C}$  für 95 Minuten gekocht und somit aufgeschlossen wurden, erfolgte die Zugabe von je 10 ml konzentrierter Schwefelsäure, 3 Siedesteinchen und einem Kjeldahlkatalysator.

Nach dem Abkühlen wurden die Proben mit Reinstwasser in einen Messkolben überführt und anschließend in Greiner gefiltert. Von dieser Lösung wurden zur Titandioxidbestimmung 2 ml mit 200  $\mu\text{l}$  30 %igem Wasserstoffperoxid versetzt und mit Hilfe einer Standardreihe (50, 100, 200 und 500  $\mu\text{g}$  Titandioxid/2,2 ml) bei einer Wellenlänge von 410 nm photometrisch gemessen.

## 3.8. Bestimmung der bakteriellen Metaboliten im Kot

Um verschiedene bakterielle Metaboliten (kurzkettige Fettsäuren, D- und L-Laktat, Ammonium, Indol und Phenol) zu bestimmen, wurden frische Kotproben gesammelt und bis zur Weiterverarbeitung bei  $-20^\circ\text{C}$  gelagert.

Alle für die Untersuchungen verwendeten Materialien, Geräte und Chemikalien sind in den Tabellen 40-58 aufgeführt (Anhang).

### 3.8.1. Kurzkettige Fettsäuren

#### 3.8.1.1. Prinzip

Die Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren erfolgte mit Hilfe der Gaschromatografie. Hierzu wird die Probe zunächst in einem Injektor verdampft und anschließend mit Hilfe eines Trägergases durch eine Säule transportiert. Hier erfolgt durch unterschiedliche Siedepunkte sowie Wechselwirkungen mit der stationären Phase eine Auftrennung der kurzkettigen Fettsäuren. Die Analyten werden mit Hilfe eines Flammenionisationsdetektors detektiert und mit Hilfe von der HPChem Software qualitativ und quantitativ erfasst.

#### 3.8.1.2. Durchführung

Zuerst wurden 300 mg der zu untersuchenden Kotprobe mit 1 ml einer Verdünnungslösung (0,5 mmol/L Capronsäure; interner Standard) vermischt. Nachdem diese Suspension nun für eine Stunde auf dem Rüttler inkubiert und anschließend bei 14.800 x g und Raumtemperatur für 10 Minuten zentrifugiert wurde, wurden 100 µl des Überstandes entnommen.

Dieser Überstand wurde mit 900 µl Capronsäurelösung verdünnt und anschließend zur Analyse in einen Gaschromatografen gegeben, wobei nach allen zehn Proben eine Kalibrierung mit einer Standardlösung vorgenommen wurde (Tab. 40-43 Anhang). Über einen Gasgenerator wurde Wasserstoff generiert, welches als Trägergas fungierte. Das Probenvolumen von 1 µl wurde mit einer Wasserstoffflussrate von 30ml/min auf die HP-INNOWAX-Säule aufgebracht und chromatografisch getrennt.

Über die Flächenintegration des jeweils zugehörigen Peaks konnte am Ende der Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren in der zu untersuchenden Kotprobe bestimmt werden (Software: HP ChemStation).

### 3.8.2. D- und L-Laktat

#### 3.8.2.1. Prinzip

D- und L-Laktat werden mit Hilfe einer chiralen Säule über Flüssigkeitschromatografie getrennt und anschließend quantifiziert. Dies funktioniert aufgrund der Wasserlöslichkeit von D- und L-Laktat.

### 3.8.2.2. Durchführung

Zu Beginn wurden 500 mg der Kotprobe in ein Eppendorfgesäß eingewogen, mit 1 ml Kupfer-II-sulfat-Lösung (0,5 mmol/l) (Tab. 44-51 Anhang) versetzt und gemischt. Nach der zehnmütigen Extraktion auf dem Schüttler, erfolgte nacheinander die Zugabe von 100 µl Carez I und Carez II Lösung (Tab. 48,49) und anschließend eine Zentrifugation von zehn Minuten bei 14000 rpm. Der nun entstandene Überstand wurde durch einen Celluloseacetatfilter (Porengröße 0,45 µm) gegeben und in ein frisches Eppendorfgesäß überführt. Zu den anschließend entnommenen 400 µl des Überstandes wurden 600 µl Kupfer-II-sulfat-Lösung (0,5 mmol/l) gegeben und in ein Messgesäß (Vial) gefüllt.

Die Analyten wurden isokratisch bei einer Flussrate von 1ml/min getrennt. Dabei zeigte D-Laktat eine Retentionszeit von 15-15,5 Minuten und L-Laktat 12-12,5 Minuten. Der UV/VIS-Detektor maß die Proben bei 253 nm.

Über die Chromeleon-Software 6.9 und eine Standardreihe konnte die Auswertung der Daten erfolgen.

### 3.8.3. Ammonium

#### 3.8.3.1. Prinzip

Die Bestimmung von Ammonium wurde über die Berthelot-Reaktion durchgeführt. Hierbei liegt ein alkalisches Milieu vor sodass Ammonium in Form von Ammoniak vorliegt. Zuerst reagiert Ammoniak mit Hypochlorit zu Monochloramin, welches anschließend mit Thymol zu N-Chlor-2-isopropyl-5-methylchinon-monoimin reagiert. Dieses wiederum reagiert mit einem Thymolmolekül zu Indophenol, welches im alkalischen Milieu in blauer Basenform vorliegt. Über Fotometrie kann nun die Konzentration bestimmt werden.

#### 3.8.3.2. Durchführung

Für die Bestimmung von Ammonium werden zunächst 500 mg Digesta mit 1 ml einer auf pH 7 eingestellten, eiskalten 100 mM MOPS - Pufferlösung (Tab. 52-56 Anhang) versetzt, gut homogenisiert und anschließend für zehn Minuten auf Eis inkubiert. Anschließend wurden die Proben bei 17 000 x g (10 Minuten, 4°C) zentrifugiert und der Überstand in ein neues Eppendorfgesäß überführt. Dieser wurde für die eigentliche Bestimmung 1:120 verdünnt. Die Messung erfolgte in einer Mikrotiterplatte. Hierzu wurden zunächst 20 µl Probe vorgelegt und diese anschließend mit 100 µl Reagenz 1 (Phenol-Nitroprussid) und 100 µl Reagenz 2

(0,2 % Na-Hypochloritlösung in 1 M NaOH) durch Auf- und Abpipettieren eingemischt. Nun erfolgte eine 15-minütige Inkubation bei Raumtemperatur, wonach sich die photometrische ( $\lambda = 620 \text{ nm}$ ) Messung anschloss. Dazu wurde die Mikrotiterplatte in das Mikrotiterplatten-Lesegerät gestellt. Nach weiteren 5 Minuten erfolgte die zweite Messung. Die anschließende Auswertung erfolgte mittels Standardreihe und der XFluor4 Software.

### 3.8.4. Phenol und Indol

#### 3.8.4.1. Prinzip

Die Bestimmung von Phenol und Indol erfolgte nach dem Prinzip der Gaschromatografie. Die zu untersuchende Probe wird verdampft und über ein Trägergas durch eine Säule transportiert. Durch Wechselwirkungen mit der stationären Phase kommt es zu einer Auftrennung der Phenole und Indole, deren jeweilige Konzentration nun durch einen Flammenionisationsdetektor bestimmt wird.

#### 3.8.4.2. Durchführung

Zunächst wurden etwa 2 Gramm Kot in ein Oakridge-Gefäß eingewogen und nacheinander 1 ml eines internen Standards (125,67 mg/100 ml 5-Methylindol) sowie 4 ml Methanol dazugegeben. Anschließend wurden die Proben eine Stunde bei 4°C inkubiert, wobei alle 15 Minuten gevortext wurde um eine gute Durchmischung zu gewährleisten. Nun erfolgte die Zentrifugation bei 29000 x g (bei 4°C) für 15 Minuten und der Überstand wurde in ein neues Gefäß überführt. In das Oakridge-gefäß wurde nun erneut 5 ml Methanol zugegeben, für eine Stunde bei 4°C inkubiert und alle 15 Minuten gevortext. Die erneute Zentrifugation erfolgte ebenfalls bei 29000 x g (bei 4°C), jetzt jedoch 20 Minuten lang. Der jetzt entstandene Überstand wurde ebenfalls in das neue Gefäß zum vorigen Überstand überführt.

Von diesen Überständen wurden etwa 2 ml in ein Eppendorfgefäß abgefüllt und 10 Minuten bei 14800 x g zentrifugiert. Anschließend überführte man 300  $\mu\text{L}$  in ein Vial, welches als Probenröhrchen für die Gaschromatografie diente.

Durch einen Flammenionisationsdetektor erfolgte die Detektion der Analyte, welche anschließend mit Hilfe der HPChem Software qualitativ und quantitativ erfasst wurden.

Die Nachweisgrenzen in  $\mu\text{g/ml}$ : Phenol = 0,756, p-Cresol = 0,517, 4-Ethylphenol = 0,515, Indol = 0,845, 3-methylindol = 0,689, 7-methylindol = 0,720, 2-methylindol = 0,812, 2,3 dimethylindol=0,741.

Alle verwendeten Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterialien sind in Tab. 57 (Anhang) aufgeführt.

### 3.8.5. Biogene Amine

#### 3.8.5.1. Prinzip

Die Bestimmung der Konzentration an biogenen Amine erfolgte durch das Prinzip der Ionenchromatografie mit anschließender Ninhydrin-Nachsäulenderivatisierung.

#### 3.8.5.2. Durchführung

Es wird zunächst 0,5 g der zu untersuchenden Kotprobe in ein 2 ml Eppendorfgefäß eingewogen und zusammen mit 1 ml der Extraktionslösung (wässrige Trichloressigsäure (10 % w/v) für 30 Minuten auf dem Schüttler inkubiert. Danach wird eine Zentrifugation durchgeführt (10 Minuten bei 13 000 x g) und der Überstand 1:1 mit der Extraktionslösung verdünnt und durch einen Cellulose-Acetatfilter (0,45 µm Porengröße) filtriert. Je Probe wurden 25 µl durch den Probengeber auf die Ionenaustauschsäule gegeben und gemessen. Die verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien sind in Tabelle 58 (Anhang) aufgeführt.

### 3.8.6. Bestimmung des pH-Wertes

Die Bestimmung des pH-Wertes des Hundekotes erfolgte mit Hilfe einer pH-Einstichelektrode (Tab. 65 Anhang).

### 3.9. Molekularbiologische Methoden

#### 3.9.1. Extraktion bakterieller DNA aus den Kotproben

Um die bakterielle DNA aus den Hundekotproben zu extrahieren wurde das Quiagen® PowerSoil DNA Kit verwendet. Dazu wurden zunächst jeweils 200 mg (laut Herstellerangaben 250 mg, alle anderen Aufarbeitungsschritte folgten gemäß Herstellerangaben) der Kotproben in ein PowerBead Tube eingewogen und mit 60 µl einer vorgewärmten C1-Lösung versetzt und gevortext. Um eine Homogenisierung zu erreichen und die DNA mechanisch zu lysieren, wurden die Röhrchen in das FastPrep-24 5 G Gerät gestellt und 5 x 30 Sekunden lang auf 6 m/s beschleunigt. Anschließend wurden die Röhrchen im Eisbad gekühlt und bei 10.000 x g für 30 Sekunden zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues 2 ml Sammelgefäß (vom Hersteller gestellt) überführt, mit 250 µl C2 - Lösung versetzt, inkubiert und bei 10.000 x g für 60 Sekunden zentrifugiert. Der nun entstandene Überstand wurde wiederum in ein neues Sammelgefäß abgefüllt, 200 µl C3-Lösung hinzugegeben und ebenfalls für 5 Minuten bei 2-8 °C inkubiert. Auch nach diesem Schritt wurde das Röhrchen bei 10.000 x g für 60 Sekunden zentrifugiert. Von diesem Überstand wurden nun bis zu 750 µl in ein neues Sammelgefäß gefüllt und 1200 µl C4-Lösung zugefügt und gut durchmischt. Von diesem Gemisch wurden nun etwa 600 µl auf ein MB Spin Column-gefäß gegeben und dieses bei 10.000 x g für 60 Sekunden zentrifugiert. Hierbei wird die DNA an der Säule gebunden, während sich der Rest unten im Gefäß sammelt. Der Überschuss wurde nun verworfen und das eben beschriebene Prozedere noch zwei weitere Male durchgeführt. Jetzt wurden 500 µl C5-Lösung hinzugefügt und bei 10.000 x g für 30 Sekunden zentrifugiert. Die Säule wurde nun in ein neues, sauberes Gefäß überführt und 100 µl C6- Lösung auf die Filtermembran pipettiert. Diese löst nun die DNA von der Membran, die sich nach der letzten Zentrifugation (10.000 x g für 30 Sekunden) nun in der Flüssigkeit am Boden des Gefäßes befindet. Alle verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien finden sich in Tabelle 59 (Anhang). Bis zur Weiterverarbeitung wurde das Gefäß bei – 20°C aufbewahrt.

#### 3.9.2. Illumina®-Sequenzierung

Die DNA -Proben wurden von der Firma LGC Genomics GmbH (Berlin, Deutschland) sequenziert.

Bei der Illumina®-Sequenzierung (Next-Generation-Sequencing-Technologie) handelt es sich um eine sogenannte *de-novo*-Synthese, bei der 2 x 300 Bp lange „Reads“ sequenziert werden (LGC Inc., 2015).

Für die Analyse wurde ein MiSeq-Gerät der Firma Illumina, Inc. verwendet (San Diego, Kalifornien, USA). Als Technologie wird hierbei „Sequencing by Synthesis“ benutzt (Schmitt, 2014).

Die Daten wurden anschließend als FASTA-Dateien übermittelt und auf die Datenbank „MG-RAST“ (<http://metagenomics.anl.gov/>) hochgeladen (Meyer et al., 2008). Anhand der 16 S rRNA Gensequenzen erstellte die Datenbank probenspezifische Metagenome. Um die Metagenome auf Genusebene darstellen zu können, wurden nur diejenigen Genera berücksichtigt, deren Sequenzen innerhalb einer analysierten Probe häufiger als 5 x detektiert wurden.

### 3.10. Erstellung des Dendrogramms

Das Dendrogramm zur Visualisierung der Verteilung der intestinalen Mikrobiota der Hunde wurde mit Hilfe folgender Homepage erstellt:

<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HEATMAP/heatmap.html>

Als Methode wurde „Ward D“ verwendet.

### 3.11. Bestimmung der Proteinabbauprodukte im Harn

#### 3.11.1. Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin

##### 3.11.1.1. Prinzip

Harnstoff und Kreatinin im Harn werden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatografie bestimmt. Bei diesem chromatografischen Trennverfahren wird die Probe mit einem Laufmittel (mobile Phase) durch eine Trennsäule gepumpt. Diese enthält die stationäre Phase.

##### 3.11.1.2. Durchführung

Für die Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin werden 500 µl Harn mit 500 µl Puffer ( $\text{LiCO}_3/\text{H}_3\text{BO}_3$ ) in ein Vial abgefüllt. Anschließend wird die Probe in einen Hochleistungsflüssigkeitschromatografen injiziert. Die für die Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien sind in Tabelle 60 aufgeführt.



### 3.11.2. Bestimmung von Indican

#### 3.11.2.1. Prinzip

Die Aminosäure Tryptophan wird im Dünndarm mikrobiell zu Indol abgebaut, welches in der Leber zu Indoxyl oxidiert und mit Sulfat verestert wird und anschließend renal als Indoxylsulfat-Kaliumsalz über den Harn ausgeschieden wird.

Curzon und Walsh (1962) entwickelten eine Methode, auf deren Basis das verwendete Testkit beruht. Durch Zugabe von Salzsäure und p-Dimethylaminobenzaldehyd entsteht ein spezifisches Produkt, das bei 480 nm colorimetrisch messbar ist. Die Farbentwicklung ist nach fünf Minuten abgeschlossen und ist bis zu 10 mg/dl zur Indican-Konzentration proportional. Über eine Standardreihe von 0,5 – 10 mg/dl wird die Konzentration an Indican in der Probe ermittelt. Der Test wurde in UV-Mikroküvetten durchgeführt, was eine Modifikation der Herstellerangaben ist.

#### 3.11.2.2. Durchführung

Die tiefgefrorene Harnprobe wurde zunächst bei Raumtemperatur aufgetaut, mittels Ultraschall gereinigt und bei 13 000 x g zehn Minuten lang zentrifugiert. In die UV-Mikroküvetten wurden je 40 µl Wasser vorgelegt und anschließend je 10 µl Probe in den Wassertropfen eingemischt (1:5 Verdünnung). Jede Probe wurde mit zwei verschiedenen Verdünnungen als Doppelbestimmung bestimmt.

Im folgenden Schritt wurden 140 µl Reagenz A durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren eingemischt und 5 Minuten lang inkubiert. Nun wurde jeweils 10 µl Reagenz B zugegeben und erneut 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, bevor die Konzentration bei 480 nm colorimetrisch gegen Luft im Photometer ermittelt wurde. Über eine Standardreihe (0,5 – 10 mg/dl) kann die Konzentration an Indican in der Harnprobe ermittelt werden.

Über die für die Bestimmung verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien stellen die Tabellen 61 und 62 eine Übersicht dar.

### 3.11.3. Bestimmung von Phenol und Indol

#### 3.11.3.1. Prinzip

Die Bestimmung erfolgt nach dem Prinzip der Gaschromatografie. Die in einem Injektor verdampfte Probe wird über ein Trägergas (mobile Phase) durch eine Säule (stationäre Phase) transportiert wo es durch Wechselwirkungen zur Auftrennung der einzelnen Phenole bzw. Indole kommt. Über einen Flammenionisationsdetektor wird die Konzentration in der Probe bestimmt und mittels Software ein Chromatogramm erstellt und ausgegeben.

#### 3.11.3.2. Durchführung

Von jeder zu untersuchenden Harnprobe wurden 5 ml abgenommen und mittels konzentrierter Ameisensäure auf pH 5 eingestellt. Anschließend wurden je 80 µl der Enzyme  $\beta$ -Glucuronidase/Arylsulfatase zu den Harnproben hinzugegeben und bei 37°C im Wasserbad für eine Stunde inkubiert. Danach erfolgte die Zugabe von 100 µl eines internen Standards (5-Methylindol) und die Probe wurde über 1 Tag lyophilisiert und danach in 500 ml Methanol aufgenommen. Nach der sich anschließenden Zentrifugation (2000 x g, 10 Minuten) wurde der Überstand in ein Vial überführt und davon 1 µl in den Injektor injiziert.

Nachweisgrenzen in µg/ml: Phenol=0,756, p-Cresol=0,517, 4-Ethylphenol=0,515, Indol=0,845, 3-Methylindol=0,689, 7-Methylindol=0,720, 2-Methylindol=0,812, 2,3 - Methylindol=0,741.

Die hierfür verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 63 (Anhang) gezeigt.

### 3.11.4. Bestimmung der Osmolalität

#### 3.11.4.1. Prinzip

Da der osmotische Wert einer Lösung den Gefrierpunkt beeinflusst, kann man somit indirekt über die Gefrierpunktsbestimmung den osmotischen Wert bestimmen.

### 3.11.4.2. Durchführung

Die Messung fand in einem Osmometer statt. Hierzu wurden etwa 100 µl Harn pro Probe in ein Eppendorfgefäß gefüllt und die Messnadel des Osmometers in den Harn gehalten (Tab. 64). Das Gerät kühlt die Probe auf -6,2°C ab. Die „Nadel“ löst das Gefrieren der Probe aus.

### 3.11.5. Bestimmung des pH-Wertes

Der pH-Wert im Harn wurde mit einer pH-Einstichelektrode gemessen (Tab. 65 Anhang).

### 3.11.6. Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Blut

Die Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Blut erfolgte photometrisch in der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin.

### 3.12. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Die Daten wurden zuerst auf ihre Normalverteilung geprüft, wozu der Shapiro-Wilk-Test genutzt wurde. Die Darstellung der überwiegend normalverteilten Daten erfolgte als Angabe von Mittelwert und Standardabweichung.

Über den Levene-Test wurde die Varianzhomogenität geprüft. Lag diese vor, wurde eine einfaktorielle (ANOVA) bzw. zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt, anderenfalls konnte diese nicht herangezogen werden. Für die zweifaktorielle Varianzanalyse wurde Diät E aufgrund des nicht vergleichbaren Fasergehaltes sowie beider enthaltenen Faserquellen ausgeschlossen. Die anderen Diäten wurden auf die Einflüsse der Faktoren „Protein“, „Faser“ und „Protein × Faser“ geprüft.

Als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  festgelegt. Um Unterschiede zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen nachzuweisen, wurde anschließend ein Post-Hoc-Signifikanztest durchgeführt, hierfür wurde der Tukey-Test gewählt. Für die nicht normalverteilten Werte wurde der Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem Mann-Whitney-U-Test gewählt.

Die Visualisierungen der Parameter in Harn und Kot wurden mit Hilfe der Statistiksoftware „RStudio“ (RStudio Inc., Boston, MA, USA) erstellt. Für die Erstellung der Korrelationen zwischen den nicht normalisierten und normalisierten Harnparametern zu Kreatinin wurde der Mann-Whitney-U-Test gewählt.

### 4. Ergebnisse

In diesem Abschnitt werden zunächst die Ergebnisse der Futteranalyse und der analysierten Zusammensetzung des verwendeten Biertreibers sowie Karottentresters gezeigt. Anschließend wird das Ergebnis des Gesundheitszustandes der Hunde während des Versuchs dargestellt sowie die Ergebnisse der Analysen von Kot, Harn und Blut. Über die Hundekotproben wurden verdauungsphysiologische Parameter analysiert, die bakteriellen Metabolite ermittelt sowie eine 16sDNA-Sequenzierung mittels Illumina® durchgeführt, um die fütterungsbedingte Veränderungen der intestinalen mikrobiellen Besiedlung zu ermitteln. Der Harn sowie das Blut wurden auf Stoffe des Proteinmetabolismus untersucht.

#### 4.1. Versuchsdiäten

In Tabelle 9 befinden sich die analytischen Bestandteile der fünf Versuchsdiäten. Tabelle 10 beschreibt die Zusammensetzung und Bezeichnung der fünf Versuchsdiäten. In Tabelle 11 werden die analytischen Bestandteile des in der Studie verwendeten Biertreibers und Karottentresters gezeigt

## Ergebnisse

Tabelle 9: Zusammensetzung und analytische Bestandteile der Versuchsdiäten

	Diät A	Diät B	Diät C	Diät D	Diät E
g/kg uS <sup>1</sup>					
Trockensubstanz	917	940	927	944	931
g/kg TS <sup>1</sup>					
Rohasche	58,7	60,2	56,0	57,9	55,9
Rohfett	103	109	101	105	98,6
Rohprotein	213	409	216	399	219
Rohfaser	25,5	25,3	29,7	31,6	9,22
TDF <sup>2</sup> (gesamt)	81,3	81,9	75,1	80,2	34,4
unlöslich	63,8	58,6	53,2	55,8	19,7
löslich	17,4	23,3	21,9	24,4	14,7
NDF	74,9	126	56,7	86,8	30,0
NDF					
(um Rohprotein korrigiert)	70,6	72,2	49,9	54,2	19,3
ADF	36,5	41,5	42,5	41,7	16,3
Titandioxid <sup>3</sup>	2,15	2,06	2,11	2,07	2,11
Kalzium	10,1	9,83	9,99	9,84	9,75
Phosphor	7,23	7,23	6,88	6,75	7,12
Natrium	2,62	3,59	3,22	4,55	3,21
Kalium	6,43	5,99	6,17	5,98	6,18
Magnesium	1,82	1,78	1,82	1,78	1,43
mg/kg TS					
Eisen	575	630	201	210	204
Mangan	114	127	108	112	113
Kupfer	19,1	19,1	17,3	23,9	23,3
Zink	136	156	131	137	143

<sup>1</sup> uS = Ursprüngliche Substanz, TS = Trockensubstanz

<sup>2</sup> TDF = Total dietary fiber, NDF = Neutral detergent fiber, ADF = Acid detergent fiber

<sup>3</sup> Titandioxid wurde als unverdaulicher Marker eingesetzt

## Ergebnisse

Tabelle 10: Übersicht der Faser- und Proteingehalte der Versuchsdiäten

Faserquelle in % TDF	Proteingehalt 20%	Proteingehalt 40%
Biertreber 7,5	Diät A	Diät B
Karottentrester 7,5	Diät C	Diät D
Biertreber/Karottentrester 2	Diät E	

Tabelle 11: Analytische Bestandteile des Biertreibers (Firma Tremonis GmbH, Dortmund) und des Karottentresters (Firma Ernteband Fruchtsaft GmbH, Winnenden)

	Biertreber	Karottentrester
g/kg uS <sup>1</sup>		
Trockensubstanz	924	944
Rohasche	53,0	48,1
Rohfett	90,4	21,9
Rohprotein	258	99,0
Rohfaser	133	214
g/100 g uS		
TDF (gesamt)	49,5	62,3
unlöslich	44,7	42,8
löslich	3,60	19,6
NDF	39,1	60,9
ADF	22,5	32,9
g/kg uS		
Kalzium	6,88	7,25
Phosphor	6,21	1,56
Natrium	0,47	3,16
Kalium	1,75	8,44
Magnesium	3,00	1,32
mg/kg uS		
Eisen	2420	134
Mangan	61,9	13,5
Kupfer	13,4	6,01
Zink	96,3	25,8

<sup>1</sup> uS = ursprüngliche Substanz, TS = Trockensubstanz

## Ergebnisse

### 4.2. Gesundheitszustand und Körpermasse der Hunde

Alle zehn Versuchshunde zeigten während der Versuchsdauer keinerlei gesundheitliche Auffälligkeiten bzw. Krankheitsanzeichen. Keiner der Hunde musste vorzeitig aus dem Versuch genommen oder mit Medikamenten behandelt werden.

### 4.3. Trockenmasse, pH-Wert des Kotes und Kotkonsistenz

Der pH-Wert im Kot zeigte nach Fütterung der fünf verschiedenen Versuchsdäten keine signifikanten Unterschiede, allerdings war ein Trend erkennbar ( $p \leq 0,070$ ). Jedoch konnte in der Trockenmasse des Kotes eine signifikante Veränderung beobachtet werden ( $p \leq 0,001$ ). Die Faserkomponente hatte hierbei den statistisch signifikanten Einfluss ( $p \leq 0,001$ ). Diäten, welche ausschließlich Biertreber als Faserquelle enthielten, erzeugten eine höhere fäkale Trockenmasse (Tab.12).

Tabelle 12: pH-Werte und Trockenmasse [g/kg ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf Versuchsdäten; n=10

Faserquelle	Protein	Diät	pH	Trockenmasse
7,5 % Biertreber	20%	A	7,04 ± 0,14	318 ± 32,8 <sup>b</sup>
	40%	B	7,03 ± 0,28	330 ± 13,6 <sup>b</sup>
7,5 % Karottentrester	20%	C	7,02 ± 0,56	253 ± 37,6 <sup>a</sup>
	40%	D	6,64 ± 0,40	258 ± 24,4 <sup>a</sup>
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	6,92 ± 0,21	307 ± 18,5 <sup>b</sup>
<i>p</i> -Werte				
1-faktorielle Varianzanalyse <sup>1</sup>			0,070	< 0,001
<i>p</i> -Werte		Protein	- <sup>2</sup>	0,360
2-faktorielle Varianzanalyse		Faser	-	<0,001
		Protein * Faser	-	0,657

<sup>1</sup> Signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Fütterungsgruppen sind fett gedruckt

<sup>2</sup> Aufgrund des Ergebnisses des Levene-Tests wurde der Parameter pH Kot nicht in die zweifaktorielle Varianzanalyse mit einbezogen

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Spalte bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach ANOVA Tukey-Test



## Ergebnisse

Bei der Analyse der Kotkonsistenz konnte keine signifikante Änderung im Kot der Hunde nach Fütterung der verschiedenen Versuchsdiäten festgestellt werden ( $p \leq 0,622$ ). Alle Hunde hatten einen geformten, trockenen und nicht harten Kot (Score 2).

Tabelle 13: Durchschnittliche Kotkonsistenz der Fäzes der Hunde nach Versuchsfütterung; n=10

Faserquelle	Protein	Diät	Score <sup>1</sup>
7,5 % Biertreber	20%	A	2,18 ± 0,31
	40%	B	2,30 ± 0,48
7,5 % Karottentrester	20%	C	2,05 ± 0,37
	40%	D	2,30 ± 0,40
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	2,22 ± 0,43
<i>p</i> -Werte			
1-faktorielle Varianzanalyse			0,622

<sup>1</sup> Score 1-5; geformte, harte Fäzes – flüssige Fäzes (Diarrhoe)

#### 4.4. Scheinbare Gesamtverdaulichkeit der Versuchsdiäten

Bei der scheinbaren Verdaulichkeit der Rohnährstoffe konnte bei Rohfett ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (Tab. 14). Ebenfalls gab es bei den Mengenelementen Phosphor, Natrium und Magnesium innerhalb der Diäten signifikante Unterschiede (Tab. 15). Bei der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit der Spurenelemente konnte bei Kupfer ein signifikanter Unterschied ermittelt werden (Tab. 16).

Die scheinbare Gesamtverdaulichkeit von Rohfett war signifikant niedriger bei Hunden, welche Diät A gefressen hatten. Bei der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit von Phosphor zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied für Diät A und B, also beides Diäten, die Biertreber enthielten ( $p \leq 0,001$ ). Bei den Mengenelementen Natrium und Kalium sowie beim Spurenelement Kupfer zeigte sich Diät E als signifikant unterschiedlich zu den anderen Versuchsdiäten. Die scheinbare Gesamtverdaulichkeit war hier am höchsten. Bei den Mengenelementen hatte Magnesium die für Diät C die höchste und für Diät B die niedrigste scheinbare Gesamtverdaulichkeit. Hier hatten sowohl der Protein- als auch der Fasergehalt den statistisch signifikanten Einfluss.

## Ergebnisse

Tabelle 14: Scheinbare Gesamtverdaulichkeit [%] der Rohnährstoffe im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf verschiedenen Versuchsdiäten; n=10

Faserquelle	Protein	Diät	Ra <sup>1</sup>	Rfett	Rfa	Rp	oS
7,5 % Biertreber	20%	A	32,7 ± 3,41	92,4 ± 3,24 <sup>a</sup>	13,3 ± 5,72	75,7 ± 2,13	82,7 ± 1,16
	40%	B	30,8 ± 4,90	94,7 ± 1,86 <sup>a,b</sup>	16,0 ± 3,77	84,9 ± 1,02	82,5 ± 0,74
7,5 % Karottentrester	20%	C	34,7 ± 6,48	96,3 ± 0,74 <sup>b</sup>	13,9 ± 11,4	77,8 ± 2,09	85,7 ± 1,42
	40%	D	34,6 ± 10,5	96,4 ± 1,69 <sup>b</sup>	16,9 ± 6,47	83,6 ± 1,15	84,3 ± 1,14
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	37,1 ± 4,90	95,5 ± 3,36 <sup>b</sup>	8,96 ± 9,15	81,8 ± 4,38	90,3 ± 2,10
	Protein		0,646	0,078	0,228	- <sup>3</sup>	-
<i>p</i> -Werte	Faser		0,191	<b>&lt;0,001</b>	0,751	-	-
2-faktorielle Varianzanalyse <sup>2</sup>	Protein * Faser		0,667	0,100	0,976	-	-

<sup>1</sup>Ra = Rohasche, Rfett = Rohfett, Rfa = Rohfaser, Rp = Rohprotein, oS = organische Substanz

<sup>2</sup>Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind fett gedruckt

<sup>3</sup>Aufgrund des Ergebnisses des Levene-Tests wurden die Parameter Rohprotein und organische Substanz in die zweifaktorielle Varianzanalyse nicht mit einbezogen

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Reihe bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach ANOVA Tukey-Test

## Ergebnisse

Tabelle 15: Scheinbare Gesamtverdaulichkeit [%] der Mengenelemente im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf verschiedenen Versuchsdäten; n=10

Faserquelle	Protein	Diät	Ca <sup>1</sup>	P	Na	K	Mg
7,5 % Biertreber	20%	A	6,38 ± 3,35	28,5 ± 4,83 <sup>a</sup>	80,4 ± 4,74 <sup>a,b</sup>	89,2 ± 3,18 <sup>a</sup>	20,7 ± 5,82 <sup>b</sup>
	40%	B	5,12 ± 3,01	28,7 ± 3,65 <sup>a</sup>	86,1 ± 4,08 <sup>b,c</sup>	91,1 ± 2,04 <sup>a,b</sup>	10,4 ± 5,32 <sup>a</sup>
7,5 % Karottentrester	20%	C	5,21 ± 3,91	34,6 ± 7,79 <sup>a,b</sup>	75,8 ± 7,70 <sup>a</sup>	90,1 ± 3,58 <sup>a,b</sup>	32,6 ± 7,31 <sup>c</sup>
	40%	D	3,61 ± 5,23	36,6 ± 3,30 <sup>b</sup>	86,2 ± 4,61 <sup>b,c</sup>	91,2 ± 3,62 <sup>a,b</sup>	25,6 ± 7,83 <sup>b,c</sup>
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	5,89 ± 5,67	33,1 ± 6,17 <sup>a,b</sup>	90,8 ± 5,70 <sup>c</sup>	93,7 ± 1,52 <sup>b</sup>	19,4 ± 8,84 <sup>a,b</sup>
	Protein		0,262	0,519	<b>&lt;0,001</b>	0,142	<b>&lt;0,001</b>
<i>p</i> -Werte	Faser		0,292	<b>&lt;0,001</b>	0,193	0,622	<b>&lt;0,001</b>
2-faktorielle Varianzanalyse <sup>2</sup>	Protein * Faser		0,896	0,588	0,185	0,648	0,442

<sup>1</sup> Ca = Calcium, P = Phosphor, Na = Natrium, K = Kalium, Mg = Magnesium

<sup>2</sup> Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind fett gedruckt

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Spalte bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach ANOVA Tukey-Test

## Ergebnisse

Tabelle 16: Scheinbare Gesamtverdaulichkeit [%] der Spurenelemente im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf verschiedenen Versuchsdiäten; n=10

Faserquelle	Protein	Diät	Fe <sup>1</sup>	Mn	Cu	Zn
7,5 % Biertreber	20%	A	12,9 ± 8,02	7,19 ± 2,99	26,9 ± 14,8 <sup>a,b</sup>	4,73 ± 8,29 <sup>a,b</sup>
	40%	B	12,4 ± 9,75	17,6 ± 11,4	19,9 ± 9,39 <sup>a</sup>	1,07 ± 5,52 <sup>a</sup>
7,5 % Karottentrestler	20%	C	-3,04 ± 22,7	9,40 ± 12,3	23,8 ± 16,4 <sup>a</sup>	2,65 ± 9,79 <sup>a,b</sup>
	40%	D	11,6 ± 23,0	9,50 ± 6,51	40,6 ± 6,28 <sup>b,c</sup>	-2,50 ± 6,88 <sup>a</sup>
2 % Biertreber/ Karottentrestler	20%	E	11,1 ± 15,3	10,6 ± 6,32	43,0 ± 6,54 <sup>c</sup>	10,9 ± 7,04 <sup>b</sup>
	Protein		0,205	0,078	0,223	0,082
<i>p</i> -Werte	Faser		0,135	0,316	<b>0,031</b>	0,258
2-faktorielle Varianzanalyse <sup>2</sup>	Protein * Faser		0,175	0,083	<b>0,004</b>	0,764

<sup>1</sup> Fe = Eisen, Mn = Mangan, Cu = Kupfer, Zn = Zink

<sup>2</sup> Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind fett gedruckt

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Reihe bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach ANOVA Tukey-Test

### 4.5. Intestinale mikrobielle Metabolite

Bei den mikrobiellen Metaboliten zeigten sich statistisch abgesicherte Unterschiede bei D-Laktat, L-Laktat, kurzkettigen Fettsäuren, biogenen Aminen sowie Ammonium (Tab. 17,18,19). Für D- und L-Laktat zeigte sich die numerisch größte fäkale Konzentration für Diät A, wobei hier die Proteinmenge die statistisch erkennbare Differenz verursachte. Die Gesamtmenge an kurzkettigen Fettsäuren war deutlich höher in den Diäten, welche Karottentrester enthielten, dies gilt auch für Essigsäure ( $p \leq 0,004$ ). Die Diäten hatten einen statistisch signifikanten Einfluss auf i-Buttersäure ( $p \leq 0,004$ ) und i-Valeriansäure ( $p \leq 0,009$ ) in den Fäzes, in dem ein höherer Proteingehalt zu erhöhten fäkalen Konzentrationen dieser Metabolite führte (Tab. 19). Eine Erhöhung der Konzentration der Gesamtmenge an biogenen Aminen lag bei den Diäten vor, in denen 40 % Protein enthalten waren (Diäten B und D) ( $p \leq 0,001$ ). Die Versuchsdiäten hatten signifikante Einflüsse auf die Konzentration von Putrescin ( $p \leq 0,013$ ), Histamin ( $p \leq 0,007$ ), Cadaverin ( $p < 0,001$ ), Spermidin ( $p \leq 0,001$ ) und Spermin ( $p < 0,001$ ) (Tab. 18). Bei der zweifaktoriellen Analyse zeigte sich, dass der Faktor „Protein“ bei Putrescin ( $p \leq 0,002$ ), Spermidin ( $p \leq 0,006$ ) und Spermin ( $p \leq 0,003$ ) hochsignifikante Einflüsse hatte. Weitere Unterschiede ergaben sich für den Faktor „Faser“ für Spermidin ( $p \leq 0,020$ ) und den Faktor „Protein  $\times$  Faser“ für Spermidin ( $p \leq 0,035$ ) und Spermin ( $p \leq 0,045$ ).

Die Konzentration an Ammonium war niedriger war bei den Diäten, die 20 % Protein enthielten ( $p \leq 0,001$ ). Es konnten keine signifikanten Einflüsse der Versuchsdiäten auf die fäkalen Konzentrationen von Phenol, Indol, p-Cresol, 4-Ethylphenol und 7-Methylphenol festgestellt werden (Tab. 18). Für den Parameter Phenol zeigte sich ein Trend ( $p \leq 0,080$ ) zur Beeinflussung der Konzentration durch den Proteingehalt. Hierbei hatten Diäten mit höherem Proteingehalt eine zunehmende Konzentration von Phenol im Kot der Hunde zur Folge.

## Ergebnisse

Tabelle 17: Konzentration der mikrobiellen Metabolite D-Laktat, L-Laktat, verzweigtkettige Fettsäuren (BCFA), kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) (gesamt), biogene Amine (gesamt) und Ammonium [ $\mu\text{mol/g}$  ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach deren Fütterung mit den fünf Versuchsdiäten; n=10

Faserquelle	Protein	Diät	D-Laktat	L-Laktat	BCFA <sup>1</sup>	SCFA (gesamt)	Biogene Amine (gesamt)	Ammonium
7,5 % Biertreber	20%	A	1,26 ± 1,19	1,60 ± 1,77	4,32 ± 0,60	73,9 ± 21,0	1,64 ± 0,40 <sup>a</sup>	21,8 ± 4,80 <sup>a</sup>
	40%	B	0,23 ± 0,20	0,48 ± 0,44	4,71 ± 2,59	80,4 ± 25,5	2,41 ± 0,56 <sup>b</sup>	39,5 ± 13,4 <sup>b</sup>
7,5 % Karottentrester	20%	C	0,98 ± 0,94	1,16 ± 0,91	4,11 ± 1,19	93,9 ± 38,7	1,63 ± 0,69 <sup>a</sup>	19,8 ± 5,47 <sup>a</sup>
	40%	D	0,59 ± 1,11	0,73 ± 1,10	3,96 ± 0,95	111 ± 30,3	2,52 ± 0,81 <sup>b</sup>	30,8 ± 14,1 <sup>a,b</sup>
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	0,92 ± 1,07	1,29 ± 1,50	4,67 ± 1,61	91,1 ± 30,8	1,94 ± 0,48 <sup>a,b</sup>	27,7 ± 7,72 <sup>a,b</sup>
<i>p</i> -Werte								
1-faktorielle			0,179	0,282	0,761	<b>0,004</b>	<b>0,003</b>	<b>&lt;0,001</b>
Varianzanalyse								
<i>p</i> -Werte			<b>0,023</b>	<b>0,042</b>	-,3	0,215	<b>&lt;0,001</b>	-
2-faktorielle			0,891	0,793	-	<b>0,010</b>	0,800	-
Varianzanalyse <sup>2</sup>	Protein * Faser		0,298	0,358	-	0,576	0,764	-

<sup>1</sup> BCFA= Branched chain fatty acids (verzweigtkettige Fettsäuren), SCFA= Short chain fatty acids (kurzkettige Fettsäuren)

<sup>2</sup> Signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Fütterungsgruppen sind fett gedruckt

<sup>3</sup> Aufgrund des Ergebnisses des Levene-Tests wurden für die Parameter BCFA und  $\text{NH}_4^+$  keine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Reihe bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach ANOVA Tukey-Test

## Ergebnisse

Tabelle 18: Konzentration von Putrescin, Histamin, Cadaverin, Spermidin und Spermin [ $\mu\text{mol/g}$  ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach deren Fütterung mit den fünf Versuchsdiäten;  $n=10$

Faserquelle	Protein	Diät	Putrescin	Histamin	Cadaverin	Spermidin	Spermin
7,5 % Biertreber	20%	A	0,68 ± 0,44	0,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,55 ± 0,17 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,13 <sup>b,c</sup>
	40%	B	1,10 ± 0,49	0,02 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,22 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,23 <sup>b</sup>	0,16 ± 0,09 <sup>a</sup>
7,5 % Karottentrestler	20%	C	0,64 ± 0,44	0,02 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,16 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,15 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,14 <sup>a,b</sup>
	40%	D	1,21 ± 0,51	0,04 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,44 ± 0,27 <sup>b</sup>	0,58 ± 0,28 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,09 <sup>a,b</sup>
2 % Biertreber/ Karottentrestler	20%	E	0,68 ± 0,38	0,03 ± 0,02 <sup>a,b</sup>	0,16 ± 0,16 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,16 <sup>a</sup>	0,49 ± 0,17 <sup>c</sup>
<i>p</i> -Werte							
1-faktorielle Varianzanalyse			<b>0,013</b>	<b>0,007</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<i>p</i> -Werte	Protein		<b>0,002</b>	- <sup>1</sup>	-	<b>0,006</b>	<b>0,003</b>
	Faser		0,827	-	-	<b>0,020</b>	0,882
2-faktorielle Varianzanalyse <sup>2</sup>							
	Protein *					<b>0,035</b>	<b>0,045</b>
	Faser		0,628	-	-		

<sup>1</sup> Aufgrund des Ergebnisses des Levene-Tests wurden für den Parameter Histamin keine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt  
Tyramin konnte nicht detektiert werden

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Reihe bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach ANOVA Tukey-Test  
Signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Fütterungsgruppen sind fett gedruckt

## Ergebnisse

Tabelle 19: Konzentration von Essigsäure, Propionsäure, i-Buttersäure, n-Buttersäure, i-Valeriansäure und n-Valeriansäure [ $\mu\text{mol/g}$  ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach deren Fütterung mit den fünf Versuchsdiäten; n=10

Faserquelle	Protein	Diät	Essigsäure	Propionsäure	i-Buttersäure	n-Buttersäure	i-Valeriansäure	n-Valeriansäure
7,5 % Biertreber	20%	A	37,77 $\pm$ 11,3 <sup>a</sup>	18,7 $\pm$ 7,52	1,72 $\pm$ 0,38 <sup>a,b</sup>	11,9 $\pm$ 5,60	2,18 $\pm$ 0,46 <sup>a,b</sup>	1,63 $\pm$ 1,33
	40%	B	43,58 $\pm$ 15,3 <sup>a</sup>	20,5 $\pm$ 6,13	2,47 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>	10,2 $\pm$ 4,13	2,91 $\pm$ 1,12 <sup>b</sup>	0,84 $\pm$ 0,79
7,5 % Karottentrester	20%	C	55,05 $\pm$ 23,1 <sup>a,b</sup>	21,8 $\pm$ 10,7	1,50 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	12,3 $\pm$ 6,72	1,70 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup>	1,55 $\pm$ 1,43
	40%	D	66,44 $\pm$ 18,6 <sup>b</sup>	23,9 $\pm$ 7,15	2,08 $\pm$ 0,50 <sup>a,b</sup>	15,0 $\pm$ 11,2	2,63 $\pm$ 0,87 <sup>a,b</sup>	0,99 $\pm$ 2,19
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	44,59 $\pm$ 15,9 <sup>a,b</sup>	18,6 $\pm$ 6,73	1,99 $\pm$ 0,64 <sup>a,b</sup>	20,1 $\pm$ 12,7	2,58 $\pm$ 0,76 <sup>a,b</sup>	3,34 $\pm$ 3,24
<i>p</i> -Werte								
1-faktorielle			<b>0,004</b>	0,537	<b>0,004</b>	0,538	<b>0,009</b>	0,569
Varianzanalyse								
<i>p</i> -Werte								
2-faktorielle								
Protein			0,131	0,460	<b>0,001</b>	0,834	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>
Faser			<b>0,001</b>	0,207	<i>0,107</i>	0,269	0,139	0,139
Protein*								
Faser			0,619	0,956	0,650	0,348	0,684	0,684

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Reihe bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach ANOVA Tukey-Test  
Signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Fütterungsgruppen sind fett gedruckt



## Ergebnisse

Tabelle 20: Konzentration von Phenol, Indol, p-Cresol, 4-Ethylphenol und 7-Methylphenol [in µg/mg ursprüngliche Substanz] im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf Versuchsdiäten, n=10

Faserquelle	Protein	Diät	Phenol	Indol	p-Cresol <sup>1</sup>	4-Ethylphenol	7-Methylindol <sup>1</sup>
7,5 % Biertreber	20%	A	0,85 ± 1,37	73,8 ± 20,8	0,38 ± 0,86	4,64 ± 2,51	25,7 ± 38,2
	40%	B	3,43 ± 2,98	96,9 ± 63,5	1,34 ± 2,87	4,36 ± 3,02	10,9 ± 10,7
7,5 % Karottentrester	20%	C	0,97 ± 2,14	84,0 ± 39,4	0,27 ± 0,86	3,46 ± 1,79	8,07 ± 12,2
	40%	D	1,37 ± 3,47	67,8 ± 12,1	n.d.	4,67 ± 1,32	12,6 ± 5,90
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	3,26 ± 6,00	82,2 ± 19,1	n.d.	4,98 ± 1,90	29,7 ± 32,7
<i>p</i> -Werte							
1-faktorielle			0,297	0,449	0,199	0,593	0,180
Varianzanalyse							
<i>p</i> -Werte							
2-faktorielle							
Protein			0,080	0,782	-	0,523	-
Faser			0,250	0,448	-	0,543	-
Protein * Faser			0,193	0,122	-	0,303	-

n.d. = nicht detektiert

<sup>1</sup> Aufgrund des Ergebnisses des Levene-Tests wurden für die Parameter p-Cresol und 7-Methylindol keine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt

### 4.6. Zusammensetzung der fäkalen Mikrobiota

#### 4.6.1. Relatives Vorkommen bakterieller Phyla im Hundekot nach Fütterung der Versuchsdäten

Das relative Vorkommen bakterieller Phyla ist in Tabelle 21 aufgeführt. Das Phylum *Firmicutes* stellte den größten Anteil dar (bis zu 48 %). Das relative Vorkommen lag höher bei Diäten mit 40 % Rohprotein in der Diät ( $p \leq 0,004$ ). Die weiteren Phyla in absteigender Reihenfolge waren: *Bacteroidetes* (bis zu 28 %), *Fusobacteria* (bis zu 24,4 %), *Actinobacteria* (bis zu 4,33 %), *Proteobacteria* (bis zu 0,42 %), *Euryarchaeota* (bis zu 0,27 %) und *Tenericutes* (bis zu 0,11 %).

## Ergebnisse

Tabelle 21: Relatives Vorkommen [in %] bakterieller Phyla im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten; n=10

Bakterienphyla	Protein		Protein		Protein	<i>p</i> -Werte <sup>1</sup>
	20%	40%	20%	40%	20%	
	Faserquelle		Faserquelle		Faserquelle	
	7,5 % Biertreber	7,5 % Biertreber	7,5 % Karotten- trester	7,5 % Karotten- trester	2 % Biertreber / Karottentrester	
<i>Firmicutes</i>	38,5 ± 11,1	43,3 ± 13,6	38,7 ± 17,6	48,3 ± 20,3	39,7 ± 13,5	<b>0,004</b>
<i>Bacteroidetes</i>	26,7 ± 7,05	25,2 ± 9,58	28,2 ± 14,5	25,6 ± 13,3	21,5 ± 13,1	0,716
<i>Fusobacteria</i>	20,5 ± 11,7	21,5 ± 6,43	24,4 ± 10,9	21,0 ± 14,1	22,0 ± 6,79	0,684
<i>Actinobacteria</i>	3,88 ± 3,86 <sup>b</sup>	2,17 ± 1,21 <sup>b</sup>	2,93 ± 3,02 <sup>b</sup>	0,75 ± 0,39 <sup>a</sup>	4,33 ± 3,17 <sup>b</sup>	0,688
<i>Proteobacteria</i>	0,42 ± 0,50	0,36 ± 0,17	0,22 ± 0,30	0,39 ± 0,45	0,33 ± 0,29	0,772
<i>Euryachaeota</i>	0,03 ± 0,05	0,03 ± 0,05	0,27 ± 0,41	0,05 ± 0,10	0,06 ± 0,06	0,450
<i>Tenericutes</i>	0,11 ± 0,14	0,01 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	0,238

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Reihe bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach Mann-Whitney-U-Test

<sup>1</sup> Signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Fütterungsgruppen sind fett gedruckt

### 4.6.2. Relatives Vorkommen bakterieller Ordnungen im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten

Das relative Vorkommen bakterieller Ordnungen im Kot der zehn Versuchshunde nach Verfütterung der Versuchsdiäten werden in Tabelle 22 gezeigt. Dabei waren die Ordnungen *Clostridiales* (bis zu 44,4 %), *Bacteroidales* (bis zu 28,2 %), *Fusobacteriales* (bis zu 24,4 %), *Selenomonadales* (bis zu 5,48 %), *Bifidobacteriales* (bis zu 3,43 %), *Erysipelotrichales* (bis zu 2,99 %), *Lactobacillales* (bis zu 1,93 %), *Coriobacteriales* (bis zu 1,68 %) und *Aeromonadales* (bis zu 0,35 %). Statistisch signifikante Unterschiede zeigten sich bei *Bifidobacteriales*, hier wurden im Kot der Hunde nach Fütterung mit Diät E das höchste relative Vorkommen festgestellt ( $p \leq 0,005$ ). Das gleiche gilt für die bakterielle Ordnung der *Erysipelotrichales*, hier lag ebenfalls bei Diät E das höchste relative Vorkommen vor ( $p \leq 0,028$ ). Die Ordnung *Coriobacteriales* war numerisch erhöht bei beiden Diäten mit Biertreber als Faserquelle.

## Ergebnisse

Tabelle 22: Relatives Vorkommen [in %] bakterieller Ordnungen im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten; n=10

Bakterienordnung	Protein		Protein		Protein	p-Werte <sup>1</sup>
	20%	40%	20%	40%	20%	
	Faserquelle		Faserquelle		Faserquelle	
	7,5 % Biertreber	7,5 % Biertreber	7,5 % Karotten- trester	7,5 % Karotten- trester	2% Biertreber/ Karottentrester	
<i>Clostridiales</i>	32,8 ±10,3	35,8 ±12,6	33,5 ±16,4	44,4 ±20,1	31,6 ±15,3	0,527
<i>Bacteroidales</i>	26,8 ±7,03	25,4 ±9,58	28,2 ±14,5	25,6 ±13,3	21,5 ±13,1	0,089
<i>Fusobacteriales</i>	20,5 ±11,7	21,5 ±6,43	24,4 ±10,9	21,0 ±14,1	22,0 ±6,79	0,100
<i>Selenomonadales</i>	5,27 ±2,44	5,48 ±2,22	3,30 ±0,92	3,47 ±2,33	3,84 ±2,27	0,732
<i>Bifidobacteriales</i>	2,28 ±2,30 <sup>b</sup>	0,48 ±0,43 <sup>a,b</sup>	2,33 ±2,60 <sup>a,b</sup>	0,26 ±0,24 <sup>a</sup>	3,43 ±3,29 <sup>b</sup>	<b>0,005</b>
<i>Erysipelotrichales</i>	0,11 ±0,33 <sup>a,b</sup>	0,13 ±0,13 <sup>a</sup>	0,30 ±0,59 <sup>a,b</sup>	0,04 ±0,09 <sup>a,b</sup>	2,99 ±8,84 <sup>b</sup>	<b>0,028</b>
<i>Lactobacillales</i>	0,38 ±0,55	1,93 ±4,99	1,53 ±3,04	0,42 ±0,73	1,35 ±2,23	0,358
<i>Coriobacteriales</i>	1,58 ±2,51 <sup>a,b</sup>	1,68 ±1,16 <sup>b</sup>	0,59 ±0,65 <sup>a,b</sup>	0,49 ±0,34 <sup>a</sup>	0,87 ±0,51 <sup>a,b</sup>	0,882
<i>Aeromonadales</i>	0,41 ±0,50	0,35 ±0,18	0,21 ±0,27	0,33 ±0,34	0,31 ±0,29	<b>0,002</b>
<i>Enterobacteriales</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,01 ±0,01	0,575
<i>Methanobacteriales</i>	0,03±0,05	0,03 ±0,05	0,27 ±0,41	0,05 ±0,10	0,06 ±0,06	0,772
<i>Campylobacteriales</i>	0,01 ±0,01	0,01 ±0,01	0,04 ±0,09	0,04 ±0,12	0,01 ±0,02	0,523
<i>Gordonibacter</i>	0,15 ±0,20	0,18 ±0,23	0,06 ±0,04	0,07 ±0,11	0,12 ±0,09	0,223
<i>Actinomycetales</i>	0,01 ±0,02	0,01 ±0,01	0,01 ±0,01	0,01 ±0,01	0,03 ±0,02	0,684
<i>Mycoplasmatales</i>	0,11 ±0,14	0,01 ±0,00	n.d.	n.d.	n.d.	0,238
<i>Bacillales</i>	n.d.	n.d.	0,01 ±0,01	n.d.	n.d.	0,124
<i>unclassified</i>	n.d.	0,05 ±0,06	n.d.	0,06 ±0,09	n.d.	0,426
<i>Betaproteobacteria</i>						

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Reihe bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach Mann-Whitney-U-Test

<sup>1</sup> Signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Fütterungsgruppen sind fett gedruckt

### 4.6.3. Relatives Vorkommen bakterieller Genera im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten

In Tabelle 23 ist das relative Vorkommen bakterieller Genera im Hundekot nach Fütterung der Versuchsdiäten aufgeführt. Dabei sind alle Genera, die bei der Illumina®- Sequenzierung < 1 % vorkamen, hier nicht gezeigt. Die häufigsten Genera (absteigende Reihenfolge) waren: *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Faecalibacterium*, *Prevotella*, *Blautia*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium*, *Phascolarctobacterium* und *Acidaminococcus*. Bei der Gattung *Faecalibacterium* gab es eine statistisch signifikante Erhöhung beim relativen Vorkommen im Kot von Hunden, die zuvor Diät E gefressen hatten ( $p \leq 0,001$ ). Diese Beobachtung gilt ebenso für *Bifidobacterium* ( $p \leq 0,005$ ). Diäten mit Biertreber führten zu einer Erhöhung von *Phascolarctobacterium* ( $p \leq 0,007$ ), *Acidaminococcus* ( $p \leq 0,019$ ), *Parabacteroides* ( $p = 0,001$ ) und *Paraprevotella* ( $p \leq 0,005$ ). Eine erhöhte fäkale Konzentration von *Lachnospira* ( $p \leq 0,001$ ) wurde nach Fütterung von Diäten mit Karottentrester als Faserquelle beobachtet.

## Ergebnisse

Tabelle 23: Relatives Vorkommen [in %] bakterieller Genera im Kot von Hunden nach Fütterung der Versuchsdieten; n=10

Bakteriengenera <sup>1</sup>	Protein		Protein		Protein	p-Werte <sup>2</sup>
	20%	40%	20%	40%	20%	
	Faserquelle		Faserquelle		Faserquelle	
	7,5 % Biertreber	7,5 % Biertreber	7,5 % Karotten- trester	7,5 % Karotten- trester	2% Biertreber/ Karottentrester	
<i>Fusobacterium</i>	20,5 ± 11,7	21,5 ± 6,43	24,4 ± 10,9	21,0 ± 14,1	22,0 ± 6,79	0,772
<i>Bacteroides</i>	19,1 ± 4,98	19,7 ± 7,97	24,2 ± 12,9	20,1 ± 9,85	17,6 ± 10,9	0,738
<i>Clostridium</i>	16,7 ± 7,23	19,3 ± 9,25	14,1 ± 6,96	18,2 ± 17,5	18,5 ± 9,75	0,403
<i>Faecalibacterium</i>	0,62 ± 0,74 <sup>a</sup>	1,06 ± 1,01 <sup>a</sup>	3,65 ± 8,43 <sup>a</sup>	9,09 ± 9,51 <sup>b</sup>	0,65 ± 0,51 <sup>a,b</sup>	<b>0,001</b>
<i>Prevotella</i>	5,59 ± 3,01	4,86 ± 2,90	3,88 ± 3,62	5,11 ± 5,13	3,17 ± 2,62	0,492
<i>Blautia</i>	3,03 ± 2,16	4,58 ± 1,97	3,33 ± 3,06	3,50 ± 1,74	2,40 ± 0,96	0,158
<i>Ruminococcus</i>	3,97 ± 2,54	3,23 ± 1,35	3,26 ± 1,94	2,64 ± 1,34	3,75 ± 3,50	0,633
<i>Bifidobacterium</i>	2,28 ± 2,30 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,43 <sup>a,b</sup>	2,33 ± 2,60 <sup>a,b</sup>	0,26 ± 0,24 <sup>a</sup>	3,43 ± 3,29 <sup>b</sup>	<b>0,005</b>
<i>Phascolarctobacterium</i>	2,11 ± 1,03 <sup>b</sup>	1,96 ± 0,64 <sup>b</sup>	1,01 ± 0,31 <sup>a</sup>	1,29 ± 0,55 <sup>a</sup>	1,37 ± 0,65 <sup>a</sup>	<b>0,007</b>
<i>Acidaminococcus</i>	2,04 ± 1,05 <sup>b</sup>	1,92 ± 0,63 <sup>b</sup>	0,98 ± 0,30 <sup>a</sup>	1,37 ± 0,63 <sup>a,b</sup>	1,46 ± 0,78 <sup>a,b</sup>	<b>0,019</b>
<i>Lactobacillus</i>	0,36 ± 0,54	1,92 ± 4,99	1,67 ± 3,19	0,45 ± 0,75	1,20 ± 2,24	0,662
<i>Eubacterium</i>	1,67 ± 1,48	1,74 ± 0,90	2,20 ± 1,94	1,81 ± 1,95	1,04 ± 0,78	0,253
<i>Alistipes</i>	2,04 ± 1,05	1,92 ± 0,63	0,98 ± 0,30	1,37 ± 0,63	1,46 ± 0,78	0,196
<i>Robinsoniella</i>	1,46 ± 1,42	1,30 ± 0,90	1,62 ± 1,24	1,67 ± 1,82	1,12 ± 1,03	0,899
<i>Butyrivibrio</i>	0,30 ± 0,26	0,27 ± 0,19	1,31 ± 2,06	2,26 ± 2,34	0,73 ± 0,62	0,254
<i>Cellulosilyticum</i>	1,82 ± 2,37	0,31 ± 0,32	0,54 ± 0,61	0,40 ± 0,55	0,52 ± 0,78	0,477
<i>Atopobium</i>	1,08 ± 1,80	0,52 ± 0,43	0,37 ± 0,52	0,08 ± 0,07	0,41 ± 0,45	0,146
<i>Hespellia</i>	1,30 ± 1,31	1,30 ± 1,03	0,53 ± 0,87	1,20 ± 1,87	0,99 ± 0,89	0,504
<i>Selenomonas</i>	0,67 ± 0,72	1,37 ± 1,75	0,72 ± 0,86	0,72 ± 0,81	0,80 ± 0,45	0,509

## Ergebnisse

<i>Parabacteroides</i>	1,02 ± 1,76 <sup>b</sup>	0,42 ± 0,22 <sup>b</sup>	0,09 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,12 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,14 <sup>b</sup>	<b>0,001</b>
<i>Collinsella</i>	0,42 ± 0,56	0,85 ± 1,16	0,18 ± 0,16	0,31 ± 0,32	0,24 ± 0,10	0,051
<i>Paraprevotella</i>	1,12 ± 2,80 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,13 <sup>b</sup>	0,09 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,82 <sup>a</sup>	0,99 ± 2,50 <sup>a,b</sup>	<b>0,005</b>
<i>Roseburia</i>	0,40 ± 0,55	1,50 ± 1,69	1,28 ± 1,60	0,57 ± 0,37	0,43 ± 0,36	0,265
<i>Lachnospira</i>	0,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,84 ± 0,97 <sup>b</sup>	1,82 ± 2,23 <sup>b</sup>	0,56 ± 0,51 <sup>b</sup>	<b>&lt; 0,001</b>
<i>Butyricoccus</i>	0,17 ± 0,08	0,13 ± 0,07	0,08 ± 0,04	0,13 ± 0,07	0,12 ± 0,06	0,158
<i>Megamonas</i>	0,50 ± 0,54	0,48 ± 0,29	0,56 ± 0,45	0,47 ± 0,61	0,76 ± 0,66	0,620
<i>unclassified Erysipelotrichaceae</i>	0,51 ± 0,68	0,09 ± 0,12	0,89 ± 0,78	0,06 ± 0,11	5,33 ± 11,9	0,283
<i>Gordonibacter</i>	0,15 ± 0,20	0,18 ± 0,23	0,06 ± 0,04	0,07 ± 0,11	0,12 ± 0,09	0,223
<i>Methanosphaera</i>	0,07 ± 0,05	0,05 ± 0,06	0,48 ± 0,45	0,12 ± 0,14	0,09 ± 0,05	0,111
<i>Campylobacter</i>	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,09 ± 0,15	0,13 ± 0,21	0,03 ± 0,04	0,970
<i>Pediococcus</i>	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	n.d. <sup>3</sup>	0,01 ± 0,00	0,23 ± 0,39	0,504
<i>Erysipelothrix</i>	n.d.	0,16 ± 0,07	n.d.	0,01 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,094
<i>Peptostreptococcus</i>	n.d.	0,22 ± 0,24	0,12 ± 0,14	0,09 ± 0,14	0,13 ± 0,08	0,397
<i>unclassified Lachnospiraceae</i>	n.d.	0,09 ± 0,12	n.d.	0,30 ± 0,42	n.d.	0,725
<i>Mycoplasma</i>	0,11 ± 0,14	0,01 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	0,238
<i>Epulopiscium</i>	n.d.	n.d.	n.d.	0,15 ± 0,21	n.d.	0,213

<sup>1</sup> Alle Genera < 0,1 % Vorkommen wurden in der vorliegenden Tabelle nicht berücksichtigt

<sup>2</sup> Signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Fütterungsgruppen sind fett gedruckt

<sup>3</sup> n.d. = nicht detektiert

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Reihe bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) nach Mann-Whitney-U-Test



## Ergebnisse

### 4.6.4. Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein × Faserquelle“ auf den Einfluss der Zusammensetzung bakterieller Phyla, Ordnungen und Genera im Kot

Im folgenden Abschnitt sind die Ergebnisse dargestellt, bei denen jeweils die bakterielle Zusammensetzung der Phyla, Ordnung sowie Genera auf den Einfluss der Zusammensetzung im Kot getestet wurde (Tab. 24-26). Bei den Phyla hatte „Protein“ einen statistisch signifikanten Einfluss auf das relative Vorkommen bei *Actinobacteria* ( $p \leq 0,021$ ), indem ein niedrigerer Proteingehalt eine verstärkte Abundanz zur Folge hatte.

Tabelle 24: Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein x Faserquelle“ auf die Zusammensetzung bakterieller Phyla im Kot der Hunde

Bakterienphyla	$p$ – Werte		
	Protein	Faserquelle	Protein × Faserquelle
<i>Firmicutes</i>	0,167	0,620	0,642
<i>Bacteroidetes</i>	0,576	0,802	0,882
<i>Fusobacteria</i>	0,735	0,633	0,545
<i>Actinobacteria</i>	<b>0,021</b>	0,152	0,775
<i>Proteobacteria</i>	0,679	0,476	0,360
<i>Euryachaeota</i>	0,089	0,056	0,112
<i>Tenericutes</i>	-	-	-

Bei den Bakterienordnungen (Tab. 25) zeigte sich mit ( $p \leq 0,001$ ) ein deutlich statistisch signifikanter Einfluss von „Protein“ auf die Zusammensetzung von *Bifidobacteriales*, die Abundanz wurde durch Diäten mit geringem Proteingehalt gefördert. Einen statistisch signifikanten Einfluss hatte die Art der Faserquelle bei *Selenomonadales* ( $p \leq 0,007$ ), *Coriobacteriales* ( $p \leq 0,030$ ) und *Methanobacteriales* ( $p \leq 0,032$ ). Biertreber führte bei *Selenomonadales* und *Coriobacteriales* zu einem vermehrten Vorkommen, während nach Fütterung von Karottentrestern (im Gegensatz zu Biertreber) die Abundanz von *Methanobacteriales* höher war. Für die Kombination „Protein × Faserquelle“ konnte kein statistisch signifikanter Einfluss vermerkt werden.

## Ergebnisse

Tabelle 25: Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein × Faserquelle“ auf die Zusammensetzung bakterieller Ordnungen im Kot der Hunde

Bakterienordnung	<i>p</i> - Werte		
	Protein	Faserquelle	Protein × Faserquelle
<i>Bacteroidales</i>	0,712	0,964	0,982
<i>Clostridiales</i>	0,178	0,359	0,448
<i>Fusobacteriales</i>	0,686	0,590	0,508
<i>Selenomonadales</i>	0,792	<b>0,007</b>	0,974
<i>Bifidobacteriales</i>	<b>0,001</b>	0,970	0,672
<i>Coriobacteriales</i>	0,980	<b>0,030</b>	0,813
<i>Lactobacillales</i>	0,879	0,906	0,162
<i>Aeromonadales</i>	0,807	0,333	0,399
<i>Erysipelotrichales</i>	0,214	0,539	0,160
<i>Methanobacteriales</i>	0,053	<b>0,032</b>	0,068
<i>Campylobacterales</i>	0,922	0,153	0,972
<i>Actinomycetales</i>	0,141	0,675	0,475

## Ergebnisse

In Tabelle 26 finden sich die Bakteriengenera mit Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein × Faserquelle“. Für den Faktor „Protein“ konnte dabei ein statistisch signifikanter Einfluss auf *Bifidobacterium* ( $p \leq 0,007$ ), *Lactobacillus* ( $p \leq 0,004$ ), *Gordonibacter* ( $p \leq 0,011$ ), *Hespellia* ( $p \leq 0,024$ ), sowie *unclassified Erysipelotrichaceae* ( $p \leq 0,006$ ) detektiert werden. Die Gattung *Bifidobacterium* wurde vermehrt im Kot der Hunde detektiert nach Fütterung der proteinarmen Diäten. Die folgenden Genera wurden durch die „Faserquelle“ beeinflusst: *Acidaminococcus* ( $p \leq 0,020$ ), *Lactobacillus* ( $p \leq 0,004$ ), *Alistipes* ( $p \leq 0,042$ ), *Gordonibacter* ( $p \leq 0,014$ ), *Butyrivibrio* ( $p \leq 0,003$ ), *Hespellia* ( $p \leq 0,019$ ). Die Abundanz der Gattung *Butyrivibrio* wurde durch das Verfüttern der Diäten mit Karottentrestern erhöht.

Im Gegensatz zu den Phyla und Ordnungen, konnte im Bereich der bakteriellen Genera die meisten Einflüsse der Kombination „Protein × Faserquelle“ entdeckt werden: *Lactobacillus* ( $p \leq 0,004$ ), *Gordonibacter* ( $p \leq 0,018$ ), *Hespellia* ( $p \leq 0,023$ ).

Berücksichtigt man den Einfluss der drei getesteten Faktoren, war die Abundanz von *Lactobacillus* am höchsten nach Fütterung der Diäten B und C. Die Gattung *Gordonibacter* wurde am meisten nach Fütterung der Diäten mit Biertreber und der Referenzdiät in der Fäzes detektiert. Nach Fütterung der Diäten mit Karottentrestern lag unabhängig des Proteingehaltes die Gattung *Hespellia* am häufigsten im Kot der Hunde vor.

## Ergebnisse

Tabelle 26: Prüfung der Faktoren „Protein“, „Faserquelle“ und „Protein × Faserquelle“ auf die Zusammensetzung bakterieller Gattungen im Kot der Hunde

Bakteriengenera <sup>1</sup>	<i>p</i> - Werte		
	Protein	Faserquelle	Protein × Faserquelle
<i>Fusobacterium</i>	0,352	0,924	0,391
<i>Bacteroides</i>	0,826	0,499	0,867
<i>Clostridium</i>	0,233	0,943	0,478
<i>Prevotella</i>	0,961	0,574	0,848
<i>Blautia</i>	0,344	0,860	0,358
<i>Ruminococcus</i>	0,069	0,218	0,289
<i>Bifidobacterium</i>	<b>0,007</b>	0,652	0,985
<i>Phascolarctobacterium</i>	0,632	0,168	0,612
<i>Acidaminococcus</i>	0,966	<b>0,020</b>	0,713
<i>Lactobacillus</i>	<b>0,004</b>	<b>0,004</b>	<b>0,004</b>
<i>Eubacterium</i>	0,779	0,473	0,546
<i>Faecalibacterium</i>	0,665	0,301	0,411
<i>Alistipes</i>	0,769	<b>0,042</b>	0,679
<i>Robinsoniella</i>	0,995	0,386	0,636
<i>Butyrivibrio</i>	0,468	<b>0,003</b>	0,444
<i>Cellulosilyticum</i>	0,333	0,448	0,499
<i>Gordonibacter</i>	<b>0,011</b>	<b>0,014</b>	<b>0,018</b>
<i>Hespellia</i>	<b>0,024</b>	<b>0,019</b>	<b>0,023</b>

Ergebnisse

<i>Selenomonas</i>	0,711	0,706	0,558
<i>Parabacteroides</i>	0,147	0,118	0,162
<i>Collinsella</i>	0,574	0,668	0,955
<i>Paraprevotella</i>	0,218	0,078	0,849
<i>Roseburia</i>	0,198	0,677	0,389
<i>Lachnospira</i>	0,372	0,264	0,372
<i>Butyrivicoccus</i>	0,979	0,075	0,073
<i>Megamonas</i>	0,681	0,703	0,304
<i>unclassified</i>	<b>0,006</b>	0,406	0,302
<i>Erysipelotrichaceae</i>			
<i>Methanosphaera</i>	0,512	0,357	0,494
<i>Campylobacter</i>	0,379	0,463	0,387

---

### 4.7. Visualisierung der fäkalen Mikrobiota mittels Dendrogramm

In Abbildung 2 ist die Visualisierung der fäkalen Mikrobiota der Hunde dargestellt. Es zeigte sich eine optische Unterscheidung der Gruppen 2 und 4 zu den übrigen Gruppen 1,3 und 5. Gruppen 2 und 4 entsprechen Diät B und D (40 % Rp), die übrigen Gruppen stehen für die Diäten A, C und E (20 % Rp).

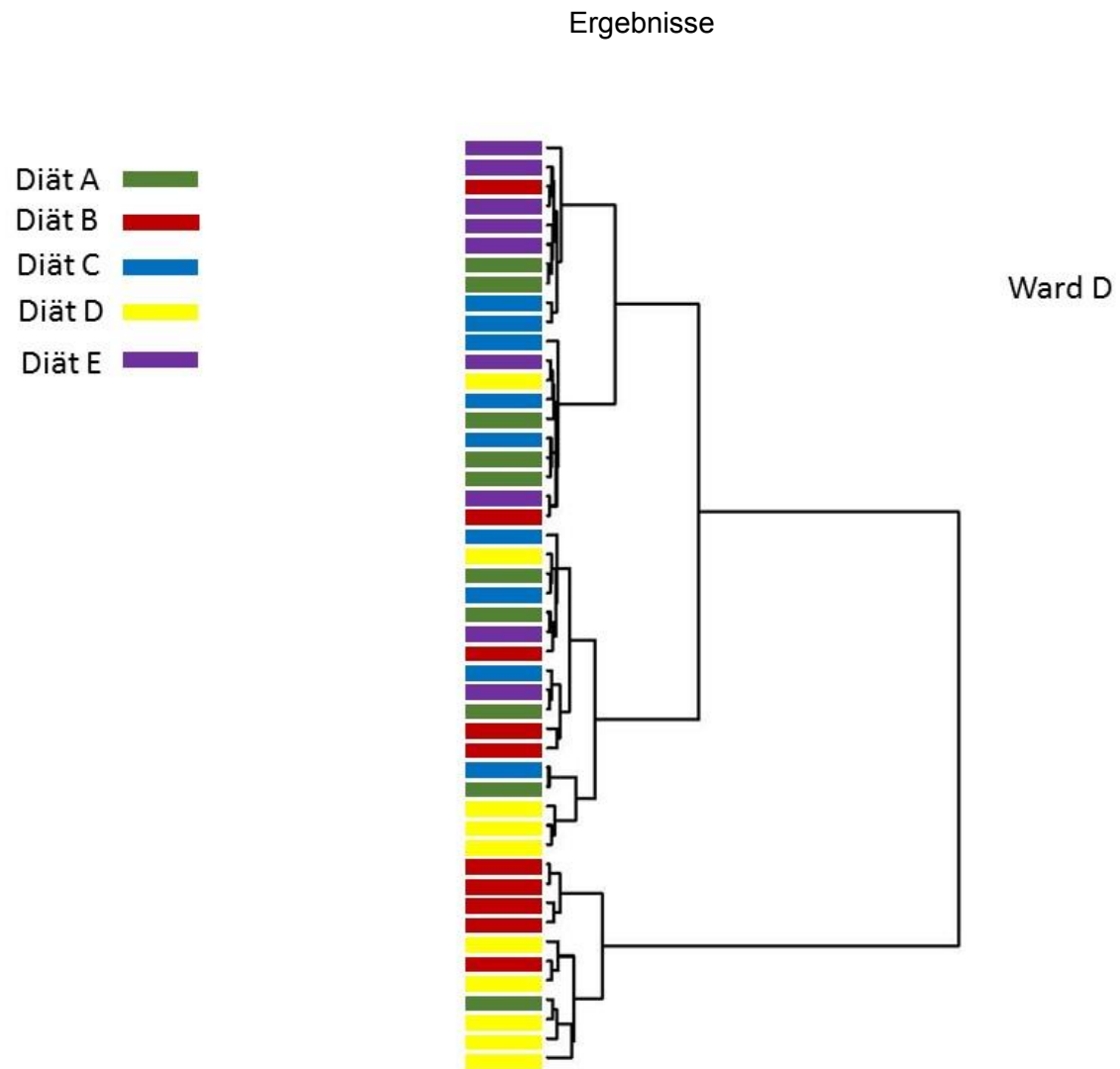


Abbildung 2: Dendrogramm der fäkalen Mikrobiota der 10 Versuchshunde nach Fütterung der 5 Versuchsdiäten

## Ergebnisse

### 4.7.1. Visualisierung der relativen Abundanz der fäkalen Mikrobiota mittels „Heatmap“

Die Visualisierung der relativen Abundanz der am häufigsten detektierten fäkalen Mikrobiota auf Gattungsebene ist in Abbildung 3 gezeigt. Die Gattungen *Clostridium*, *Bacteroides* sowie *Fusobacterium* sind unabhängig der Diäten A-D am häufigsten im Kot der Hunde nachzuweisen.

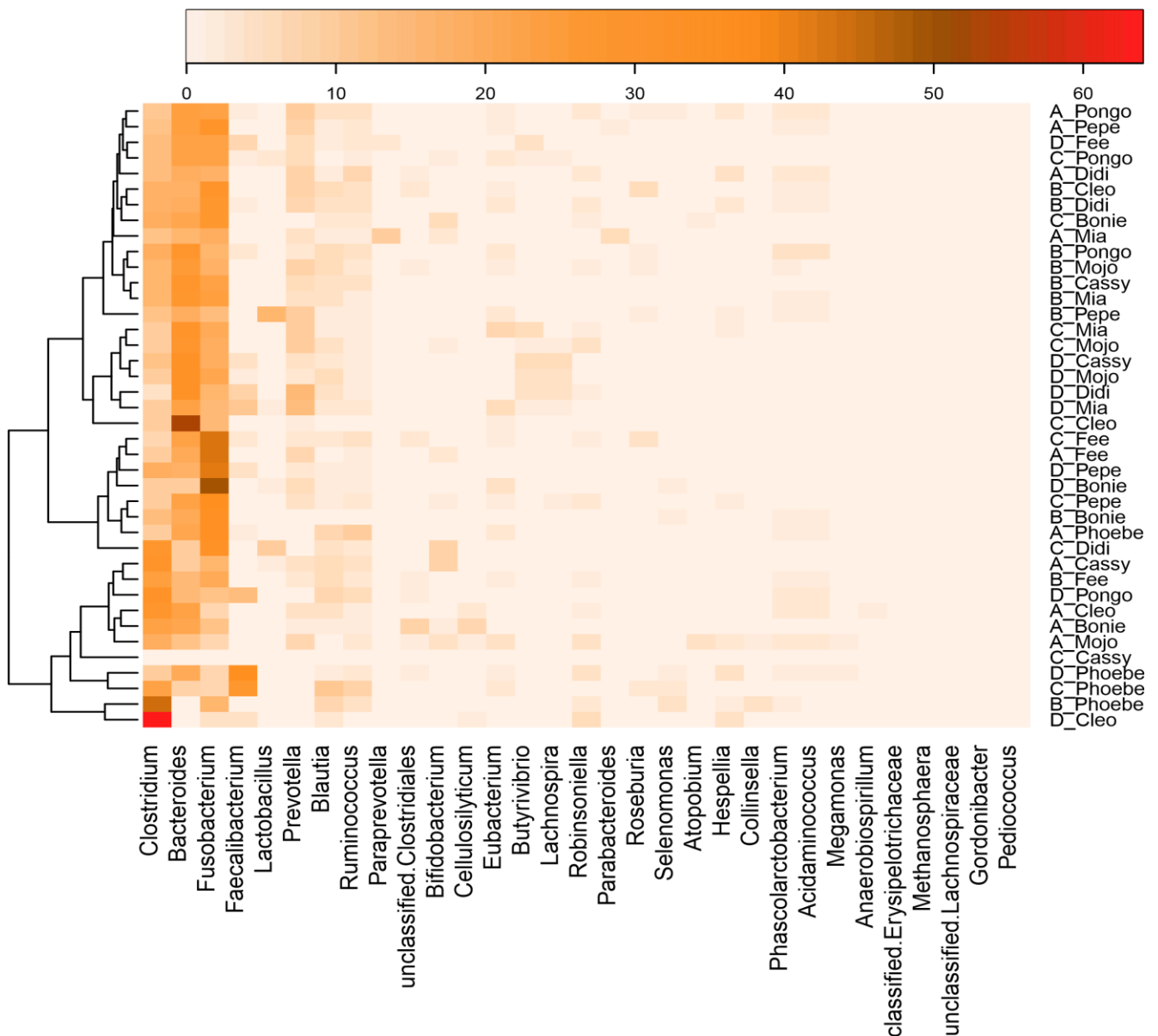


Abbildung 3: Relative Abundanz der am häufigsten vorkommenden fäkalen Mikrobiota im Kot der Hunde nach Fütterung der Versuchsdiäten



### 4.7.2. Visualisierung der Verteilung der fäkalen Mikrobiota mittels Balkendiagramm

Die Abbildungen 4, 5 und 6 zeigen die Verteilung der fäkalen Mikrobiota mittels Balkendiagramm. Abbildung 4 veranschaulicht die Verteilung der bakteriellen Gattungen im Kot der Hunde nach Fütterung der fünf Versuchsdiäten, wobei die Gattungen *Clostridium*, *Bacteroides* und *Fusobacterium* dominant sind.

In Abbildung 5 ist die Verteilung der fäkalen Mikrobiota nach Proteingehalt der Diäten dargestellt. Es wird ersichtlich, dass die Gattungen *Clostridium*, *Faecalibacterium* und *Blautia* eine höhere Abundanz im Kot der Hunde nach Fütterung der Diäten mit 40 % Rp zeigen. Diäten mit einem Rohproteingehalt von 20 % führten zu einem Anstieg der Gattung *Bifidobacterium* im Kot. Es lässt sich anhand des Balkendiagramms eine größere Vielfalt der intestinalen bakteriellen Genera nach Fütterung eines geringeren Proteingehaltes erkennen. Bei der Betrachtung der relativen Abundanz der fäkalen Mikrobiota im Hinblick auf die beiden verwendeten Faserquellen (Abb. 6) wird ersichtlich, dass nach Fütterung von Diäten mit Biertreber mehr Bakterien der Gattung *Clostridium* im Kot der Hunde nachzuweisen waren als nach Fütterung mit Karottentrestler. Jedoch konnten nach Fütterung von Karottentrestler die Gattungen *Bacteroides*, *Faecalibacterium* und *Lachnospira* vermehrt detektiert werden.

## Ergebnisse

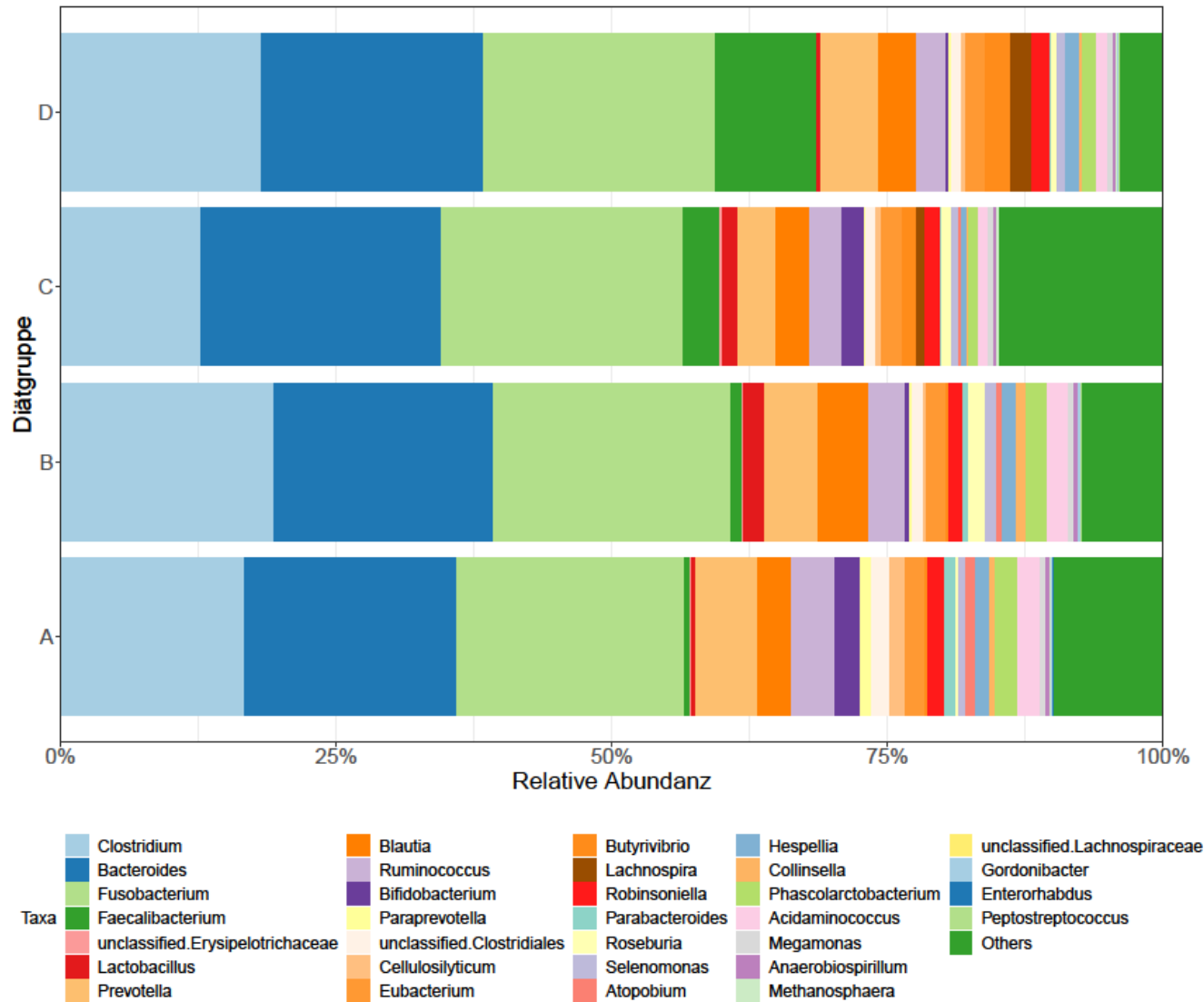


Abbildung 4: Verteilung der fäkalen Mikrobiota der Hunde nach Fütterung der Versuchsdieten

## Ergebnisse

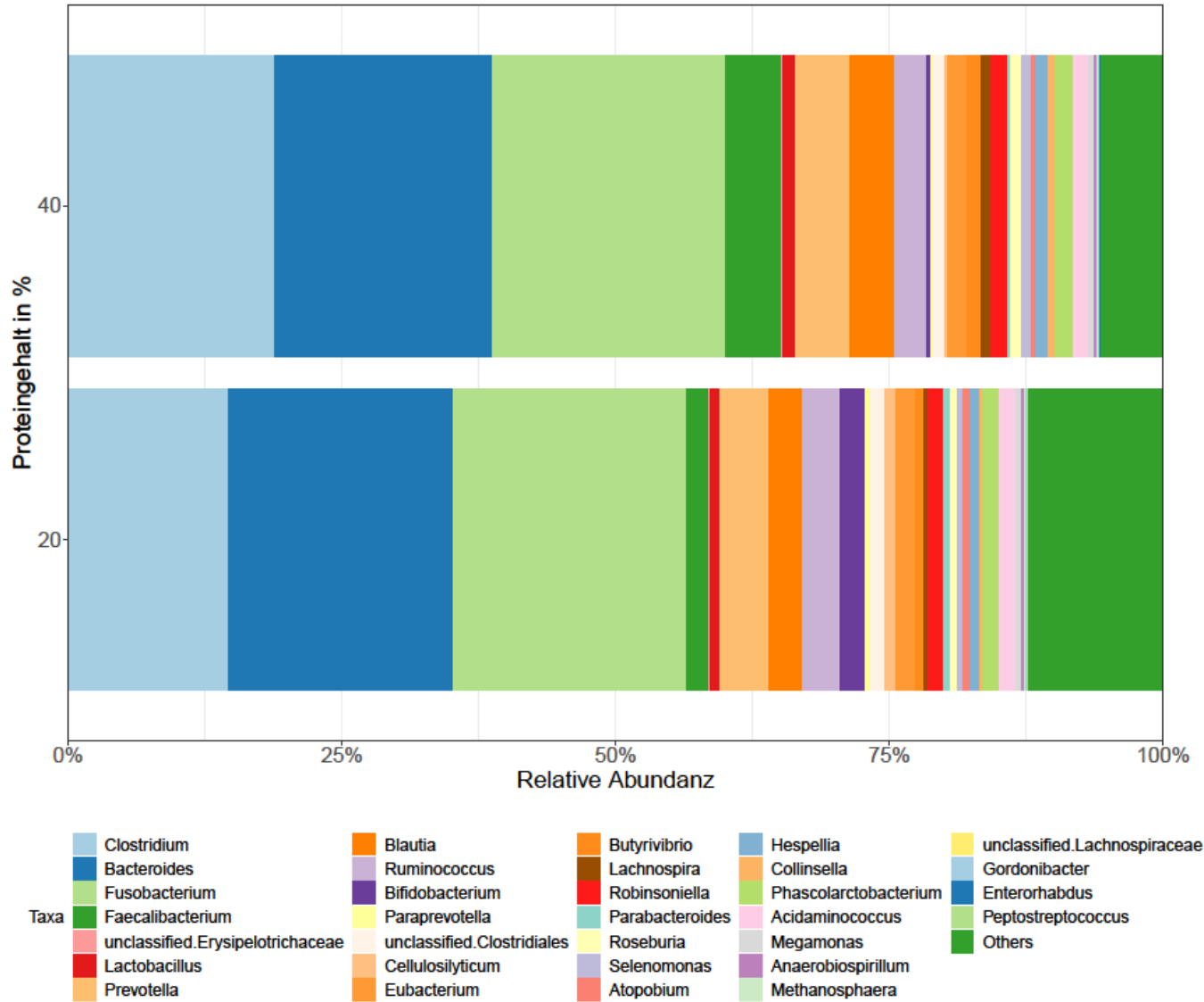


Abbildung 5: Verteilung der fäkalen Mikrobiota der Hunde nach Proteingehalt der Diäten

## Ergebnisse

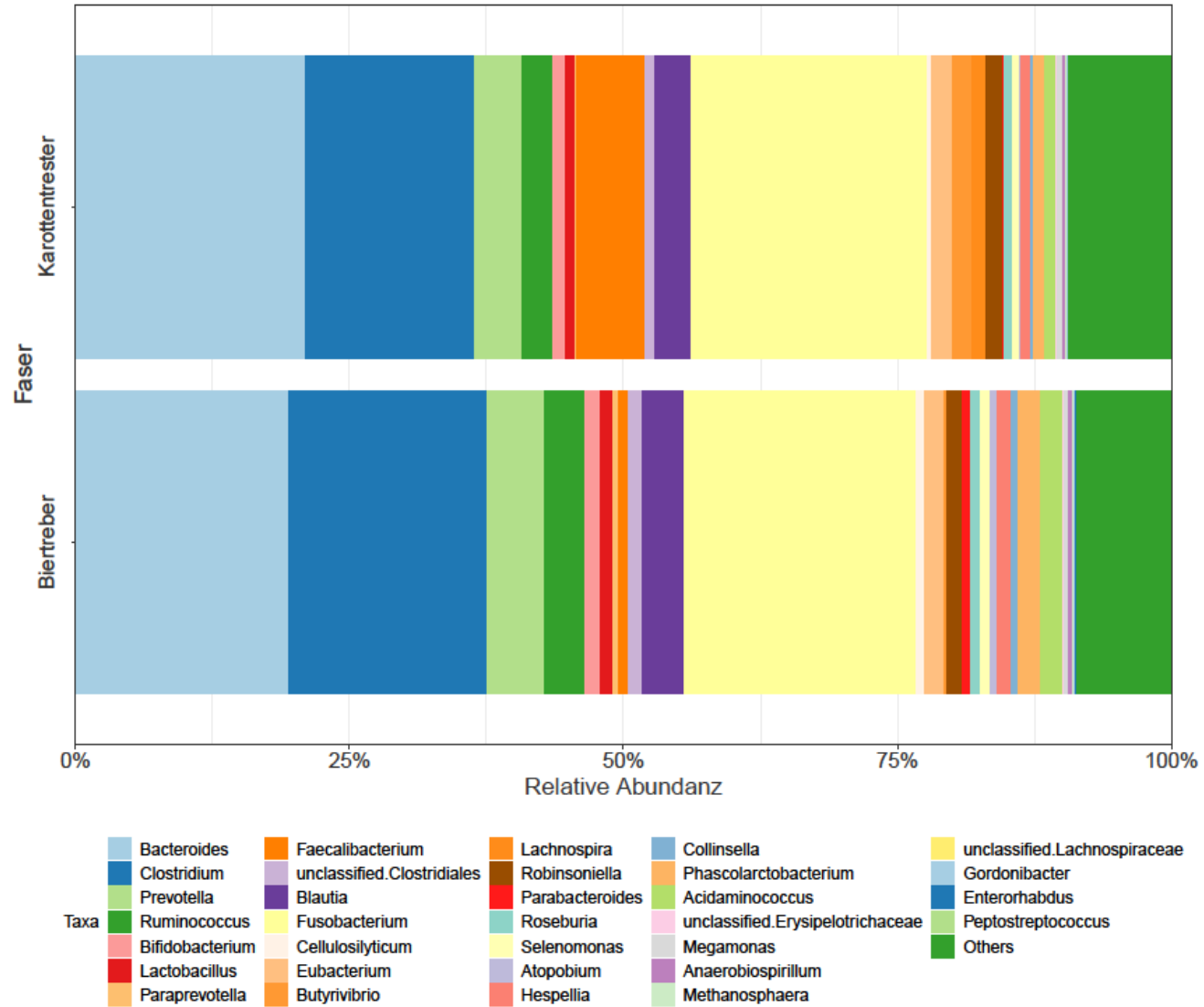


Abbildung 6: Verteilung der fäkalen Mikrobiota der Hunde nach Faserquelle der Diäten

#### 4.8. Parameter in Harn und Blut

In Tabelle 27 sind die Ergebnisse der Analysen der Untersuchungen im Harn sowie im Blut dargestellt. Im Harn zeigten sich dabei statistisch abgesicherte Unterschiede bei Harnstoff, Kreatinin, Indican sowie der Osmolalität. Harnstoff zeigte sich sowohl im Harn ( $p \leq 0,001$ ) als auch im Blut ( $p \leq 0,001$ ) statistisch unterschiedlich nach Fütterung der Diäten mit höherem Proteingehalt. Ein höherer Proteingehalt der Diäten führte hier zu einer erhöhten Konzentration von Harnstoff in Harn und Blut. Für Kreatinin ergaben sich signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,002$ ) im Harn der Hunde, bei erhöhtem Proteingehalt stieg lagen höhere Kreatininkonzentrationen vor. Im Blut war der Faktor „Protein“ für die Unterschiede der Kreatininwerte verantwortlich ( $p \leq 0,055$ ), es lag eine numerische Erhöhung für die Diäten mit 40 % Protein vor. Dies konnte ebenfalls für die Osmolalität im Harn beobachtet werden ( $p \leq 0,001$ ). Der Parameter Indican im Harn zeigte die größten statistisch signifikanten Unterschiede für Diät C (geringste Konzentration) und Diät D (höchste Konzentration). Der pH-Wert unterschied sich nicht. Für Natrium zeigte sich ein Trend ( $p \leq 0,070$ ) zur Beeinflussung durch die Diäten, bei der zweifaktoriellen Varianzanalyse konnte ein signifikanter Einfluss durch das Protein der Diäten festgestellt werden ( $p \leq 0,013$ ). Bei Kalium konnte für den Faktor „Protein“ ein Trend zur Beeinflussung gezeigt werden ( $p \leq 0,085$ ). Beide Parameter wurden durch die proteinreichen Diäten erhöht.

Für Phenole und Indole konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsdiäten festgestellt werden, für den Parameter 7-Methylindol lag ein Trend ( $p \leq 0,087$ ) für den Faktor „Faser“ vor (Tab. 28). Diäten mit Biertreber sowie die Referenzdiät hatten numerisch höhere Konzentrationen als Diäten mit Karottentrester.

In den Tabellen 29 und 30 sind die Ergebnisse der Korrelationen der nicht normalisierten Parameter sowie der normalisierten Parameter (= Parameter bezogen auf Kreatinin) mit den Faktoren „Faser“ und „Protein“ dargestellt. Nach Prüfen der Korrelation mit dem Faktor „Faser“ konnten vor und nach Normalisierung keine Unterschiede detektiert werden. Allerdings hatte das Normalisieren der Parameter und der Vergleich mit dem Faktor „Protein“ Unterschiede der Signifikanzen zur Folge. Die Parameter Indican und Osmolalität zeigten nach der Normalisierung keine signifikanten Unterschiede zum Faktor „Protein“. Bei Phenol und 7-Methylindol führte das Normalisieren zu deutlicheren Unterschieden ( $p \leq 0,016$ ) bzw. ( $p \leq 0,048$ ). Da eine Normalisierung mit Kreatinin nicht geeignet erscheint und die Interpretation von Harnparametern im Spontanharn weiterer Forschung bedarf, wurde auf weitere Statistik (wie Darstellung der Regressionen) verzichtet.

## Ergebnisse

Tabelle 27: Ausgewählte Parameter im Harn und Blut nach Fütterung der Hunde mit den fünf verschiedenen Versuchsdiäten; n=10

Harn										Blut	
Faserquelle	Protein	Diät	Harnstoff [µg/ml]	Kreatinin [µg/ml]	Indican [mg/dL]	Osmolalität [mosm/L]	Natrium µg/ml	Kalium µg/ml	pH	Harnstoff [mmol/L]	Kreatinin [µmol/L]
7,5 % Biertreber	20%	A	22,8 ± 17,3 <sup>a</sup>	527 ± 364 <sup>a</sup>	15,2 ± 10,6 <sup>a,b</sup>	608 ± 292 <sup>a,b</sup>	919 ± 440	2613 ± 1097	7,10 ± 0,77	4,62 ± 0,83 <sup>a</sup>	57,0 ± 12,9
	40%	B	35,6 ± 14,6 <sup>a,b</sup>	736 ± 345 <sup>a,b</sup>	16,7 ± 10,2 <sup>a,b</sup>	838 ± 349 <sup>b,c</sup>	1719 ± 1112	2705 ± 1128	7,36 ± 0,94	6,96 ± 1,10 <sup>b</sup>	60,2 ± 12,8
7,5 % Karottentrester	20%	C	15,3 ± 9,24 <sup>a</sup>	434 ± 251 <sup>a</sup>	8,34 ± 6,51 <sup>a</sup>	408 ± 162 <sup>a</sup>	979 ± 451	1974 ± 793	7,11 ± 0,89	4,35 ± 0,82 <sup>a</sup>	56,2 ± 8,59
Karottentrester	40%	D	45,7 ± 27,9 <sup>b</sup>	967 ± 449 <sup>b</sup>	23,3 ± 16,1 <sup>b</sup>	1018 ± 378 <sup>c</sup>	1471 ± 894	3193 ± 1542	6,77 ± 0,76	7,23 ± 1,42 <sup>b</sup>	67,3 ± 10,8
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	13,9 ± 10,4 <sup>a</sup>	367 ± 289 <sup>a</sup>	10,7 ± 9,40 <sup>a,b</sup>	375 ± 197 <sup>a</sup>	986 ± 573	2145 ± 1386	7,64 ± 0,87	4,39 ± 1,23 <sup>a,b</sup>	58,5 ± 17,9
<i>p</i> -Werte											
1-faktorielle Varianzanalyse <sup>1</sup>			<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,038</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,070	0,197	0,226	<b>&lt;0,001</b>	0,335
<i>p</i> -Werte											
2-faktorielle Varianzanalyse											
	Protein		<b>0,001</b>	0,826	0,142	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,013</b>	0,085	0,877	<b>&lt;0,001</b>	0,055
	Faser		<b>0,002</b>	0,548	0,162	0,922	0,705	0,840	0,275	1,000	0,388
	Protein *		<b>0,029</b>	0,976	0,068	0,068	0,535	0,137	0,271	0,431	0,281
	Faser										

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Buchstaben in einer Spalte bedeuten signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ )

## Ergebnisse

Tabelle 28: Konzentration von Phenol, Indol, 4-Ethylphenol, 3-Methylindol und 7-Methylphenol [in nmol/ml] im Harn der Hunde nach Fütterung der fünf Versuchsdiäten, n=10

Faserquelle	Protein	Diät	Phenol	Indol	4- Ethylphenol	3-Methylindol <sup>1</sup>	7-Methylindol
7,5 % Biertreber	20%	A	32,7 ± 16,5	15,4 ± 10,2	5,24 ± 2,79	15,9 ± 18,6	9,50 ± 7,95
	40%	B	33,5 ± 22,5	12,5 ± 9,66	4,47 ± 2,94	8,65 ± 6,63	8,46 ± 6,34
7,5 % Karottentrester	20%	C	25,4 ± 14,8	9,41 ± 8,80	4,19 ± 1,32	6,74 ± 3,77	5,10 ± 6,15
	40%	D	37,6 ± 18,3	14,7 ± 10,2	4,39 ± 2,91	7,96 ± 5,79	5,54 ± 5,63
2 % Biertreber/ Karottentrester	20%	E	20,9 ± 8,93	11,6 ± 10,3	5,47 ± 1,80	5,24 ± 4,16	8,45 ± 8,56
<i>p</i> -Werte							
1-faktorielle			0,191	0,662	0,708	0,134	0,544
Varianzanalyse							
<i>p</i> -Werte			0,264	0,706	0,730	-	0,886
2-faktorielle			0,786	0,545	0,489	-	0,087
Varianzanalyse <sup>2</sup>			0,326	0,189	0,557	-	0,725
	Protein *						
	Faser						

<sup>1</sup> Aufgrund des Ergebnisses des Levene-Tests wurden für den Parameter 3-Methylindol keine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt

## Ergebnisse

Tabelle 29: P-Werte der Korrelationen der nicht normalisierten und normalisierten Parameter (=Parameter/Kreatinin) im Harn mit dem Faktor „Faser“

Parameter	p-Werte	
	nicht normalisiert	normalisiert
Kreatinin	0,595	
Phenol	0,288	0,511
4-Ethylphenol	0,746	0,486
Indol	0,433	0,901
3-Methylindol	<b>0,040</b>	<b>0,060</b>
7-Methylindol	0,325	0,626
Harnstoff	0,850	0,141
Indican	0,978	0,300
Osmolalität	0,986	0,272
pH-Wert	0,270	

Tabelle 30: P-Werte der Korrelationen der nicht normalisierten und normalisierten Parameter (=Parameter/Kreatinin) im Harn mit dem Faktor „Protein“

Parameter	p-Werte	
	nicht normalisiert	normalisiert
Kreatinin	<b>&lt;0,001</b>	
Phenol	0,152	<b>0,016</b>
4-Ethylphenol	0,220	0,405
Indol	<b>0,024</b>	<b>0,039</b>
3-Methylindol	0,976	0,313
7-Methylindol	0,895	<b>0,048</b>
Harnstoff	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
Indican	<b>0,031</b>	0,777
Osmolalität	<b>&lt;0,001</b>	0,527
pH-Wert	0,878	

### 4.8.1. Visualisierung der Korrelationen der Harnparameter zu Kreatinin

Die Abbildungen 7-9 veranschaulichen die Korrelationen von Kreatinin im Harn mit den anderen Harnparametern Harnstoff (Abb. 7), Indican (Abb. 8) und Osmolalität (Abb.9). Der Korrelationskoeffizient war bei diesen Parametern hoch signifikant (\*\*\*) =  $p \leq 0,001$ ).



# Ergebnisse

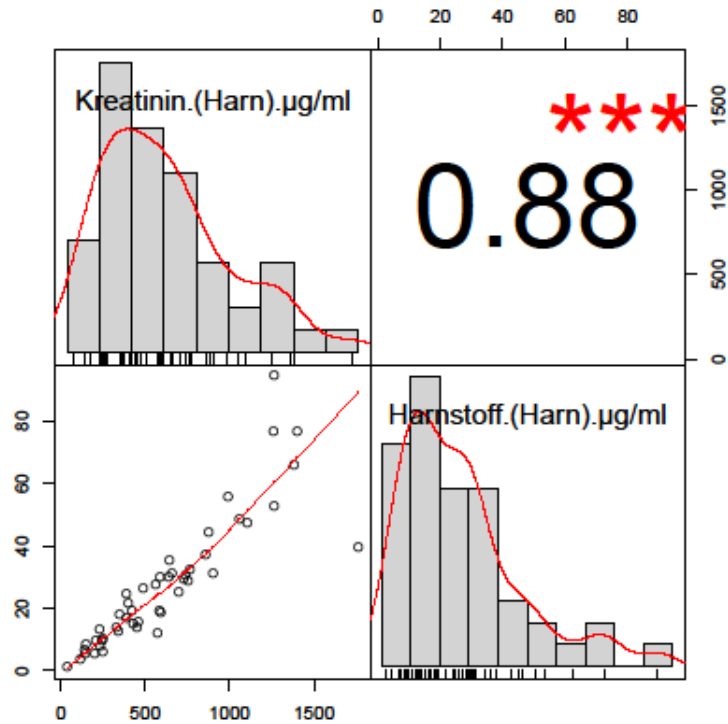


Abbildung 7: Korrelation von Kreatinin (Harn) zu Harnstoff (Harn) nach Fütterung der Versuchsdäten

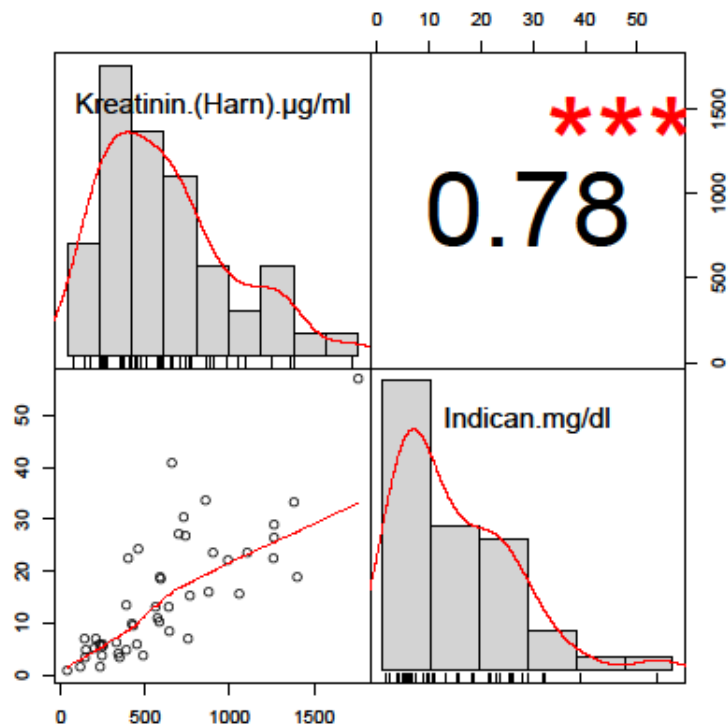


Abbildung 8: Korrelation von Kreatinin (Harn) zu Indican (Harn) nach Fütterung der Versuchsdäten

## Ergebnisse

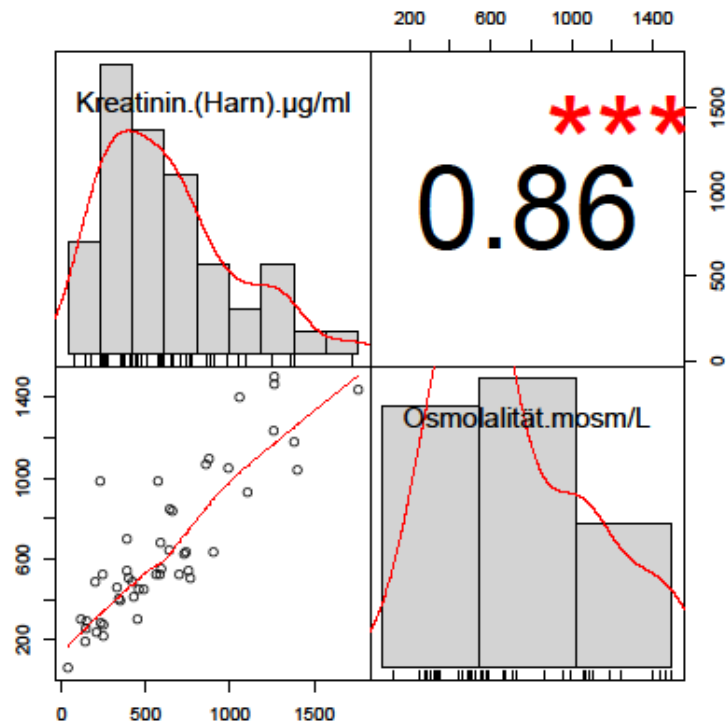


Abbildung 9: Korrelation von Kreatinin (Harn) zur Osmolalität (Harn) nach Fütterung der Versuchsdäten

### 4.8.2. Visualisierung der Relation der Exkretion von Kreatinin im Harn zu den Diäten

Abbildung 10 zeigt mit Hilfe von Boxplots die Verteilung des über den Harn ausgeschiedenen Kreatinins in Abhängigkeit der gefütterten Diäten. Es ist ein Zusammenhang zwischen Kreatinin und der über die Nahrung aufgenommene Proteinmenge erkennbar.

## Ergebnisse

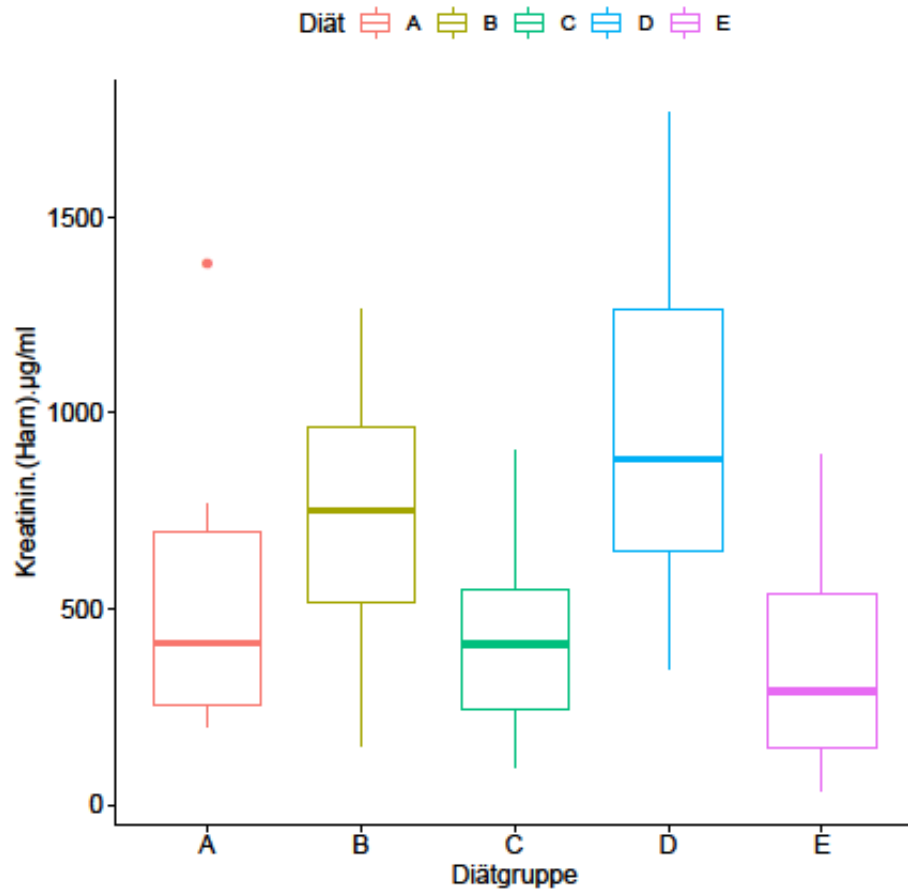


Abbildung 10: Übersicht des über den Harn ausgeschiedenen Kreatinins nach Fütterung der Hunde mit den fünf Versuchsdiäten

### 4.8.3 Natrium und Kalium im Harn zur Abschätzung des theoretischen Harnvolumens

Da die Aufnahme der beiden Elemente, die Ausscheidung über Kot und Harn sowie die scheinbare Verdaulichkeit vorlagen, wurde das theoretische Harnvolumen (ml/Tag) geschätzt. Über Natrium berechnet ergab sich demnach ein theoretisch berechnetes Harnvolumen von 697 ml/Tag/Hund und für Kalium 667 ml/Tag/Hund. Diese Berechnung erfolgte über die Division der Konzentration von Kalium bzw. Natrium im Harn durch deren theoretische Ausscheidung im Harn (95 % der scheinbar verdauten Menge an von Kalium bzw. Natrium). Anschließend wurde über das theoretisch berechnete Harnvolumen über Kalium die theoretische Ausscheidung/Hund/Tag für die jeweiligen Harnparameter (Phenol, 4-Ethylphenol, Indol, 3-Methylindol, 7-Methylindol, Harnstoff, Kreatinin, Indican) berechnet. Dabei ergaben sich Hinweise, dass die mit dem Harn ausgeschiedene Menge an Harnstoff nach Fütterung der proteinreichen Diäten höher zu sein scheint. Aufgrund der fehlenden individuellen Harnvolumenberechnung wurde in vorliegender Arbeit auf Statistik verzichtet.

## Ergebnisse

Tabelle 31: Übersicht der theoretisch ausgeschiedenen Harnvolumina/Tag [ml/Tag] über Natrium und Kalium berechnet sowie die daraus berechnete theoretische tägliche Ausscheidung ausgewählter Harnparameter bei den Hunden nach Fütterung der Versuchsdiäten, n=10

Diät	Mittelwert theoretisches Harnvolumen, über Na geschätzt	Mittelwert theoretisches Harnvolumen, über K geschätzt	Phenol nmol	4- Ethylphenol nmol	Indol nmol	3- Methylindol nmol	7- Methylindol nmol	Harnstoff µg	Kreatinin mg	Indican mg
A	636	575	1377 ± 319	230 ± 52,5	594 ± 132	740 ± 280	427 ± 143	842 ± 162	18,9 ± 3,00	5,80 ± 1,30
B	553	531	1235 ± 369	197 ± 74,7	390 ± 73,5	354 ± 130	300 ± 62,7	1197 ± 127	24,2 ± 2,87	5,65 ± 1,04
C	670	755	1249 ± 174	237 ± 42,6	428 ± 108	344 ± 56,0	302 ± 128	909 ± 156	25,6 ± 4,29	6,02 ± 1,66
D	784	504	1269 ± 219	152 ± 29,0	448 ± 94,8	274 ± 82,7	180 ± 58,0	1561 ± 352	33,1 ± 5,60	6,72 ± 1,22
E	843	972	1401 ± 374	362 ± 88,4	579 ± 153	316 ± 93,0	414 ± 177	875 ± 272	26,8 ± 8,54	6,67 ± 2,49

## 5. Diskussion

### 5.1. Versuchsdesign

Bei dem durchgeführten Versuch handelte es sich um ein sogenanntes cross-over Design. Somit konnten alle Versuchsdiäten gleichzeitig an die Hunde gefüttert werden, sofern dabei jedoch jegliche meteorologische bzw. jahreszeitliche Einflüsse als mögliche Einflussfaktoren bestehen, waren diese für alle Hunde identisch und konnten dadurch auf die Studie ausgeschlossen werden.

In der Literatur finden sich Angaben zur Adaptationsphase bei Hunden von 7 Tagen (Silvio et al., 2000), 10 Tagen (Wichert et al., 2002; Zentek et al., 2002b; Middelbos et al., 2007; Middelbos et al., 2010; Swanson et al., 2011; Panasevich et al., 2013; Maria et al., 2017), 13 Tagen (Kienzle et al., 2001), 14 Tagen (Zentek, 1996; Beloshapka et al., 2013; Sandri et al., 2017), 28 Tagen (Pinna et al., 2018) und 30 Tagen (Kerr et al., 2013). In Anlehnung an diese Streuung wurde für die vorliegende Studie eine Adaptationsphase von 14 Tagen gesetzt.

Als Beitrag zum Refinement wurde auf eine Probensammlung in Stoffwechsellkäfigen verzichtet. Die Hunde wurden vor und während der Studie trainiert, das Auffangen des Spontanharns in einem Becher bzw. einer Schale zu tolerieren. Dieses Verfahren wurde von den Hunden sehr gut angenommen, jedoch war der Zeitaufwand vor der Studie sowie während der Probennahme nicht unerheblich.

### 5.2. Versuchstiere und –diäten

Alle zehn Versuchshunde zeigten während der Versuchszeit keine Anzeichen von Krankheitssymptomen oder Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens. Somit sind von diesen Gesichtspunkten aus keine Beeinflussung der Ergebnisse zu erwarten. Alle Hunde waren fast gleich alt (8 Hunde 4 Jahre, 2 Hunde 6 Jahre) die Geschlechtsverteilung war nahezu ausgeglichen (6 weibliche, 4 männliche Hunde).

Die Analysen der Versuchsfutter entsprachen weitestgehend den zuvor berechneten Diätzusammensetzungen, daher waren von dieser Seite aus gute Versuchsvoraussetzungen gegeben.

### 5.3. Diskussion der Ergebnisse

#### 5.3.1. Kotkonsistenz, fäkale Trockenmasse und pH-Wert

Die Scores der Kotkonsistenzen unterschieden sich nicht signifikant voneinander ( $p \leq 0,622$ ), die Hunde hatten unabhängig von der Diät einen geformten, trockenen und nicht harten Kot (im Mittel Score 2). Diese Beobachtung konnten auch bei Kröger et al. (2017) gemacht werden, in deren Studie an Hunden ebenfalls Faserstoffe mit unterschiedlichen Fermentierbarkeiten untersucht wurden.

Interessanterweise konnte in vorliegender Studie ein statistisch signifikanter Unterschied bei der Trockenmasse des Kots gezeigt werden ( $p < 0,001$ ). Der Kot der Hunde, die Diäten mit Biertreber erhalten hatten, zeigte in der vorliegenden Untersuchung eine höhere Trockenmasse. Auch dies stimmt mit den Ergebnissen von Kröger et al. (2017) überein. Die fäkale Trockenmasse war ebenfalls höher bei Hunden, welche zuvor mit der unlöslichen Faserquelle (Lignocellulose) gefüttert wurden im Vergleich zur Gruppe an Hunden, die eine Diät mit der löslichen Faserquelle (Zuckerrübenschnitzel) erhielten. Ebenso verursachte Zellulose in der Diät bei Hunden in der Studie von Wichert et al. (2002) eine höhere fäkale Trockenmasse im Vergleich zur Kontrolldiät (keine Zellulose). In der Studie konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Länge der Zellulosepartikel einen Einfluss auf die fäkale Trockenmasse hat. Um den Einfluss unterschiedlicher Faserlängen in vorliegender Studie zu vermeiden, wurden Karottentrester und Biertreber vor Einmischung in die Diäten so gemahlen, dass über 60 % eine Partikelgröße von 0,2 – 0,4 mm aufwiesen. Dies steht im Einklang mit einer Studie von Bosch et al. (2009). Sie beobachteten bei ihrem Versuch eine statistisch signifikant niedrigere fäkale Trockenmasse ( $p \leq 0,001$ ) bei Hunden, denen zuvor eine Diät mit einer hoch fermentierbaren Faserquelle (Rübenschnitzel und Inulin) gefüttert wurden im Vergleich zu den Hunden, bei denen Zellulose als Faserquelle in der Diät eingemischt war. Da die Hunde hin und wieder Koprophagie zeigten, musste die Kotsammlung möglichst schnell und durch mehrere Personen (Tierpfleger, Doktorandin, studentische Hilfskräfte) erfolgen. Dadurch ist es möglich, dass trotz des Bewertungsschemas von Middelbos et al. (2007) subjektive Einschätzungen vorgenommen wurden und die Kotkonsistenzergebnisse somit von den Ergebnissen der Trockenmasse differieren.

Im Vergleich zur Beurteilung der Kotkonsistenz (subjektiv) ist die Messung der fäkalen Trockenmasse objektiv und daher wesentlich besser geeignet um eine Veränderung der Trockenmasse (und damit der Konsistenz) im Kot zu bestimmen.

## Diskussion

Die Kotkonsistenz wird von der Proteinmenge- und -qualität beeinflusst. In der vorliegenden Studie wurden Geflügelmehl und Griebenmehl als Proteinquellen verwendet. Geflügelmehl gilt als eine hochwertige und gut verdauliche Proteinquelle für Hunde und wurde schon in einer Vielzahl an Studien als Proteinquelle eingesetzt (Fahey et al., 1992; Burkhalter et al., 2001; Hesta et al., 2003; Grieshop et al., 2004; Quigley et al., 2004; Guevara et al., 2008; Barry et al., 2009; Bosch et al., 2009; Faber et al., 2011; Deng et al., 2013; Kröger et al., 2017). Griebenmehl ist reich an Bindegewebe und zeigt eine eher mäßige Verdaulichkeit.

In der Studie von Zentek et al. (2003) führte eine proteinreiche Diät (726 g/kg Rp TM) mit Rinderlunge und Griebenmehl als Proteinquellen zu einem Kotkonsistenzscore von  $2,7 \pm 0,7$  (1= Diarrhoe bis 5= hart, fest).

Auch in der Studie von Nery et al. (2010) erzeugten erhöhte Proteingehalte (382 und 392 g/kg Rp TM) eine verschlechterte Kotkonsistenz- bzw. -qualität. Dies konnte auch in einer Studie von Hang et al. (2013) bestätigt werden. In dieser Studie lag der Rohproteingehalt bei 609 g/kg TM, die Verfütterung dieser hohen Rohproteinmenge verursachte bei allen Versuchshunden Diarrhoe (Hang et al., 2013).

Es ist davon auszugehen, dass die Proteinmenge in der vorliegenden Studie (399 bzw. 409 g/kg Rp TS) ausreichend niedrig waren, um eine negative Beeinflussung der Kotkonsistenz hervorzurufen. Als weiteren Aspekt gilt es zu beachten, dass in der vorliegenden Untersuchung der Anteil an Geflügelmehl in jeder Diät höher war als Griebenmehl. Somit wurde eine verträgliche und gut verdauliche Proteinquelle als Hauptproteinquelle gewählt.

Der fäkale pH-Wert zeigte nach Fütterung der fünf verschiedenen Versuchsdieten keine signifikanten Unterschiede, jedoch lässt das Ergebnis eine Interpretation als Trend zu ( $p \leq 0,070$ ). Bei anderen Studien konnte ein statistisch signifikanter Unterschied der fäkalen pH-Werte beobachtet werden wobei vor allem lösliche Faserstoffe zu einem niedrigeren fäkalen pH-Wert führten.

In der Studie von Pinna et al. (2018) konnte ein statistisch signifikanter Unterschied für die fäkalen pH-Werte zwischen den Diäten festgestellt werden ( $p \leq 0,005$ ). Hier hatte die Zugabe von Fructooligosacchariden sowie die Proteinkonzentration einen Einfluss auf den pH-Wert des Kotes der Hunde. Die Zulage von Fructooligosacchariden führte bei der proteinreichen Diät (304 g/kg TM) zu einem niedrigeren fäkalen pH-Wert der Versuchshunde.

Auch bei Wambacq et al. (2016) war der fäkale pH-Wert der Hunde, denen zuvor eine lösliche Faserkomponente (Zuckerrübenschnitzel und Guarkernmehl) gefüttert wurde, signifikant niedriger ( $p \leq 0,001$ ) als bei Hunden, denen Zellulose als Faserquelle in der Diät gefüttert wurden. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte darin bestehen, dass bei löslichen



Faserquellen in einer Diät vermehrt kurzkettige Fettsäuren im Kolon entstehen und dadurch der fäkale pH-Wert niedriger wird. Es ist ebenfalls bekannt, dass lösliche Faserstoffe die Abundanz von *Lactobacillaceae* fördern (Zentek, 1996; Middelbos et al., 2007) und somit der fäkale pH-Wert durch bakterielle Metabolite wie Laktat sinkt. In vorliegender Studie wurde gezeigt, dass der Proteingehalt einen Einfluss auf die fäkale Laktatkonzentration hat. Dies wird näher in Kapitel 5.3.3.1 diskutiert.

### 5.3.2. Scheinbare Gesamtverdaulichkeit der Versuchsdieten

Es liegen aktuell keine publizierten Studien zur scheinbaren Gesamtverdaulichkeit von Birtreber und Karottentrester in Kombination mit zwei verschiedenen Proteingehalten bei Hunden vor.

In der Studie von Swanson et al. (2001) wurde Karottentrester in einem in-vitro Versuch mit fäkalem Inokulum gesunder Hunde fermentiert. Dabei produzierte Karottentrester im Vergleich zu anderen Frucht- und Gemüsefaserquellen die größte Menge an kurzkettigen Fettsäuren und Gas. Studien zur scheinbaren Verdaulichkeit von Nährstoffen fehlen allerdings.

Bei den Rohnährstoffen zeigte sich in vorliegender Studie für die scheinbare Gesamtverdaulichkeit von Rohfett ein signifikanter Unterschied zwischen den Diäten, wobei die Faserkomponente den entscheidenden Einfluss hatte ( $p \leq 0,001$ ). Für Diät A ergab sich im Vergleich mit den anderen Versuchsdieten die geringste Fettverdaulichkeit ( $92,4 \pm 3,24 \%$ ). Die scheinbare Gesamtverdaulichkeit von Nährstoffen kann durch die Faserkomponente in der Diät beeinflusst werden (Zentek, 1996), wobei Zellulose den größten Einfluss hat (Kienzle et al., 1998).

Der Rohproteingehalt der Versuchsdieten wurde in vorliegender Arbeit mit ca. 200 g/kg TS und ca. 400 g/kg TS gewählt. Damit wurde sichergestellt, dass der häufig in kommerziell vorkommende Rohproteingehalt in Hundefutter von ca. 300 g/kg (Barry et al., 2009) jeweils unter- und überschritten wurde, um die Effekte in Kombination mit den Faserquellen deutlicher darstellen zu können. Diese Einstufung nahmen auch Nery et al. (2010) in einer Studie an Hunden vor (220 g/kg TS „niedrig Protein“, 290 g/kg TS „medium Protein“, 390 g/kg TS „hoch Protein“). Die Verdaulichkeiten für Rohprotein unterschieden sich nicht statistisch signifikant voneinander, die gezeigten Ergebnisse der Proteinverdaulichkeiten der vorliegenden Studie ( $75,7 \pm 2,1 \%$  -  $84,9 \pm 1,0 \%$ ) stimmen mit den Ergebnissen anderer Studien überein (scheinbare Verdaulichkeit Geflügelmehl 87,5 % (Bednar et al., 2000), 76,9 % (Clapper et al., 2001), Geflügelnebenprodukte 81,6 % (Bednar et al., 2000)).

## Diskussion

Da in vorliegender Studie zwei Proteinquellen (Geflügelmehl und Griebenmehl) verwendet wurden, ist die Aussagekraft über die Rohproteinverdaulichkeit beschränkt, da sie sich nicht nur auf die Hauptproteinquelle bezieht. In verschiedenen Studien konnte allerdings gezeigt werden, dass eine höher fermentierbare Faser zu einer schlechteren Verdaulichkeit von Rohprotein (bzw. der scheinbaren Stickstoffverdaulichkeit) führt (Fahey et al., 1990b; Fahey et al., 1990a; Fahey et al., 1992; Silvio et al., 2000; Wambacq et al., 2016). Fermentierbare, lösliche Fasern formen in der wässrigen Ingesta im Dünndarm eine gelartige Masse, wodurch Nährstoffe gebunden werden. Dadurch wird ihr Transfer zur Darmwand verlängert und die Absorption erschwert (Ashraf et al., 1994; Bednar et al., 2001).

Der Rohfasergehalt der Diäten C und D (analyisierte Werte: 29,7 und 31,6 g/kg TS) lag geringgradig höher als bei den Diäten A und B (25,5 und 25,3 g/kg TS). Die als Referenzdiät fungierende Diät E hatte einen bewusst gewählten niedrigeren Rohfasergehalt (9,22 g/kg TS). Somit lassen sich geringgradige Abweichungen der Ergebnisse der scheinbaren Verdaulichkeit von Rohfaser im Kot der Hunde erklären.

Allgemein gilt zu beachten, dass der Rohfasergehalt in Kotproben als kritisch zu betrachten ist, da die zur Verfügung stehenden Methoden der Analytik einige Nachteile und Limitationen aufweisen (de-Oliveira et al., 2012).

Bei einer höheren Menge an Rohfaser in der Ration sinkt die scheinbare Verdaulichkeit der organischen Substanz (Kamphues et al., 2014). Diese Beobachtung konnte in vorliegender Studie zum Teil bestätigt werden. Die Referenzdiät E hatte mit  $90,3 \pm 2,1$  % die höchste Verdaulichkeit der organischen Substanz im Kot, der Rohfasergehalt lag in dieser Diät deutlich geringer als bei den anderen Versuchsdiäten. In der Studie von Zentek (1996) wurde beschrieben, dass nicht nur die Fasermenge sondern auch deren Fermentierbarkeit eine Rolle bei der Verdaulichkeit der organischen Masse zu spielen scheint. Hier hatte die Zulage von 10 % Zellulose in der Diät eine Verdaulichkeit der organischen Masse von 83 %, während der Einsatz von ebenfalls 10 % Guar und Pektin eine Verdaulichkeit der organischen Masse von 90 % aufwies.

Eine erhöhte Rohfasermenge in der Diät hat nicht nur Auswirkungen auf die scheinbare Verdaulichkeit der organischen Substanz. Auch in anderen Studien waren die scheinbaren Verdaulichkeiten von z.B. Rohfett und Rohprotein geringer, wenn der Rohfasergehalt in der Diät höher war (Burrows et al., 1982; Burkhalter et al., 2001).

Die scheinbare Verdaulichkeit von Nährstoffen sinkt mit der Zulage von Faserstoffen, da die Nährstoffe von unverdaulichen Faseranteilen ersetzt werden. Eine weitere Erklärung ist die möglicherweise erhöhte Sekretion in das Dünndarmlumen als Antwort auf die erhöhte Fasermenge im Darm (Larsen et al., 1993).

Die scheinbaren Verdaulichkeiten der Mengenelemente Phosphor, Natrium und Magnesium sowie der Spurenelemente Kupfer, Zink und Mangan zeigten sich für die verschiedenen Versuchsdäten uneinheitlich. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass die Diäten geringgradige Abweichungen der jeweiligen Spuren – und Mengenelementkonzentrationen hatten. Es ist möglich, dass erhöhte Zulagen von Rohfaser in einer Diät zu einer schlechteren Verdaulichkeit von Rohnährstoffen, Mengen –und Spurenelementen führen können.

### 5.3.3. Bakterielle Metaboliten der Kotproben

#### 5.3.3.1. D/L- Laktat

Laktat ist das Endprodukt der Milchsäurebakterien (Swanson et al., 2002a). Eine erhöhte Konzentration an Laktat im Darm kann den luminalen pH-Wert senken, wodurch sich eine antimikrobielle Wirkung ergibt, die als positiv bewertet wird (Swanson et al., 2002a). In vorliegender Studie lag die numerisch größte Konzentration von D- und L-Laktat in den Kotproben der Hunde vor, die zuvor mit Diät A gefüttert wurden, welche die unlösliche Faserquelle Birtreber enthielt. Den statistisch signifikanten Einfluss hatte die jeweilige Rohproteinmenge in den Versuchsdäten, indem Diäten mit moderatem Proteingehalt zu einer Erhöhung der Laktatkonzentration im Kot der Hunde führte.

Konträr zu vorliegenden Ergebnissen hatten in der Studie von Kröger et al. (2017) Hunde, die mit der unlöslichen Faserquelle Lignocellulose gefüttert wurden, statistisch signifikant niedrigere Konzentrationen für L-Laktat ( $p \leq 0,001$ ). Für den Metabolit D-Laktat konnte in der Studie ein Trend ( $p \leq 0,063$ ) festgestellt werden.

In der Studie von Swanson et al. (2002a) führte eine Supplementierung mit 2 g Fructooligosacchariden zu einer Erhöhung der fäkalen Laktatkonzentration ( $p \leq 0,05$ ).

Der Proteingehalt der Diät betrug 23,8 % TM. In einer weiteren Studie von Swanson et al. (2002b) führte eine Supplementierung von Fructooligosacchariden und/oder Mannanooligosacchariden zu keiner Veränderung der fäkalen Laktatkonzentration bei den Hunden. Die Kombination aus Alter und Diät hatte bei Maria et al. (2017) einen Einfluss auf die Konzentration von Laktat im Hundekot ( $p = 0,031$ ). Im Vergleich zwischen adulten und älteren Hunden führte eine Fütterung mit Geflügelmehl und Rübenschnitzel zu einem Anstieg von Laktat im Kot bei den älteren Hunden.

Pektine (aus Karotten) in einer Diät führten in einer Studie von Zentek (1996) zu einem Anstieg der fäkalen L-Laktatkonzentration bei Hunden.

Sandri et al. (2017) untersuchten u.a. Korrelationen zwischen Laktat und bakteriellen Genera im Kot von Hunden, die mit einer kommerziellen Diät oder mit einer fleischbasierten, selbst

zusammengestellten (BARF) Diät gefüttert wurden. Positive Korrelationen für die Produktion von Laktat konnten für die Gattungen *Megamonas* ( $p \leq 0,05$ ), *Escherichia/Shigella* ( $p \leq 0,01$ ), *Lactococcus* ( $p \leq 0,01$ ) und der *Clostridium XIX* Gruppierung ( $p \leq 0,05$ ) gefunden werden. Interessanterweise zeigte sich für die Gattungen *Lactobacillus* und *Paralactobacillus* eine statistisch signifikant negative Korrelation ( $p \leq 0,01$ ).

Eine Erklärung für unterschiedliche Ergebnisse der Studien könnte sein, dass es wohl laktatverwertende Bakterien als auch diverse laktatproduzierende Bakterien zu geben scheint (Duncan et al., 2004).

### 5.3.3.2 Kurzkettige Fettsäuren

Die kurzkettigen Fettsäuren Essigsäure, Buttersäure und Propionsäure entstehen bei der mikrobiellen Fermentation von Substraten wie Kohlenhydrate (Cummings et al., 1987). Auch unverdaute Proteinanteile können als Substrat für die Verstoffwechslung zu kurzkettigen Fettsäuren dienen, wenn diese beispielsweise durch schlechtere Proteinqualität vermehrt im Dickdarm anfallen (Macfarlane und Macfarlane, 2003). Bei der Interpretation der Ergebnisse sollte stets die Tatsache berücksichtigt werden, dass gemessene Konzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren im Kot nur einen kleinen Überblick über den bakteriellen Metabolismus bieten können, da diese durch eine Weiterverwertung und/oder Resorption durch den Wirt verfälscht werden können.

Durch den Gehalt an verzweigtkettigen Fettsäuren im Kot kann ein Rückschluss auf die Proteinfermentation durch die intestinale Mikrobiota im Dickdarm gezogen werden (Macfarlane et al., 1986). Ein Beispiel hierfür zeigt die Studie von Nery et al. (2012). Hier hatte eine Diät mit einem höheren Proteingehalt (38,2 – 39,2 % Rp TM) eine vermehrte Konzentration verzweigtkettiger Fettsäuren in den Fäzes der Hunde als nach einer Diät mit einem mäßigem Proteingehalt (21,4 -21,6 % Rp TM).

In der vorliegenden Studie konnte für den Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Kot der Hunde ein Trend zur Beeinflussung der Versuchsdieten ( $p \leq 0,076$ ) beschrieben werden. Die Diäten C und D, welche die fermentierbare Faser Karottentrestler enthielten, führten zu einem höheren fäkal messbaren Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren ( $93,9 \pm 38,7$  bzw.  $111 \pm 30,3 \mu\text{mol/g uS}$ ) als die Diäten A und B mit Biertreber ( $73,9 \pm 21,0$  bzw.  $80,4 \pm 25,5 \mu\text{mol/g uS}$ ). Die Faserquelle war ausschlaggebend für die statistisch signifikanten Unterschiede.

Dieses Ergebnis konnte auch in der Studie von Wambacq et al. (2016) gezeigt werden, in der ebenfalls die Faserquelle den entscheidenden Einfluss auf die fäkale Konzentration kurzkettiger Fettsäuren bei Hunden hatte. Die Versuchsdieten enthielten als Faserquellen eine Mischung aus Zuckerrübenschnitzel und Guar (10,1 % TDF) oder Zellulose (9,0 % TDF) und hatten mit 17% Rohprotein TM einen niedrigen Proteingehalt. Zuckerrübenschnitzel und Guar

in der Diät führten zu einem signifikant höheren Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Kot der Hunde ( $p = 0,02$ ).

Diese Beobachtung konnte in der Studie von Kröger et al. (2017) bestätigt werden, in der Zuckerrübenschnitzel im Vergleich zu Lignocellulose bei Hunden eine signifikant höhere Menge an fäkalen kurzkettigen Fettsäuren hervorrief ( $p \leq 0,05$ ).

Somit liegen die Ergebnisse vorliegender Studie in Übereinstimmung mit weiteren Studien, in denen ebenfalls fermentierbare Faserquellen im Vergleich zu schwer fermentierbaren Faserstoffen einen Anstieg der fäkalen Konzentration kurzkettiger Fettsäuren bei Hunden hatten (Middelbos et al., 2007; Bosch et al., 2009; Maria et al., 2017). Auch in einem in-vitro Versuch, erzeugte die Fermentation von Karottentrestern mit fäkalem Inokulum gesunder adulter Hunde im Vergleich zu anderen Gemüse- und Obstrestern die größte Menge an kurzkettigen Fettsäuren (Swanson et al., 2001).

Das mengenmäßige Verhältnis von Acetat:Propionat:Butyrat der vorliegenden Studie ist in Übereinstimmung mit vorigen Untersuchungen in vivo (Middelbos et al., 2007; Bosch et al., 2009; Kröger et al., 2017) und in vitro (Sunvold et al., 1995b; Swanson et al., 2001).

### 5.3.3.3 Biogene Amine

Die untersuchten biogenen Amine Putrescin, Histamin, Cadaverin und Tyramin entstehen durch die mikrobielle Decarboxylierung (Blachier et al., 2007; Prester, 2011) der Aminosäuren Ornithin, Histidin, Lysin und Tyramin (Pegg, 2013). Spermidin kann aus Putrescin gebildet werden und aus Spermidin kann wiederum Spermin entstehen (Larque et al., 2007; Prester, 2011; Pegg, 2013).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die Diäten mit einem Rohproteingehalt von 40 % (Diäten B und D) eine statistisch signifikant höhere Gesamtmenge an biogenen Aminen im Kot der Hunde hervorriefen ( $p \leq 0,001$ ). Die höchste Konzentration ergab sich für Diät D, welche 40 % Rohprotein und Karottentrestern als Faserquelle enthielt.

In einer Studie von Barry et al. (2009) konnte keine Änderung der Konzentration fäkaler biogener Amine im Kot von Hunden beobachtet werden. Sie fütterten einen Rohproteingehalt von 30,5 – 31,2 % TM und gaben zusätzlich 0,2 bzw. 0,4 % Zellulose, Inulin und kurzkettige Fructooligosaccharide zu den Versuchsdiäten dazu. Bei der Interpretation der Daten sollte hier beachtet werden, dass sich die Rohproteingehalte der Diäten nicht stark voneinander unterscheiden und die finalen Daten in der Publikation nicht gezeigt werden. Auch bei Faber et al. (2011) konnte keine Änderung der Konzentration biogener Amine im Kot bei Hunden durch diätetische Maßnahmen erzielt werden. Den Versuchsdiäten wurde bis zu 8%

Galactoglucomannanligosaccharide beigefügt. Auch hier lag der Rohproteingehalt ähnlich wie bei der Studie von Barry et al. (2009) zwischen 31,1 – 32,5 % TM. Bei Urrego et al. (2017) wurden Diäten mit verschiedenen Proteinquellen (Geflügelmehl, Weizenkleber, Geflügelmehl & Weizenkleber, Geflügelmehl & Weizenkleber & hydrolysiertes Protein) bei konstantem Proteingehalt an acht Französische Bulldoggen gefüttert. Es konnten für die bakteriellen Metabolite, wie beispielsweise biogene Amine, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diäten festgestellt werden.

Es lässt sich daraus ableiten, dass eine gewisse Proteinmenge in der Diät bei Hunden notwendig zu sein scheint, um einen Anstieg der fäkalen Konzentration an biogenen Aminen detektieren zu können.

Weiterhin scheint auch das Alter eine gewisse Rolle zu spielen. So war in einer Studie von Maria et al. (2017) die fäkale Menge an Putrescin, Cadaverin und Spermin bei den älteren Versuchshunden ( $p \leq 0,05$ ) im Vergleich zu jüngeren signifikant erhöht ( $p \leq 0,05$ ), jedoch unabhängig von der Diät. In vorliegender Studie hingegen konnte ein statistisch signifikanter Einfluss des Proteins für die fäkale Konzentration von Putrescin ( $p \leq 0,002$ ), Spermin ( $p \leq 0,003$ ) und Spermidin ( $p \leq 0,006$ ) ermittelt werden. Vergleicht man in der Studie von Maria et al. (2017) die untersuchten Faserquellen, führte Sojabohnenmehl im Vergleich zu Zuckerrohr und Rübenschnitzel zu einer signifikant höheren Menge Spermidin im Kot ( $p \leq 0,05$ ).

### 5.3.3.4 Ammonium

Durch mikrobielle Fermentationsprozesse entstehen im Dickdarm durch den Proteinabbau Endprodukte wie z.B. Ammoniak bzw. Ammonium (Zentek, 2016), wobei bei einem pH-Wert von 7 Ammoniak fast ausschließlich als Ammonium vorliegt.

In der vorliegenden Studie führte ein erhöhter Rohproteingehalt der Versuchsdiäten zu einer Erhöhung der Ammoniumkonzentration im Kot der Hunde. Dieses Ergebnis ist plausibel und deckt sich mit Ergebnissen anderer Studien bei Hunden (Nery et al., 2012; Hang et al., 2013; Pinna et al., 2016).

In der Studie von Nery et al. (2012) wurden Diäten mit verschiedenen Proteinquellen (Weizenkleber und Geflügelmehl) und -konzentrationen (21,4 - 39,2 % TM) an Hunde gefüttert. Unabhängig der Proteinquelle, hatten Hunde die mit größeren Proteinmengen gefüttert wurden eine höhere Ammoniumkonzentration im Kot.

Beim Vergleich der Proteinquellen zeigte sich eine vermehrte Menge an fäkalem Ammonium für Geflügelmehl. Da bei vorliegender Studie die Proteinquellen in den fünf Versuchsdiäten

konstant war, ist davon auszugehen, dass die Beeinflussung der fäkalen Ammoniumkonzentration durch den Proteingehalt zustande kam.

Dies konnte auch in der Studie von Hang et al. (2013) gezeigt werden. Hier konnte die proteinreiche Versuchsdät im Vergleich mit einer stärkereichen Diät einen vermehrten Anstieg an fäkalem Ammonium bei Hunden hervorrufen.

In der Studie von Zentek et al. (2004) wurden Diäten mit verschiedenen Proteinquellen (Rind und Geflügel) je als Trocken- und Nassfutter an Hunde gefüttert. Der Rohproteingehalt der Versuchsdäten lag zwischen 376 und 438 g/100 g TM. Der fäkale Ammoniumgehalt wurde nicht signifikant beeinflusst, numerisch höhere fäkale Konzentrationen hatten die beiden Nassfutterdiäten. Somit lässt sich schlussfolgern, dass bei ähnlichem Rohproteingehalt die Verarbeitungsform (Nass-oder Trockenfutter) eine Rolle spielt.

Auch Faserstoffe können einen Einfluss auf die fäkale Ammoniumkonzentration haben. Die Zulage von Laktulose und Mannanooligosacchariden hatte eine Abnahme von Ammonium im Hundekot zur Folge (Zentek et al., 2002b). Bei Barry et al. (2009) hatte die Zulage von 0,2 bzw. 0,4 % Zellulose, Inulin und kurzkettige Fructooligosaccharide keine Auswirkung auf den analysierten Ammoniumgehalt im Kot der Versuchshunde. Allerdings ist hier zu bedenken, dass der Rohproteingehalt mit 30,5 – 31,2 % TM niedriger lag als im Vergleich zu anderen Studien.

Auch bei Hesta et al. (2003) konnte die Supplementierung von 3 % Fructooligosacchariden bzw. Isomaltooligosacchariden zu einer proteinreichen Diät keine signifikante Reduzierung des Ammoniumgehaltes im Kot von Hunden erzielen.

In der Studie von Kröger et al. (2017) konnten keine Unterschiede zwischen den fäkalen Ammoniumkonzentrationen beschrieben werden. Es wurden Lignocellulose und Zuckerrübenschnitzel bei recht konstantem Proteingehalt (27,4 – 28,3 %TM) verfüttert. Bei Silvio et al. (2000) lag die ileale Ammoniumkonzentration höher bei Hunden, die Zellulose in der Diät hatten als diejenigen, welche mit Pektin als Faserquelle gefüttert wurden. Die Autoren erklärten dies durch eine eventuell höhere Proteinfermentation, da Zellulose selbst nur wenig fermentierbar ist. Bei einem Vergleich dieser Ergebnisse gilt es zu beachten, dass in dieser Studie den Versuchshunden eine ileale T-Fistel gesetzt wurde und Kotproben somit aus dem Ileum genommen werden konnten.

Zusammenfassend kann aufgrund vorliegender Ergebnissen vermutet werden, dass der Einsatz der proteinreichen Versuchsdäten zu einer vermehrten metabolischen Aktivität der peptidolytischen Mikrobiota bei Hunden geführt hat.

### 5.3.3.5 Phenol und Indol

Abbauprodukte des Protein- bzw. Aminosäurestoffwechsels wie Ammonium und Phenole können die parazelluläre Permeabilität stören und somit die Barrierefunktion von Epithelien beeinträchtigen (Hughes et al., 2008). Vor allem beim Abbau aromatischer Aminosäuren im Dünndarm entstehen Phenol -und Indolverbindungen (Blachier et al., 2007). So wird Tyrosin zu Phenol, p-Cresol und 4-Ethylphenol umgebaut (Bone et al., 1976).

Bei der vorliegenden Untersuchung konnte keine Beeinflussung der Versuchsdiäten für die Parameter Phenol, Indol, p-Cresol, 4-Ethylphenol und 7-Methylphenol beobachtet werden. Ein Trend zur Beeinflussung durch den Proteingehalt ergab sich für den Parameter Phenol ( $p \leq 0,080$ ).

In der Studie von Barry et al. (2009) konnte durch die Versuchsdiäten bei Hunden ebenfalls kein Einfluss auf die Konzentration von Phenol und Indol erreicht werden. Der Proteingehalt der Diäten lag bei 30,5 – 31,2 % TM, es wurde zusätzlich mit 0,2 bzw. 0,4 % Inulin und Fructooligosacchariden supplementiert.

Konträr dazu konnte durch die Zulage von 1 g Fructooligosacchariden und 1 g einer Mischung aus Fructooligosacchariden und Mannanligosacchariden bei einem Rohproteingehalt von 36,8% TM eine signifikante Reduzierung von Phenolen und Indolen im Kot von Hunden erreicht werden ( $p \leq 0,05$ ) (Swanson et al., 2002b).

Auch Galactoglucomannanligosaccharide in einer Diät konnten bei Hunden eine signifikante Abnahme von Phenol ( $p \leq 0,05$ ) und Indol ( $p \leq 0,01$ ) im Kot hervorrufen (Faber et al., 2011).

Bei Nery et al. (2012) wurden verschiedene Proteinquellen in verschiedenen Konzentrationen an Hunde gefüttert. Unabhängig der Proteinkonzentration, konnte nach der Fütterung von Geflügelmehl eine höhere fäkale Konzentration von Indol ( $1,4 \pm 0,1 \mu\text{mol/g}$ ) detektiert werden als nach Fütterung von Weizenkleber ( $0,9 \pm 0,1 \mu\text{mol/g}$ ). Somit scheint nicht nur die Proteinmenge, sondern auch die Proteinquelle eine Rolle bei der Entstehung von Phenolen und Indolen zu spielen. Interessanterweise konnten zusätzlich signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Hunderassen gezeigt werden.

Insgesamt betrachtet ist es möglich, dass die Proteinkonzentration der in vorliegender Arbeit verwendeten Diäten zu niedrig war, um einen Anstieg der fäkalen Konzentration von Phenol und Indol zu erreichen.



### 5.3.4 Illumina 16sDNA-Sequenzierung

In der vorliegenden Studie wurde eine Adaptionsperiode von 14 Tagen durchgeführt, bevor die Kotproben gesammelt wurden. Diese Zeit wird auch von anderen Autor\*innen als angemessen erachtet, um der Mikrobiota ausreichend Zeit zu geben, sich an die neuen Faserstoffe zu adaptieren (Barry et al., 2009; Sandri et al., 2017). Somit ist davon auszugehen, dass die Ergebnisse der intestinalen mikrobiellen Zusammensetzung von diesem Gesichtspunkt her als aussagekräftig zu sehen sind.

Die in vorliegender Studie gewählte Illumina®-Sequenzierung überzeugt im Vergleich mit anderen vorhandenen Methoden, die intestinale bakterielle Zusammensetzung zu analysieren, mit vergleichsweise niedrigen Kosten (Liu et al., 2012; Schloss et al., 2016). Durch die Analyse des 16S rRNA-Gens, welches universell in allen Bakterien vorhanden ist, können Bakterien auf Genusebene identifiziert und miteinander verglichen werden (Clarridge, 2004). Es sollte bei der Betrachtung der Ergebnisse der Illumina®-Sequenzierung allerdings berücksichtigt werden, dass bei der Gesamtprobenzahl von n=50, Genera, welche insgesamt weniger als zehnmal identifiziert wurden, nicht in die statistische Auswertung einfließen.

*Firmicutes*, *Bacteroides* und *Fusobacteria* sind die vorherrschenden Bakteriengruppen im Darm des Hundes (Suchodolski, 2011a). Die jeweilige Abundanz einzelner Phyla, Ordnungen und Gattungen variiert zwischen den einzelnen Studien, welche die mikrobielle Zusammensetzung im Darm von Hunden (Suchodolski et al., 2008; Middelbos et al., 2010; Handl et al., 2011; Swanson et al., 2011) und Katzen (Ritchie et al., 2010) untersucht haben. Suchodolski (2011b, 2011a) ist der Auffassung, dass diese Diskrepanzen der Ergebnisse zwischen den Studien durch verschiedene DNA Extraktionsmethoden sowie unterschiedliche PCR Protokolle zustande kommen können.

Die Ergebnisse vorliegender Studie stimmen mit den Ergebnissen der Studie von Suchodolski et al. (2008) überein. Hier wurden verschiedene Ingestaprobe (Dünndarm, Jejunum, Ileum, Dickdarm) von sechs gesunden, zuvor euthanasierten Hunden entnommen und mittels 16S rRNA-Gensequenzanalyse auf ihre mikrobielle Zusammensetzung analysiert. Dabei konnten auf Ebene der Phyla folgende Hauptlinien identifiziert werden: *Firmicutes* (47.7%), *Proteobacteria* (23.3%), *Fusobacteria* (16.6%) und *Bacteroidetes* (12.4%).

In der vorliegenden Studie konnte ebenfalls das Phylum *Firmicutes* mit bis zu 48 % relativem Vorkommen als das häufigste Phylum beschrieben werden. Die übrigen Ergebnisse (*Bacteroidetes* (bis zu 28 %), *Fusobacteria* (bis zu 24,4 %), *Actinobacteria* (bis zu 4,33 %), *Proteobacteria* (bis zu 0,42 %)) weichen von der Studie von Suchodolski et al. (2008) teilweise etwas ab. Eine mögliche Erklärung ist, dass die in der vorliegenden Studie getesteten

## Diskussion

Versuchsdiäten einen Einfluss auf die intestinale mikrobielle Zusammensetzung hatten. Bei der Studie von Suchodolski et al. (2008) bleibt unklar, welche Diäten die Hunde vor der Probennahme erhalten hatten. Es ist lediglich beschrieben, dass keiner der Hunde bis einem Monat vor Probennahme ein Antibiotikum erhalten hatte, welches einen Effekt auf die intestinale mikrobielle Zusammensetzung gehabt haben könnte. Ein weiterer Aspekt könnte sein, dass die Versuchshunde vor der Probennahme über 24 Stunden gefastet wurden; es ist bisher nicht eindeutig geklärt, welchen Einfluss das auf die mikrobielle Zusammensetzung im Darm hat (Suchodolski et al., 2008). Auf der Ordnungsebene konnte in der Studie von Suchodolski et al. (2008) die größte Abundanz von *Clostridiales* im Dünndarm und Jejunum festgestellt werden, die Ordnungen *Fusobacteriales* sowie *Bacteroidales* wurden im Ileum und Dickdarm am häufigsten detektiert. Die hier genannten Ordnungen sind auch in vorliegender Studie am häufigsten detektiert worden, allerdings fand die Analyse hier nur in Kotproben statt und nicht wie bei Suchodolski et al. (2008) aus verschiedenen Darmabschnitten.

In der Studie von Swanson et al. (2011) wurden Hunde mit einem Kontrollfutter (1,4 % TDF, ohne zusätzliche Faserquelle) und einem Versuchsfutter (4,5 % TDF, durch Rübenschnitzel) gefüttert. Nach einer zehntägigen Adaptationsperiode wurden frische Kotproben von jedem Hund genommen und auf dessen mikrobielle Zusammensetzung analysiert. Die Ergebnisse zeigen, dass bei den Hunden, die mit der Versuchsdiät gefüttert wurden, vermehrt die Phyla *Bacteroidetes* und *Firmicutes* im Kot detektiert wurden. Auch in vorliegender Studie hatten die Hunde nach Fütterung der Diäten mit der fermentierbaren Faserquelle Karottentrester eine größere Menge an *Bacteroidetes* und *Firmicutes* im Kot.

Die relative Abundanz von *Lactobacillus* spp. und *Bifidobacterium* spp. wurde durch die Zugabe einer unlöslichen Faserquelle (Lignocellulose) gesenkt (Kröger et al., 2017). Dies konnte in vorliegender Studie so eindeutig nicht dargestellt werden. Für *Lactobacillus* spp. zeigte sich, dass sowohl der Faktor „Protein“ als auch die Faktoren „Faser“ und „Protein × Faser“ einen statistisch signifikanten Einfluss (je  $p \leq 0,004$ ) hatten. Die größte Abundanz im Kot war nach Fütterung der Diäten B und C zu finden. Da jedoch alle drei der getesteten Faktoren einen Einfluss auf das Ergebnis hatten, bleibt eine weitere Interpretation der Daten offen. Für die Gattung *Bifidobacterium* spp. hatte der Rohproteingehalt einen signifikanten Einfluss auf dessen Vorkommen im Kot der Versuchshunde ( $p \leq 0,007$ ), die Abundanz war signifikant höher bei Diäten mit geringerem Proteingehalt. Somit könnte der Rohproteingehalt der vorliegenden Studie (399 bzw. 409 Rp g/kg TS) einen größeren Einfluss gehabt haben als der Rohproteingehalt der Studie von Kröger et al. (2017) mit 274 – 283 Rp g/kg TM.

Die Gattung *Bifidobacterium* spp. konnte in vorliegender Studie nach dem Verfüttern aller Versuchsdiäten im Kot der Hunde nachgewiesen werden. Konträr dazu konnte diese Gattung im Kot der gesunden Versuchshunde in der Studie von Suchodolski et al. (2008) nicht gefunden werden. Laut diesen Autoren ist das Detektieren von *Bifidobacterium* spp. bei

Hunden bisher noch nicht in jeder Studie konsistent gelungen. Bei Mentula et al. (2005a) konnte *Bifidobacterium* spp. in 64 % der untersuchten Kotproben von 22 Hunden gefunden werden.

Schmidt et al. (2018) untersuchten Fäzes von 27 durch BARF-ernährten und 19 kommerziell ernährten Hunden mittels Illumina® MiSeq-Analyse. Dabei nahmen die Hunde die „gebarft“ wurden, im Vergleich zur kommerziell gefütterten Gruppe signifikant mehr Rohprotein über die Nahrung auf und hatten vermehrt die Gattungen *Fusobacterium*, *Clostridium* und *Enterococcus* im Kot. Dies konnte so nicht in vorliegender Untersuchung festgestellt werden, jedoch lag der Rohproteingehalt der BARF-Diäten mit  $44,4 \pm 5,80$  % TM über dem der vorliegenden Studie. Übereinstimmend mit dieser Studie konnte in vorliegender Arbeit ebenfalls ein Anstieg der Konzentration an *Clostridium* spp. für Diäten mit höherem Proteingehalt ermittelt werden.

In vorliegender Studie wurde gezeigt, dass die Abundanz von *Bifidobacteriales* durch den Proteingehalt beeinflusst wurde. Diäten mit niedrigem Proteingehalt führten zum Anstieg dieser Ordnung. Dieses Ergebnis konnte ebenfalls von Schmidt et al. (2018) beobachtet werden, hier führten die proteinreichen BARF-Diäten zu einem Absinken von *Bifidobacteriales*. Numerisch lag in vorliegender Studie die höchste Konzentration von *Erysipelotrichales* bei der Referenzdiät vor. Auch bei Schmidt et al. (2018) hatten die Versuchshunde, die mit dem proteinärmeren kommerziellen Futter gefüttert wurden, signifikant niedrigere Konzentrationen an *Erysipelotrichales* im Kot ( $p = 0,003$ ).

Der Einfluss von Protein und Kohlenhydraten auf die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota bei Hunden konnte in der Studie von Li et al. (2017) dargestellt werden. Hunde wurden über 4 Wochen mit einer proteinreichen, kohlenhydratarmen Diät (49,4 % Rp, 10,9 % Kohlenhydrate) bzw. mit einer proteinarmen, kohlenhydratreichen Diät (25,5 % Rp, 38,8 % Kohlenhydrate) gefüttert. Die proteinreiche, kohlenhydratarme Diät führte zu einem fäkalen Anstieg von *Firmicutes*, das Phylum *Bacteroidetes* wurde abgesenkt. Das Phylum *Firmicutes* konnte auch in vorliegender Studie vermehrt detektiert werden, nachdem die Hunde die proteinreichen Diäten B und D gefressen hatten. Auch *Bacteroidetes* waren geringgradig weniger nachzuweisen, wenn diese Diäten gefüttert wurden.

Bei abschließender Betrachtung der Literatur bleibt festzustellen, dass weitere Studien wünschenswert sind, um dietätische Einflüsse auf die fäkale Mikrobiota beim Hund zu charakterisieren. Einige der in vorliegender Arbeit analysierten Bakterien auf Ordnungs- bzw. Gattungsebene werden in anderen Studien nicht analysiert, sodass die Interpretation der hier erhobenen Daten erschwert bzw. nicht möglich ist.

### 5.3.5 Visualisierungen der fäkalen Mikrobiota mittels Dendrogramm, „Heatmap“ und Balkendiagramm

Das Dendrogramm zur Verteilung der fäkalen Mikrobiota stellt eine Visualisierung der Daten in der Form eines bakteriellen „Fingerabdrucks“ auf Genusebene dar. Die Veranschaulichung macht deutlich, dass die Diäten mit 40 % Rohprotein eine andere Verteilung darstellten als die Versuchsdiäten mit 20 % Rohprotein. An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass Dendrogramme lediglich der Übersicht über gewisse Gruppierungen (hier der fäkalen Mikrobiota) dienen und keinerlei statistische Aussagen zulassen.

Bei der Darstellung eines Dendrogramms nach Sortierung nach einzelnen Hunden fiel ein Tier besonders auf (Daten nicht gezeigt). Die fäkale Mikrobiota von Hund „Phoebe“ verteilte sich unabhängig von der gefütterten Diät in unterschiedlichen Clustern. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass einzelne Tiere unterschiedlich bzw. nicht auf die Versuchsdiäten reagieren.

Die „Heatmap“ zeigt die Verteilung der bakteriellen Genera der einzelnen Hunde abhängig von den Diäten A-D. Die Referenzdiät E wurde hierbei nicht berücksichtigt, da diese durch die Mischung beider Faserquellen in geringerer Konzentration schwer vergleichbar ist. Es wird veranschaulicht, dass die Genera *Clostridium*, *Bacteroides* und *Fusobacterium* am häufigsten im Kot der Versuchshunde nachgewiesen wurden. Dies ist in Übereinstimmung mit der Studie von Mentula et al. (2005b), in welcher die genannten Genera im Kot von 22 Beagle ebenfalls am häufigsten detektiert wurden. Das gleiche Ergebnis wird von Abbildung 4 in Form eines Balkendiagramms visualisiert. In Abbildung 5 wurde die fäkale Mikrobiota nach dem Proteingehalt der Diäten dargestellt, wobei die Gattungen *Clostridium*, *Faecalibacterium* und geringgradig *Blautia* mit einer höheren Abundanz vertreten waren nach Fütterung der Diäten mit 40 % Rp. In der Studie von Schmidt et al. (2018) wurden nach Fütterung proteinreicher BARF-Diäten hauptsächlich die Genera *Clostridium* ( $p = 0,003$ ), *Cellvibrio* ( $p \leq 0,0001$ ), *Carnobacterium* ( $p = 0,005$ ) und *Methanobrevibacter* ( $p = 0,007$ ) im Kot von Hunden gefunden. Interessanterweise wurde das Genus *Faecalibacterium* statistisch signifikant höher in der Kontrollgruppe detektiert ( $p = 0,002$ ). Allerdings bleibt zu beachten, dass allen in die Studie einbezogenen Hunden sowohl in der Versuchs- als auch Kontrollgruppe Diäten unterschiedlicher Zusammensetzung durch ihre Besitzer gefüttert wurden. Dadurch wird die Vergleichbarkeit erschwert. Der mittlere Proteingehalt der Diäten der Kontrollgruppe wird bei Schmidt et al. (2018) mit  $30,45 \pm 9,61$  % TM angegeben und liegt damit im mittleren Bereich der für die vorliegende Studie verwendeten Proteingehalte.

An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass sowohl die „Heatmap“ als auch die Balkendiagramme lediglich der Veranschaulichung der erhobenen Daten dienen und nicht zu statistische Aussagen herangezogen werden sollten.

### 5.3.6 Beurteilung der Parameter in Harn und Blut

#### 5.3.6.1 Harnstoff und Kreatinin im Blut

In vorliegender Studie war Harnstoff signifikant höher bei Diäten mit höherem Proteingehalt ( $p \leq 0,001$ ). Dies stimmt mit Studien an Hunden (Davenport et al., 1994; Steinbach et al., 2010; Zentek, 2016) überein. Wenige Studien untersuchten allerdings an Hunden die Auswirkungen löslicher und unlöslicher Faserstoffen auf den postprandialen Harnstoffgehalt im Blut.

In einer Studie von Martins et al. (2014) wurden Diäten mit Bierhefe und Zuckerrohr an Hunde verfüttert, wobei kein Unterschied in den postprandialen Harnstoffgehalten im Blut festgestellt werden konnte. Der Rohproteingehalt der Diäten lag zwischen 29,7 - 30,4 % TM und somit unterhalb der Rohproteingehalte der Diäten B und D, welche in vorliegender Studie einen Einfluss auf die postprandialen Harnstoffgehalte im Blut zeigten. Ebenfalls hatten in der Studie von Wambacq et al. (2016) die Diäten (Zellulose oder eine Mischung aus Zuckerrübenschnitzel und Guar) keine Auswirkung auf den Harnstoffgehalt im Blut bei Hunden. Allerdings gilt es auch hier bei der Interpretation zu beachten, dass der Rohproteingehalt der Diäten mit 16,6 bzw. 16,7 % TM gering war.

Kreatinin entsteht bei einer non-enzymatischen Reaktion aus Phosphokreatin und Kreatin (Braun et al., 2003). Kreatin wird, zusätzlich zur endogenen Synthese, auch über die Nahrung aufgenommen (Dobenecker und Braun, 2015). Laut einer Studie von Dobenecker und Braun (2015) nehmen Hunde durch Trockenfutter weniger Kreatin mit der Nahrung auf im Vergleich zu Nassfutter oder unverarbeiteten Futtermitteln.

Die Ergebnisse der hier durchgeführten Studie zeigen eine numerische Erhöhung von Kreatinin für die Diäten mit 40 % Protein. Da Kreatinin, anders als Harnstoff, als weitgehend unabhängig von der Nahrung erachtet wird, sind die Ergebnisse der vorliegenden Studie plausibel.

Insgesamt betrachtet, hatten die in dieser Studie verwendeten Faserstoffe sowie andere Faserstoffe aus anderen Studien keinen Einfluss auf die Harnstoffgehalte im Blut. Der Proteingehalt scheint hier den einzigen Einfluss zu haben.

#### 5.3.6.2 Harnstoff und Kreatinin im Harn

In einer vorangegangenen Studie hatten Hunde eine höhere Menge an Harnstoff und Kreatinin im Harn, nachdem ihrer Diät Apfelpektin zugefügt wurde (Zentek, 1996). Die Exkretion war in der gleichen Untersuchung niedriger für Zellulose und Guar. Es gilt jedoch zu berücksichtigen,

dass die Diät mit Pektin einen geringgradig höheren Rohproteingehalt (45,4 % TM) hatte als die Diäten mit Guar (44,9 % TM) und Zellulose (43,5 % TM).

Dem gegenüber stehen Ergebnisse der Studie von Zentek und Meyer (1993). Hier konnte der Harnstoffgehalt bei Hunden im Harn durch das Versuchsfutter (30 % granuliert Möhren, Rohprotein: 181 g/kg TS) im Gegensatz zum Kontrollfutter (Rohprotein: 220 g/kg TS) reduziert werden ( $p \leq 0,05$ ).

In vorliegender Studie konnten signifikant höhere Mengen an Harnstoff im Harn der Hunde gemessen werden, nachdem sie mit den beiden proteinreichen Diäten gefüttert wurden ( $p \leq 0,001$ ). Es konnte gezeigt werden, dass die Faktoren „Protein“ ( $p \leq 0,001$ ), „Faser“ ( $p \leq 0,002$ ) als auch für die Kombination aus „Protein  $\times$  Faser“ ( $p \leq 0,029$ ) eine signifikante Beeinflussung hervorriefen. Somit ist nicht eindeutig zu klären, ob Proteinmenge, Faserquelle oder die Kombination den entscheidenden Einfluss auf die renale Harnstoffausscheidung hatte.

Auch für den Parameter Kreatinin konnte ein statistisch signifikanter Einfluss der Fütterung festgehalten werden ( $p \leq 0,002$ ). Die numerisch größte Konzentration an Harnstoff und Kreatinin im Harn wurde für Diät D gemessen.

Ein weitgehender Konsens besteht darin, dass die renale Kreatininausscheidung konstant ist und nicht, wie die Konzentration im Plasma, von der Muskelmasse des Tieres abhängt (Braun et al., 2003). Jedoch zeigt die Studienlage, dass die renal ausgeschiedene Kreatininmenge bei Hunden nach einer proteinhaltigen Mahlzeit ansteigt (O'Connor und Summerill, 1976; Uechi et al., 1994) oder zumindest dadurch nicht beeinflusst werden kann (Polzin et al., 1991).

### 5.3.6.3 Indican im Harn

Indican entsteht durch den Abbau von Tryptophan. Dabei wird die Aminosäure Tryptophan zu Indol reduziert, welches absorbiert, in der Leber konjugiert und als Indican mit dem Harn ausgeschieden wird (Michael et al., 1964). Ein Anstieg von Indican im Harn ist assoziiert mit einer Erhöhung von *Enterobacteriaceae*, hier wird vor allem *Escherichia coli* eine Tryptophanaseaktivität zugeschrieben (Zentek, 1996).

Die Ergebnisse der aktuellen Studie konnten zeigen, dass die Fütterung der Versuchsdieten einen statistisch signifikanten Einfluss auf den Parameter Indican hatte ( $p \leq 0,038$ ). Es zeichnete sich ein Trend für die Kombination „Protein  $\times$  Faser“ ab ( $p \leq 0,068$ ). In vorliegender Studie hatte Diät C (Karottentrester und 20 % Protein) im Vergleich mit den anderen Diäten die niedrigste Indicankonzentration im Harn. Auch in einer Studie von Zentek und Meyer

(1993) wurde der Einsatz von getrockneten, granulierten Möhren (30 % Zulage in den Diäten) bei Hunden geprüft. Durch die Supplementierung mit Möhren konnte die renale Ausscheidung von Indican, bei weitgehend ausgeglichener Tryptophanaufnahme, signifikant vermindert werden ( $p \leq 0,005$ ).

In einer anderen Studie hatten Mannanoligosaccharide, Transgalactooligosaccharide, Laktose und Laktulose (je 1 g/kg KM/d) keinen Einfluss auf den Indicangehalt im Harn bei Hunden (Zentek et al., 2002b). Der Rohproteingehalt lag bei 36,6 % TM und ist somit ähnlich dem Rohproteingehalt der in vorliegender Studie verwendeten Diäten B und D. Eine andere Studie von Zentek et al. (2002a) verglich die Auswirkung von Dosenfutter, welche sich im Feuchte- und Guargehalt unterschieden, mit einem extrudierten Trockenalleinfutter auf verdauungsphysiologische Parameter bei drei Hunderassen. Dabei lagen die Proteingehalte der vier getesteten Dosenfutter zwischen 27,6 und 28,1 % TM und der des Trockenfutters bei 28,3 % TM. Somit konnte eine Beeinflussung durch unterschiedliche Proteingehalte bei diesem Versuch nahezu ausgeschlossen werden. Interessanterweise hatten Hunde nach Fütterung mit Dosenfutter signifikant höhere Indicanwerte im Harn ( $11,9 \pm 2,7 - 16,7 \pm 6,2 \mu\text{mol/kg KM/d}$ ) im Vergleich nach einer Fütterung mit einem Trockenfutter ( $7,7 \pm 3,4 \mu\text{mol/kg KM/d}$ ). Da Guar und der Wassergehalt jedoch keinen signifikanten Einfluss auf alle verdauungsphysiologischen Ergebnisse nahmen, diskutierten die Autoren einen nicht unerheblichen Einfluss der Proteinmenge und dessen Qualität.

Die Studie von Zentek (1996) zeigte, dass die löslichen Faserstoffe (Apfelpektin und Guar) im Gegensatz zur unlöslichen Faserquelle Zellulose einen signifikant höheren Indicangehalt im Harn bei Hunden zur Folge hatte. Diese vermehrte Exkretion von Indican wurde durch einen höheren Metabolismus der intestinalen Mikrobiota nach Fütterung fermentierbarer Faserstoffe erklärt.

Die Ergebnisse vorliegender Arbeit lassen vermuten, dass Karottentrester die Indicanwerte im Harn senken kann.

### 5.3.6.4 Phenol und Indol im Harn

Für Phenole und Indole konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsdiäten festgestellt werden, für den Parameter 7-Methylindol lag ein Trend ( $p \leq 0,087$ ) für den Faktor „Protein“ vor.

Bei Zentek und Meyer (1993) hatte das Versuchsfutter der Versuchshunde, welches Möhren enthielt, eine signifikante Reduzierung von Phenol im Harn zur Folge ( $p \leq 0,05$ ). Indol konnte nicht in jeder Harnprobe nachgewiesen werden (Versuchs- und Kontrollfutter), sodass eine Interpretation hierfür nicht möglich ist.

In der Studie von Nery et al. (2012) wurden Hunde mit verschiedenen Proteinquellen und variierenden Proteinmengen gefüttert. Dabei hatte die Proteinquelle einen hoch signifikanten Einfluss auf die renale Phenolausscheidung ( $p \leq 0,001$ ). Die Diät mit Geflügelmehl hatte eine höhere Phenolkonzentration im Harn als Diäten mit Weizenkleber. Aber auch die Proteinmenge hatte einen ähnlich statistisch signifikanten Einfluss ( $p = 0,001$ ), indem nach Fütterung der proteinreichen Diäten vermehrt Phenol im Harn gemessen wurde. Auch für die renale Exkretion von Indol zeigte sich durch Geflügelmehl ein statistisch signifikanter Einfluss, indem diese Proteinquelle wie bei Phenol zu einer vermehrten Exkretion von Indol führte ( $p \leq 0,038$ ). Für Diäten mit hohem Rohproteingehalt (38,2 - 39,2 % TM) konnte ein Trend ( $p \leq 0,087$ ) dargestellt werden, die Fütterung dieser erhöhte die Indolkonzentration im Harn. Da diese Studie mit verschiedenen Hunderassen durchgeführt wurde, konnten dadurch etwaige Rasseunterschiede verglichen werden. Für die renale Phenolexkretion wurde beobachtet, dass Deutsche Schäferhunde eine höhere Ausscheidung hatten im Vergleich mit Schnauzern, Jack Russell und Zwergpudeln. Indol wurde über den Harn vermehrt durch kleinere Rassen ausgeschieden.

Somit ist es nach Prüfung der Literatur denkbar, dass in der vorliegenden Studie die Proteinquelle Geflügelmehl einen Einfluss hatte, da zumindest für 7-Methylindol ein Trend zur Beeinflussung durch den Faktor „Protein“ bestand.

### 5.3.6.5 Osmolalität und pH- Wert im Harn

Die Osmolalität wird im Harn gemessen um die Fähigkeit der Harnkonzentration durch die Nieren zu testen, wobei die Tageszeit der Probennahme, das Alter der Hunde (van Vonderen et al., 1997), die Lagerdauer sowie die Gefriertemperatur der Lagerung (Reinhart et al., 2016) einen Einfluss auf das Messergebnis der Osmolalität zu haben scheinen.

Die Werte der Osmolalität der vorliegenden Studie liegen zwischen 408 – 1018 mosmol/kg und sind damit übereinstimmend mit Angaben aus der Literatur für Hunde (Rubin, 1996; van Vonderen et al., 1997). Nach Auffassung von van Vonderen et al. (1997) ist es jedoch schwierig, Referenzwerte anzugeben, da starke interindividuelle Unterschiede bei Hunden beobachtet wurden. In der Studie von van Vonderen et al. (1997) konnte kein Einfluss der Nahrung auf die Osmolalität im Harn der 89 teilnehmenden Hunde festgestellt werden. Allerdings bleibt unklar, wie die Hunde gefüttert wurden bzw. wie hoch der Rohproteingehalt in der Nahrung war. In der vorliegenden Untersuchung konnten signifikante Unterschiede für die Osmolalität im Harn gezeigt werden ( $p \leq 0,001$ ). Der Faktor „Protein“ hatte dabei einen hoch signifikanten Einfluss ( $p \leq 0,001$ ). Die proteinreichen Diäten zeigten in vorliegender



Studie eine höhere Osmolalität. Der pH- Wert unterschied sich nicht statistisch signifikant in der vorliegenden Studie.

### 5.3.6.6 Korrelationen von Kreatinin zu den anderen analysierten Harnparametern

In vorliegender Arbeit wurde auf die Sammlung von Harn mittels Stoffwechsellkäfig verzichtet. Dadurch lag für die Analyse der Harnparameter kein 24-Stunden-Sammelharn vor, sondern lediglich Stichproben durch Auffangen des Spontanharns. Es wurde angenommen, dass Kreatinin renal weitgehend unabhängig von der Nahrung ausgeschieden wird und somit eine Normalisierung der gemessenen Harnparameter durch Kreatinin erfolgen kann, welche die Interpretation der Ergebnisse erleichtern soll. Jedoch zeigt Abbildung 10 deutlich, dass die Normalisierung durch Kreatinin nicht geeignet ist, da Kreatinin in vorliegender Studie durch den Proteingehalt beeinflusst wurde. Dies konnte auch in der Studie von O'Connor und Summerill (1976) dargestellt werden. In dieser Studie verursachten 10 g/kg Protein (in Form einer Fleischmahlzeit) bei Hunden einen Anstieg der Kreatinin Clearance um 40%.

### 5.3.6.7 Natrium und Kalium zur Abschätzung des Gesamtharnvolumens und Berechnung der theoretisch ausgeschiedenen Menge anderer Harnparameter

In vorliegender Arbeit wurde das theoretisch ausgeschiedene Harnvolumen/Hund/Tag ermittelt, da in dieser Studie kein Sammelharn über 24 Stunden vorlag. Nach Mizéhoun-Adissoda et al. (2016) und Jędrusik et al. (2017) ist es beim Menschen möglich, aufgrund von Kalium (gemessen im Spontanharn) die ausgeschiedene Kaliummenge im 24 Stunden Sammelharn abzuschätzen. Daher wurde für vorliegende Arbeit Kalium aus den Proben des Spontanharns für die Berechnung des theoretischen 24 Stunden Harnvolumens herangezogen. Die daraus berechneten hypothetischen Harnvolumina liegen jedoch über der physiologischen produzierten Harnmenge eines Hundes (20 – 50 ml/kg KM/Tag).

Nach der Berechnung der theoretisch ausgeschiedenen Gesamtmenge einzelner Harnparameter wurden für Harnstoff höhere Werte nach Fütterung der proteinreichen Diäten gefunden. Dies kann allerdings nicht abschließend beurteilt werden, da dies mit der ausgeschiedenen Menge im 24 Stunden Sammelharn verglichen werden müsste.

Jedoch sollten zur abschließenden Klärung der Frage, ob Kalium im Spontanharn des Hundes geeignet ist dessen Exkretion im 24 Stunden Gesamtharn abzuschätzen, weitere Studien erfolgen. Dabei sollte sowohl Kalium im Spontanharn als auch im 24 Stunden Sammelharn gemessen und verglichen werden.

### 5.4 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse der Studie belegen, dass die Versuchsdiäten Einflüsse auf verdauungsphysiologische Parameter wie die scheinbaren Verdaulichkeiten, bakteriellen Metabolite, intestinale Zusammensetzung der Mikrobiota sowie Parameter des Proteinmetabolismus in Harn und Blut hatten. Dabei spielte sowohl die Proteinkonzentration als auch die Faserquelle eine entscheidende Rolle. Biertreber und Karottentrester zeigten keinerlei Hinweise auf Unverträglichkeiten, sodass der Einsatz dieser Faserquellen in der Hundeernährung gut möglich ist.

In zukünftigen Studien wäre es interessant, die Auswirkungen dieser Diäten auf immunologische Parameter zu betrachten.

## 6 Zusammenfassung

Eisenhauer, Anne Laura:

### **Effekte von Diäten mit unterschiedlichen Proteingehalten und Faserstoffen auf verdauungsphysiologische Parameter beim Hund**

Ziel der vorliegenden Studie war es, Effekte von Versuchsdiäten mit zwei unterschiedlichen Proteingehalten in Kombination mit zwei unterschiedlich fermentierbaren Faserstoffen (Biertreber, Karottentrester) auf verdauungsphysiologische Parameter bei Hunden zu untersuchen. In einem Fütterungsversuch wurden fünf Versuchsdiäten (je 20 oder 40 % Rohprotein mit Biertreber oder Karottentrester und eine Referenzdiät mit beiden Faserquellen in geringerer Konzentration und 20% Rohprotein) in einem cross-over Design über je 21 Tage an 10 Beagle gefüttert. Nach einer Adaptationsphase von 14 Tagen wurden Blut-, Harn- und Kotproben genommen. Die Blut- und Harnproben wurden auf Parameter des Proteinmetabolismus analysiert, weiterhin wurden die scheinbaren Gesamtverdaulichkeiten der Rohnährstoffe und der Mengen- und Spurenelemente ermittelt. In den Kotproben wurden ebenfalls Analysen zur Bestimmung bakterieller Metabolite durchgeführt und die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota ermittelt.

Die Versuchsdiäten hatten keinen Einfluss auf den fäkalen pH-Wert und die Kotkonsistenz. Für die fäkale Trockenmasse zeigten sich jedoch Unterschiede, wobei Diäten mit Biertreber eine höhere fäkale Trockenmasse zur Folge hatten. Bei den scheinbaren Verdaulichkeiten ergab sich ein Einfluss für Rohfett, hier führte Biertreber zu einer niedrigeren Verdaulichkeit. Für die Mengenelemente zeigten sich diätetische Einflüsse für Phosphor, Karottentrester führte hier zu einer höheren Verdaulichkeit. Bei Natrium hatte die Proteinmenge einen Einfluss, wobei Diäten mit einem höheren Proteingehalt eine höhere Verdaulichkeit zeigten, allerdings hatte die Referenzdiät mit 20 % Protein die höchste Verdaulichkeit von Natrium. Sowohl die Proteinmenge als auch die Faserquelle hatten einen Einfluss auf die Verdaulichkeit von Magnesium, Karottentrester führte zu höheren Verdaulichkeiten. Bei den Spurenelementen hatten sowohl die Proteinmenge als auch die Kombination aus Proteinmenge und Faserquelle Einflüsse auf die Verdaulichkeit von Kupfer, die höchste Verdaulichkeit konnte für die Referenzdiät festgestellt werden. Die Untersuchung der bakteriellen Metabolite ergab fütterungsbedingte Unterschiede durch die Proteinmenge für Laktat, biogene Amine und Ammonium. Für Karottentrester in den Diäten ergaben sich höhere fäkale Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren. Die fäkale Konzentration von Phenol und Indol wurde hingegen durch die Fütterung nicht verändert. Fütterungsbedingte Einflüsse wurden für das Phylum *Firmicutes*

## Zusammenfassung

detektiert, welches vermehrt in Diäten mit höherem Proteingehalt im Kot nachzuweisen war, wohingegen die Abundanz der Ordnung *Bifidobacteriales* größer war nach Fütterung der Diäten mit niedrigem Proteingehalt. Die Ordnung *Erysipelotrichales* war nach Fütterung der Referenzdiät erhöht und *Aeromonadales* war vermehrt nach Fütterung mit Diäten mit Biertreber als Faserquelle nachzuweisen. Das Vorkommen der Gattungen *Faecalibacterium* und *Lachnospira* im Kot war höher nach Fütterung der Versuchsdiäten mit Karottentrester, wohingegen die Gattungen *Phascolarctobacterium*, *Parabacteroides* und *Acidaminococcus* vermehrt nach Fütterung mit Versuchsdiäten mit Biertreber nachgewiesen wurden. Nach Füttern der Diäten mit niedrigem Proteingehalt lag eine vermehrte Abundanz der Gattung *Bifidobacterium* im Kot der Hunde vor.

Im Harn ergaben sich zwischen den Fütterungsgruppen Unterschiede für Harnstoff, Kreatinin, Indican und die Osmolalität, wobei eine höhere Proteinmenge in der Diät zu höheren Werten führte. Dies konnte ebenfalls für den Parameter Harnstoff im Blut beobachtet werden, Kreatinin im Blut wurde durch die Fütterung nicht beeinflusst. Es konnte zudem gezeigt werden, dass die Diäten mit 40 % Proteingehalt zu einer erhöhten renalen Kreatininausscheidung führten. Zusammenfassend betrachtet lässt sich feststellen, dass sowohl Biertreber als auch Karottentrester als Faserquellen in der Hundeernährung eingesetzt werden können. Ein moderater Proteingehalt ist nach vorliegender Untersuchung für Hunde am günstigsten, da dadurch weniger Proteinabbauprodukte entstehen, die schädliche Auswirkungen auf den Organismus haben können.

## 7 Summary

Eisenhauer, Anne Laura:

### **Effects of diets with different protein contents and fibre sources on digestive parameters in dogs**

The study aimed at determining the impact of experimental diets with two different protein contents in combination with two differently fermentable fiber sources (brewer's spent grain, carrot pomace) on digestive parameters in dogs. In a feeding trial, five different diets (in each case 20 or 40 % of crude protein and Brewer's spent grain or Carrot pomace and one reference diet with both fiber sources in a lower level and 20 % of crude protein) were fed each in a cross-over trial to 10 Beagles for 21 days. Blood, urinary and faecal samples were collected after an adaption period of 14 days. Parameters of the protein metabolism were measured based on blood and urinary samples. Furthermore, the apparent total tract digestibility of nutrients and minerals were determined. Faecal samples were also analysed for bacterial metabolites and the composition of the intestinal microbiota.

The experimental diets showed no effect on faecal pH or faecal consistency. Dietary effects were detected for faecal dry matter whereby diets with brewer's spent grain resulted in a higher faecal dry matter. There was an impact of the apparent digestibility for crude fat, the apparent digestibility was lower when diets with brewer's spent grain were fed. Dietary impacts could be observed for phosphorus, the diets with carrot pomace had a higher apparent digestibility. The protein content had the highest impact on sodium, diets with higher protein content showed higher apparent digestibilities. However, the reference diet with 20 % of crude protein had the highest apparent digestibility of sodium. Also for magnesium, the protein in a diet as well as the fiber source had an influence on its digestibility. The highest apparent digestibility for magnesium was observed for diets with carrot pomace. With regard to trace elements, the protein content as well as the combination of protein content and fiber source had effects on the apparent digestibility of copper, the highest apparent digestibility was identified for the reference diet. The investigation of bacterial metabolites revealed dietary differences due to the dietary protein content for lactate, biogenic amines and ammonia. Diets with carrot pomace resulted in a higher faecal concentration of short chain fatty acids. Faecal concentration of phenol and indole, however, was not influenced by the fed diets. Dietary effects were observed in the faecal samples for the phyla *Firmicutes* which was more abundant in faeces when dogs were fed diets with a higher protein content, whereas the abundance of *Bifidobacteriales* was

## Summary

higher after feeding diets with low protein content. The order *Erysipelotrichales* was increased after dogs were fed the reference diet and *Aeromonadales* were more abundant after feeding diets with brewer's spent grain. The occurrence of the genera *Faecalibacterium* and *Lachnospira* was increased after feeding the experimental diets containing carrot pomace, whereas *Phascolarctobacterium*, *Parabacteroides* and *Acidaminococcus* were predominantly present after feeding experimental diets containing brewer's spent grain. The abundance of *Bifidobacterium* in faecal samples was enhanced after feeding diets with low protein content. Dietary effects were identified for urea, creatinine, indican and osmolality in the urine, where a higher amount of protein in a diet lead to increased values. This was also observed for urea in the blood, whereas the creatinine content in the blood was not influenced by diet. Diets with 40 % of crude protein lead to a higher renal excretion of creatinine.

Summarising, it can be concluded that brewer's spent grain as well as carrot pomace may be employed as fiber sources in the nutrition of dogs. The present study revealed a moderate protein content as most suitable for dogs, as this results in less products of protein metabolism which could have harmful effects on the organism.

## 8 Literaturverzeichnis

Ainsworth, P., İbanođlu, Ő., Plunkett, A., İbanođlu, E., Stojceska, V., 2007. Effect of brewers spent grain addition and screw speed on the selected physical and nutritional properties of an extruded snack. *J Food Eng* 81, 702-709.

Antolova, D., Reiterova, K., Miterpakova, M., Dinkel, A., Dubinsky, P., 2009. The first finding of *Echinococcus multilocularis* in dogs in Slovakia: an emerging risk for spreading of infection. *Zoonoses Public Health* 56, 53-58.

Arendt, M., Cairns, K.M., Ballard, J.W., Savolainen, P., Axelsson, E., 2016. Diet adaptation in dog reflects spread of prehistoric agriculture. *Heredity (Edinb)* 117, 301-306.

Arendt, M., Fall, T., Lindblad-Toh, K., Axelsson, E., 2014. Amylase activity is associated with AMY2B copy numbers in dog: implications for dog domestication, diet and diabetes. *Anim Genet* 45, 716-722.

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D.R., Fernandes, G.R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., Kurokawa, K., Leclerc, M., Levenez, F., Manichanh, C., Nielsen, H.B., Nielsen, T., Pons, N., Poulain, J., Qin, J., Sicheritz-Ponten, T., Tims, S., Torrents, D., Ugarte, E., Zoetendal, E.G., Wang, J., Guarner, F., Pedersen, O., de Vos, W.M., Brunak, S., Dore, J., Antolin, M., Artiguenave, F., Blottiere, H.M., Almeida, M., Brechot, C., Cara, C., Chervaux, C., Cultrone, A., Delorme, C., Denariáz, G., Dervyn, R., Foerstner, K.U., Friss, C., van de Guchte, M., Guedon, E., Haimet, F., Huber, W., van Hylckama-Vlieg, J., Jamet, A., Juste, C., Kaci, G., Knol, J., Lakhdari, O., Layec, S., Le Roux, K., Maguin, E., Merieux, A., Melo Minardi, R., M'Rini, C., Muller, J., Oozeer, R., Parkhill, J., Renault, P., Rescigno, M., Sanchez, N., Sunagawa, S., Torrejon, A., Turner, K., Vandemeulebrouck, G., Varela, E., Winogradsky, Y., Zeller, G., Weissenbach, J., Ehrlich, S.D., Bork, P., 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473, 174-180.

Ashraf, W., Lof, J., Jin, G., Quigley, E.M.M., 1994. Comparative effects of intraduodenal psyllium and senna on canine small bowel motility. *Aliment Pharmacol Ther* 8, 329-336.

Asp, N.G., 1987. Dietary fibre--definition, chemistry and analytical determination. *Mol Aspects Med* 9, 17-29.

Aura, A.M., Niemi, P., Mattila, I., Niemela, K., Smeds, A., Tamminen, T., Faulds, C., Buchert, J., Poutanen, K., 2013. Release of small phenolic compounds from brewer's spent grain and its lignin fractions by human intestinal microbiota in vitro. *J Agric Food Chem* 61, 9744-9753.

Axelsson, E., Ratnakumar, A., Arendt, M.L., Maqbool, K., Webster, M.T., Perloski, M., Liberg, O., Arnemo, J.M., Hedhammar, A., Lindblad-Toh, K., 2013. The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet. *Nature* 495, 360-364.

## Literaturverzeichnis

- Barry, K.A., Hernot, D.C., Middelbos, I.S., Francis, C., Dunsford, B., Swanson, K.S., Fahey, G.C., Jr., 2009. Low-level fructan supplementation of dogs enhances nutrient digestion and modifies stool metabolite concentrations, but does not alter fecal microbiota populations. *J Anim Sci* 87, 3244-3252.
- Bednar, G.E., Murray, S.M., Patil, A.R., Flickinger, E.A., Merchen, N.R., Fahey, G.C., Jr., 2000. Selected animal and plant protein sources affect nutrient digestibility and fecal characteristics of ileally cannulated dogs. *Arch Tierernahr* 53, 127-140.
- Bednar, G.E., Patil, A.R., Murray, S.M., Grieshop, C.M., Merchen, N.R., Fahey, G.C., Jr., 2001. Starch and fiber fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability and their large bowel fermentability in vitro in a canine model. *J Nutr* 131, 276-286.
- Beloshapka, A.N., de Godoy, M.R., Detweiler, K.B., Newcomb, M., Ellegard, K.H., Fahey, G.C., Swanson, K.S., 2016. Apparent total tract macronutrient digestibility, fecal characteristics, and fecal fermentative end-product concentrations of healthy adult dogs fed bioprocessed soy protein. *J Anim Sci* 94, 3335-3342.
- Beloshapka, A.N., Dowd, S.E., Suchodolski, J.S., Steiner, J.M., Duclos, L., Swanson, K.S., 2013. Fecal microbial communities of healthy adult dogs fed raw meat-based diets with or without inulin or yeast cell wall extracts as assessed by 454 pyrosequencing. *FEMS Microbiol Ecol* 84, 532-541.
- Bierer, T.L., Bui, L.M., 2004. High-protein low-carbohydrate diets enhance weight loss in dogs. *J Nutr* 134, 2087s-2089s.
- Blachier, F., Mariotti, F., Huneau, J.F., Tome, D., 2007. Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences. *Amino Acids* 33, 547-562.
- Bone, E., Tamm, A., Hill, M., 1976. The production of urinary phenols by gut bacteria and their possible role in the causation of large bowel cancer. *Am J Clin Nutr* 29, 1448-1454.
- Bosch, G., Pellikaan, W.F., Rutten, P.G.P., Poel, A.F.B.v.d., Verstegen, M.W.A., Hendriks, W.H., 2008. Comparative in vitro fermentation activity in the canine distal gastrointestinal tract and fermentation kinetics of fiber sources. *Journal of Animal Science* 86, 2979-2989.
- Bosch, G., Verbrugghe, A., Hesta, M., Holst, J.J., van der Poel, A.F., Janssens, G.P., Hendriks, W.H., 2009. The effects of dietary fibre type on satiety-related hormones and voluntary food intake in dogs. *Br J Nutr* 102, 318-325.
- Bosch, G., Zhang, S., Oonincx, D.G.A.B., Hendriks, W.H., 2014. Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods. *Journal of nutritional science* 3, e29-e29, 1-4.
- Brambillasca, S., Britos, A., Deluca, C., Fraga, M., Cajarville, C., 2013. Addition of citrus pulp and apple pomace in diets for dogs: influence on fermentation kinetics, digestion, faecal characteristics and bacterial populations. *Arch Anim Nutr.* 67, 492-502.



## Literaturverzeichnis

- Braun, J.P., Lefebvre, H.P., Watson, A.D.J., 2003. Creatinine in the Dog: A Review. *Vet Clin Pathol.* 32, 162-179.
- Buff, P.R., Carter, R.A., Bauer, J.E., Kersey, J.H., 2014. Natural pet food: a review of natural diets and their impact on canine and feline physiology. *J Anim Sci* 92, 3781-3791.
- Buffington, J., 2014. The Economic Potential of Brewer's Spent Grain (BSG) as a Biomass Feedstock. *Adv. Chem. Engineer. Sci.* Vol.04 No.03, 11, 308-318.
- Burkhalter, T.M., Merchen, N.R., Bauer, L.L., Murray, S.M., Patil, A.R., Brent, J.L., Jr., Fahey, G.C., Jr., 2001. The ratio of insoluble to soluble fiber components in soybean hulls affects ileal and total-tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs. *J Nutr* 131, 1978-1985.
- Burrows, C.F., Kronfeld, D.S., Banta, C.A., Merritt, A.M., 1982. Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. *J Nutr* 112, 1726-1732.
- Carvalho, F., 2004. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. *Bioresour Technol* 91, 93-100.
- Chau, C.-F., Chen, C.-H., Lee, M.-H., 2004. Comparison of the characteristics, functional properties, and in vitro hypoglycemic effects of various carrot insoluble fiber-rich fractions. *LWT - Food Sci Technol* 37, 155-160.
- Clapper, G.M., Grieshop, C.M., Merchen, N.R., Russett, J.C., Brent, J.L., Jr., Fahey, G.C., Jr., 2001. Ileal and total tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. *J Anim Sci* 79, 1523-1532.
- Clarridge, J.E., 3rd, 2004. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev* 17, 840-862.
- Clemente, J.C., Ursell, L.K., Parfrey, L.W., Knight, R., 2012. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* 148, 1258-1270.
- Cummings, J.H., Pomare, E.W., Branch, W.J., Naylor, C.P., Macfarlane, G.T., 1987. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 28, 1221-1227.
- Cummings, J.H., Roberfroid, M.B., Andersson, H., Barth, C., Ferro-Luzzi, A., Ghos, Y., Gibney, M., Hermansen, K., James, W.P., Korver, O., Lairon, D., Pascal, G., Voragen, A.G., 1997. A new look at dietary carbohydrate: chemistry, physiology and health. Paris Carbohydrate Group. *Eur J Clin Nutr* 51, 417-423.
- Curzon, G., Walsh, J., 1962. A method for the determination of urinary indoxyl sulphate (Indican). *Clin Chim Acta* 7, 657-663.

## Literaturverzeichnis

- Davenport, D.J., Mostardi, R.A., Richardson, D.C., Gross, K.L., Greene, K.A., Blair, K., 1994. Protein-deficient diet alters serum alkaline phosphatase, bile acids, proteins and urea nitrogen in dogs. *J Nutr* 124, 2677s-2679s.
- David, L.A., Maurice, C.F., Carmody, R.N., Gootenberg, D.B., Button, J.E., Wolfe, B.E., Ling, A.V., Devlin, A.S., Varma, Y., Fischbach, M.A., Biddinger, S.B., Dutton, R.J., Turnbaugh, P.J., 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 505, 559-563.
- de-Oliveira, L.D., Takakura, F.S., Kienzle, E., Brunetto, M.A., Teshima, E., Pereira, G.T., Vasconcellos, R.S., Carciofi, A.C., 2012. Fibre analysis and fibre digestibility in pet foods--a comparison of total dietary fibre, neutral and acid detergent fibre and crude fibre. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 96, 895-906.
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J.B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., Lionetti, P., 2010. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 14691-14696.
- de Godoy, M.R., Kerr, K.R., Fahey, G.C., Jr., 2013. Alternative dietary fiber sources in companion animal nutrition. *Nutrients* 5, 3099-3117.
- Deng, P., Beloshapka, A.N., Vester Boler, B.M., Swanson, K.S., 2013. Dietary fibre fermentability but not viscosity elicited the 'second-meal effect' in healthy adult dogs. *Br J Nutr* 110, 960-968.
- Deng, P., Utterback, P.L., Parsons, C.M., Hancock, L., Swanson, K.S., 2016. Chemical composition, true nutrient digestibility, and true metabolizable energy of novel pet food protein sources using the precision-fed cecectomized rooster assay. *J Anim Sci* 94, 3335-3342.
- Denstadli, V., Westereng, B., Biniyam, H.G., Ballance, S., Knutsen, S.H., Svihus, B., 2010. Effects of structure and xylanase treatment of brewers' spent grain on performance and nutrient availability in broiler chickens. *Br Poult Sci* 51, 419-426.
- Dillitzer, N., Becker, N., Kienzle, E., 2011. Intake of minerals, trace elements and vitamins in bone and raw food rations in adult dogs. *Br J Nutr* 106 Suppl 1, S53-56.
- Dobenecker, B., Braun, U., 2015. Creatine and creatinine contents in different diet types for dogs - effects of source and processing. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 99, 1017-1024.
- Dubey, J.P., Hill, D.E., Jones, J.L., Hightower, A.W., Kirkland, E., Roberts, J.M., Marcet, P.L., Lehmann, T., Vianna, M.C., Miska, K., Sreekumar, C., Kwok, O.C., Shen, S.K., Gamble, H.R., 2005. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. *J Parasitol* 91, 1082-1093.
- Duncan, S.H., Louis, P., Flint, H.J., 2004. Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. *Appl Environ Microbiol* 70, 5810-5817.

## Literaturverzeichnis

- Dust, J.M., Grieshop, C.M., Parsons, C.M., Karr-Lilienthal, L.K., Schasteen, C.S., Quigley, J.D., 3rd, Merchen, N.R., Fahey, G.C., Jr., 2005. Chemical composition, protein quality, palatability, and digestibility of alternative protein sources for dogs. *J Anim Sci* 83, 2414-2422.
- Englyst, H.N., Cummings, J.H., 1988. Improved method for measurement of dietary fiber as non-starch polysaccharides in plant foods. *J Assoc Off Anal Chem* 71, 808-814.
- Englyst, K.N., Liu, S., Englyst, H.N., 2007. Nutritional characterization and measurement of dietary carbohydrates. *Eur J Clin Nutr* 61, 19-39.
- Faber, T.A., Bechtel, P.J., Hernot, D.C., Parsons, C.M., Swanson, K.S., Smiley, S., Fahey, G.C., Jr., 2010. Protein digestibility evaluations of meat and fish substrates using laboratory, avian, and ileally cannulated dog assays. *J Anim Sci* 88, 1421-1432.
- Faber, T.A., Hopkins, A.C., Middelbos, I.S., Price, N.P., Fahey, G.C., 2011. Galactoglucomannan oligosaccharide supplementation affects nutrient digestibility, fermentation end-product production, and large bowel microbiota of the dog<sup>1</sup>. *J Anim Sci* 89, 103-112.
- Fahey, G.C., Jr., Merchen, N.R., Corbin, J.E., Hamilton, A.K., Bauer, L.L., Titgemeyer, E.C., Hirakawa, D.A., 1992. Dietary fiber for dogs: III. Effects of beet pulp and oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. *J Anim Sci* 70, 1169-1174.
- Fahey, G.C., Jr., Merchen, N.R., Corbin, J.E., Hamilton, A.K., Serbe, K.A., Lewis, S.M., Hirakawa, D.A., 1990a. Dietary fiber for dogs: I. Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *J Anim Sci* 68, 4221-4228.
- Fahey, G.C., Merchen, N.R., Corbin, J.E., Hamilton, A.K., Serbe, K.A., Hirakawa, D.A., 1990b. Dietary fiber for dogs: II. Iso-total dietary fiber (TDF) additions of divergent fiber sources to dog diets and their effects on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *J Anim Sci* 68, 4229-4235.
- Felix, A.P., Gabeloni, L.R., Brito, C.B., Oliveira, S.G., Silva, A.V., Maiorka, A., 2012. Effect of beta-mannanase on the digestibility of diets with different protein sources in dogs determined by different methodologies. *J Anim Sci* 90, 3060-3067.
- Fenwick, S.G., Madie, P., Wilks, C.R., 1994. Duration of carriage and transmission of *Yersinia enterocolitica* biotype 4, serotype 0:3 in dogs. *Epidemiol Infect* 113, 471-477.
- Finley, R., Reid-Smith, R., Ribble, C., Popa, M., Vandermeer, M., Aramini, J., 2008. The occurrence and antimicrobial susceptibility of salmonellae isolated from commercially available canine raw food diets in three Canadian cities. *55*, 462-469.
- Finley, R., Reid-Smith, R., Weese, J.S., 2006. Human health implications of *Salmonella*-contaminated natural pet treats and raw pet food. *Clin Infect Dis* 42, 686-691.

- Finley, R., Ribble, C., Aramini, J., Vandermeer, M., Popa, M., Litman, M., Reid-Smith, R., 2007. The risk of salmonellae shedding by dogs fed Salmonella-contaminated commercial raw food diets. *Can Vet J* 48, 69-75.
- Folador, J.F., Karr-Lilienthal, L.K., Parsons, C.M., Bauer, L.L., Utterback, P.L., Schasteen, C.S., Bechtel, P.J., Fahey, G.C., Jr., 2006. Fish meals, fish components, and fish protein hydrolysates as potential ingredients in pet foods. *J Anim Sci* 84, 2752-2765.
- Freedman, A.H., Gronau, I., Schweizer, R.M., Ortega-Del Vecchyo, D., Han, E., Silva, P.M., Galaverni, M., Fan, Z., Marx, P., Lorente-Galdos, B., Beale, H., Ramirez, O., Hormozdiari, F., Alkan, C., Vila, C., Squire, K., Geffen, E., Kusak, J., Boyko, A.R., Parker, H.G., Lee, C., Tadiogola, V., Wilton, A., Siepel, A., Bustamante, C.D., Harkins, T.T., Nelson, S.F., Ostrander, E.A., Marques-Bonet, T., Wayne, R.K., Novembre, J., 2014. Genome sequencing highlights the dynamic early history of dogs. *PLoS Genet* 10, e1004016.
- Freeman, L.M., Chandler, M.L., Hamper, B.A., Weeth, L.P., 2013. Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 243, 1549-1558.
- Fung, K.Y.C., Cosgrove, L., Lockett, T., Head, R., Topping, D.L., 2012. A review of the potential mechanisms for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. *Br J Nutr* 108, 820-831.
- Gerard, P., 2016. Gut microbiota and obesity. *Cell Mol Life Sci* 73, 147-162.
- German, A.J., Holden, S.L., Bissot, T., Morris, P.J., Biourge, V., 2010. A high protein high fibre diet improves weight loss in obese dogs. *Vet J* 183, 294-297.
- Giudice, E., Giannetto, C., Fazio, F., Piccione, G., 2009. Daily rhythm of creatinine in dog: clinical and diagnostic significance. *Biol Rhythm Res* 40, 181-187.
- Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bruce, K.J., Patil, A.R., Czarnecki-Maulden, G.L., Fahey, G.C., Jr., 2004. Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. *Arch Anim Nutr* 58, 483-493.
- Guard, B.C., Barr, J.W., Reddivari, L., Klemashevich, C., Jayaraman, A., Steiner, J.M., Vanamala, J., Suchodolski, J.S., 2015. Characterization of Microbial Dysbiosis and Metabolomic Changes in Dogs with Acute Diarrhea. *PLoS One* 10, e0127259.
- Guevara, M.A., Bauer, L.L., Abbas, C.A., Beery, K.E., Holzgraefe, D.P., Cecava, M.J., Fahey, G.C., Jr., 2008. Chemical composition, in vitro fermentation characteristics, and in vivo digestibility responses by dogs to select corn fibers. *J Agric Food Chem* 56, 1619-1626.
- Guilford, W.G., Matz, M.E., 2003. The nutritional management of gastrointestinal tract disorders in companion animals. *N Z Vet J* 51, 284-291.
- Hamer, H.M., Jonkers, D., Venema, K., Vanhoutvin, S., Troost, F.J., Brummer, R.J., 2008. Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharmacol Ther* 27, 104-119.

## Literaturverzeichnis

- Handl, S., Dowd, S.E., Garcia-Mazcorro, J.F., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S., 2011. Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. *FEMS Microbiol Ecol* 76, 301-310.
- Hang, I., Heilmann, R.M., Grutzner, N., Suchodolski, J.S., Steiner, J.M., Atroshi, F., Sankari, S., Kettunen, A., de Vos, W.M., Zentek, J., Spillmann, T., 2013. Impact of diets with a high content of greaves-meal protein or carbohydrates on faecal characteristics, volatile fatty acids and faecal calprotectin concentrations in healthy dogs. *BMC Vet Res* 9, 201.
- Hendriks, A.T.W.M., Zeeman, G., 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol* 100, 10-18.
- Hendriks, W.H., van Baal, J., Bosch, G., 2012. Ileal and faecal protein digestibility measurement in humans and other non-ruminants - a comparative species view. *Br J Nutr* 108 Suppl 2, S247-257.
- Hesta, M., Roosen, W., Janssens, G.P., Millet, S., De Wilde, R., 2003. Probiotics affect nutrient digestibility but not faecal ammonia in dogs fed increased dietary protein levels. *Br J Nutr* 90, 1007-1014.
- Hsu, P.-K., Chien, P.-J., Chen, C.-H., Chau, C.-F., 2006. Carrot insoluble fiber-rich fraction lowers lipid and cholesterol absorption in hamsters. *LWT - Food Sci Technol* 39, 337-342.
- Hughes, R., Kurth, M.J., McGilligan, V., McGlynn, H., Rowland, I., 2008. Effect of colonic bacterial metabolites on Caco-2 cell paracellular permeability in vitro. *Nutr Cancer* 60, 259-266.
- Ikram, S., Huang, L., Zhang, H., Wang, J., Yin, M., 2017. Composition and Nutrient Value Proposition of Brewers Spent Grain. *J Food Sci* 82, 2232-2242.
- Jędrusik, P., Symonides, B., Wojciechowska, E., Gryglas, A., Gaciong, Z., 2017. Diagnostic value of potassium level in a spot urine sample as an index of 24-hour urinary potassium excretion in unselected patients hospitalized in a hypertension unit. *PLoS One* 12, e0180117-e0180117.
- Jeroch, H., Drochner, W., Simon, O., 1999. Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. Stuttgart: Eugen Ulmer- Verlag bzw. UTB für Wissenschaft, 18.
- Joffe, D.J., Schlesinger, D.P., 2002. Preliminary assessment of the risk of Salmonella infection in dogs fed raw chicken diets. *Can Vet J* 43, 441-442.
- Johnson, M.L., Parsons, C.M., Fahey, G.C., Jr., Merchen, N.R., Aldrich, C.G., 1998. Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ileally cannulated dogs. *J Anim Sci* 76, 1112-1122.
- Jones, J.M., 2014. CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the 'fiber gap'. *Nutr J* 13, 34.

## Literaturverzeichnis

- Jung, H.J., 1997. Analysis of forage fiber and cell walls in ruminant nutrition. *J Nutr* 127, 810s-813s.
- Kamphues, J., Wolf, P., Coenen, M., Eder, K., Iben, C., Kienzle, E., Liesegang, A., Männer, K., Zebeli, Q., Zentek, J., 2014. *Supplemente zur Tierernährung für Studium und Praxis*. Verlag M&H Schaper, Hannover 12., überarbeitete Auflage, 19.
- Kanauchi, O., Mitsuyama, K., Araki, Y., 2001. Development of a Functional Germinated Barley Foodstuff from Brewer's Spent Grain for the Treatment of Ulcerative Colitis. *J Am Soc Brew Chem* 59, 59-62.
- Kaur, V.I., Saxena, P.K., 2004. Incorporation of brewery waste in supplementary feed and its impact on growth in some carps. *Bioresour Technol* 91, 101-104.
- Kempker, K., Gussow, A., Cook, A.M., Rick, M., Neiger, R., 2017. [Alimentary thyrotoxicosis in two dogs]. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 45, 193-198.
- Kerr, K.R., Forster, G., Dowd, S.E., Ryan, E.P., Swanson, K.S., 2013. Effects of dietary cooked navy bean on the fecal microbiome of healthy companion dogs. *PLoS One* 8, e74998.
- Kienzle, E., Dobenecker, B., Eber, S., 2001. Effect of cellulose on the digestibility of high starch versus high fat diets in dogs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 85, 174-185.
- Kienzle, E., Optiz, B., Earle, K.E., Smith, P.M., Maskell, I.E., 1998. The influence of dietary fibre components on the apparent digestibility of organic matter and energy in prepared dog and cat foods. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 79, 46-56.
- Kohler, B., Stengel, C., Neiger, R., 2012. Dietary hyperthyroidism in dogs. *J Small Anim Pract* 53, 182-184.
- Kölle, P., Schmidt, M., 2015. BARF (Biologisch Artgerechte Rohfütterung) als Ernährungsform bei Hunden. *Tierarztl Prax Kleintiere* 43, 409-419.
- Koppel, K., Monti, M., Gibson, M., Alavi, S., Donfrancesco, B.D., Carciofi, A.C., 2015. The Effects of Fiber Inclusion on Pet Food Sensory Characteristics and Palatability. *Animals: an Open Access Journal from MDPI* 5, 110-125.
- Kröger, S., Vahjen, W., Zentek, J., 2017. Influence of lignocellulose and low or high levels of sugar beet pulp on nutrient digestibility and the fecal microbiota in dogs. *J Anim Sci* 95, 1598-1605.
- Krug, S.E.-M. 2010 Diätetischer Einsatz aut-enzymatisch unverdaulicher pflanzlicher Substanzen bei Hunden und Katzen – Literaturstudie und retrospektive Besitzerbefragung Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der LMU, München
- Larue, E., Sabater-Molina, M., Zamora, S., 2007. Biological significance of dietary polyamines. *J Nutr* 23, 87-95.

## Literaturverzeichnis

- Larsen, F.M., Moughan, P.J., Wilson, M.N., 1993. Dietary fiber viscosity and endogenous protein excretion at the terminal ileum of growing rats. *J Nutr* 123, 1898-1904.
- Le Roy, T., Llopis, M., Lepage, P., Bruneau, A., Rabot, S., Bevilacqua, C., Martin, P., Philippe, C., Walker, F., Bado, A., Perlemuter, G., Cassard-Doulier, A.M., Gerard, P., 2013. Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Gut* 62, 1787-1794.
- Lefebvre, S.L., Reid-Smith, R., Boerlin, P., Weese, J.S., 2008. Evaluation of the Risks of Shedding Salmonellae and Other Potential Pathogens by Therapy Dogs Fed Raw Diets in Ontario and Alberta. *Zoonoses Public Health* 55, 470-480.
- LeJeune, J.T., Hancock, D.D., 2001. Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs. *J Am Vet Med Assoc* 219, 1222-1225.
- Lenz, J., Joffe, D., Kauffman, M., Zhang, Y., LeJeune, J., 2009. Perceptions, practices, and consequences associated with foodborne pathogens and the feeding of raw meat to dogs. *Can Vet J* 50, 637-643.
- LGC Inc., 2015. LGC website-illumina HiSeq & MiSeq. <http://www.lgcgroup.com/services/dna-sequencing/next-generation-sequencing/illumina-hiseq-miseq/#.V2OavucIQa> (zuletzt abgerufen: 11.10.2018).
- Li, Q., Lauber, C.L., Czarnecki-Maulden, G., Pan, Y., Hannah, S.S., 2017. Effects of the Dietary Protein and Carbohydrate Ratio on Gut Microbiomes in Dogs of Different Body Conditions. *MBio* 8, 1, e01703-16.
- Liu, L., Li, Y., Li, S., Hu, N., He, Y., Pong, R., Lin, D., Lu, L., Law, M., 2012. Comparison of next-generation sequencing systems. *J Biomed Biotechnol* 2012, 251364.
- Lynch, K.M., Steffen, E.J., Arendt, E.K., 2016. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *J Inst Brew* 122, 553-568.
- Macfarlane, G.T., Cummings, J.H., Allison, C., 1986. Protein degradation by human intestinal bacteria. *J Gen Microbiol* 132, 1647-1656.
- Macfarlane, G.T., Gibson, G.R., Beatty, E., Cummings, J.H., 1992. Estimation of short-chain fatty acid production from protein by human intestinal bacteria based on branched-chain fatty acid measurements. *FEMS Microbiol Lett* 101, 81-88.
- Macfarlane, S., Macfarlane, G.T., 2003. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc* 62, 67-72.
- Mack, J.K., Kienzle, E., 2016. [Inadequate nutrient supply in "BARF" feeding plans for a litter of Bernese Mountain Dog-puppies. A case report]. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 44, 341-347.

## Literaturverzeichnis

- Makowska, A., Mildner-Szkudlarz, S., Obuchowski, W., 2013. Effect of Brewer's Spent Grain Addition on Properties of Corn Extrudates with an Increased Dietary Fibre Content, *Pol J Food Nutr Sci*, 19, 63, 1, 19-24.
- Marchesi, J.R., Adams, D.H., Fava, F., Hermes, G.D.A., Hirschfield, G.M., Hold, G., Quraishi, M.N., Kinross, J., Smidt, H., Tuohy, K.M., Thomas, L.V., Zoetendal, E.G., Hart, A., 2016. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut* 65, 330-339.
- Maria, A.P.J., Ayane, L., Putarov, T.C., Loureiro, B.A., Neto, B.P., Casagrande, M.F., Gomes, M.O.S., Gloria, M.B.A., Carciofi, A.C., 2017. The effect of age and carbohydrate and protein sources on digestibility, fecal microbiota, fermentation products, fecal IgA, and immunological blood parameters in dogs. *J Anim Sci* 95, 2452-2466.
- Martins, M.S., Sakomura, N.K., Souza, D.F., Filho, F.O., Gomes, M.O., Vasconcellos, R.S., Carciofi, A.C., 2014. Brewer's yeast and sugarcane yeast as protein sources for dogs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 98, 948-957.
- McCarthy, A.L., O'Callaghan, Y.C., Piggott, C.O., FitzGerald, R.J., O'Brien, N.M., 2012. Brewers' spent grain; bioactivity of phenolic component, its role in animal nutrition and potential for incorporation in functional foods: a review. *Proc Nutr Soc* 72, 117-125.
- McCleary, B.V., 2003. Dietary fibre analysis. *Proc Nutr Soc* 62, 3-9.
- Mentula, S., Harmoinen, J., Heikkilä, M., Westermarck, E., Rautio, M., Huovinen, P., Könönen, E., 2005b. Comparison between Cultured Small-Intestinal and Fecal Microbiotas in Beagle Dogs. *Appl Environ Microbiol* 71, 4169-4175.
- Mercurio, K.C., Behm, P.A., 1981. Effects of Fiber Type and Level on Mineral Excretion, Transit Time, and Intestinal Histology. *J Food Sci* 46, 1462-1477.
- Meyer, F., Paarmann, D., D'Souza, M., Olson, R., Glass, E.M., Kubal, M., Paczian, T., Rodriguez, A., Stevens, R., Wilke, A., Wilkening, J., Edwards, R.A., 2008. The metagenomics RAST server - a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes. *BMC Bioinformatics* 9, 386.
- Meyer, H., Arndt, J., Behfeld, T., Elbers, H., Schünemann, C., 1989. Praecaecale und postileale Verdaulichkeit verschiedener Eiweiße. Beiträge zur Verdauungsphysiologie des Hundes. H. Meyer, ed. Verlag Paul Parey, Hamburg, Berlin, 59-77.
- Michael, A.F., Drummond, K.N., Doeden, D., Anderson, J.A., Good, R.A., 1964. Tryptophan metabolism in man. *J Clin Invest* 43, 1730-1746.
- Middelbos, I.S., Fastinger, N.D., Fahey, G.C., Jr., 2007. Evaluation of fermentable oligosaccharides in diets fed to dogs in comparison to fiber standards. *J Anim Sci* 85, 3033-3044.



- Middelbos, I.S., Vester Boler, B.M., Qu, A., White, B.A., Swanson, K.S., Fahey, G.C., Jr., 2010. Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing. *PLoS One* 5, e9768.
- Minamoto, Y., Dhanani, N., Markel, M.E., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S., 2014. Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. *Vet Microbiol* 174, 463-473.
- Minamoto, Y., Otoni, C.C., Steelman, S.M., Buyukleblebici, O., Steiner, J.M., Jergens, A.E., Suchodolski, J.S., 2015. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes* 6, 33-47.
- Mizéhoun-Adissoda, C., Houehanou, C., Chianéa, T., Dalmay, F., Bigot, A., Preux, P.-M., Bovet, P., Houinato, D., Desport, J.-C., 2016. Estimation of Daily Sodium and Potassium Excretion Using Spot Urine and 24-Hour Urine Samples in a Black Population (Benin). *J Clin Hypertens* 18, 634-640.
- Mussatto, S.I., 2014. Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. *J Sci Food Agric* 94, 1264-1275.
- Mussatto, S.I., Dragone, G., Roberto, I.C., 2006. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. *J Cereal Sci* 43, 1-14.
- Nawirska, A., Kwaśniewska, M., 2005. Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chem* 91, 221-225.
- Nery, J., Biourge, V., Tournier, C., Leray, V., Martin, L., Dumon, H., Nguyen, P., 2010. Influence of dietary protein content and source on fecal quality, electrolyte concentrations, and osmolality, and digestibility in dogs differing in body size. *J Anim Sci* 88, 159-169.
- Nery, J., Goudez, R., Biourge, V., Tournier, C., Leray, V., Martin, L., Thorin, C., Nguyen, P., Dumon, H., 2012. Influence of dietary protein content and source on colonic fermentative activity in dogs differing in body size and digestive tolerance. *J Anim Sci* 90, 2570-2580.
- Ngoc, T.T.B., Len, N.T., Lindberg, J.E., 2012. Impact of fibre intake and fibre source on digestibility, gut development, retention time and growth performance of indigenous and exotic pigs. *animal* 7, 736-745.
- Nicolle, C., Cardinault, N., Aprikian, O., Busserolles, J., Grolier, P., Rock, E., Demigne, C., Mazur, A., Scalbert, A., Amouroux, P., Remesy, C., 2003. Effect of carrot intake on cholesterol metabolism and on antioxidant status in cholesterol-fed rat. *Eur J Nutr* 42, 254-261.
- Niemi, P., Tamminen, T., Smeds, A., Viljanen, K., Ohra-aho, T., Holopainen-Mantila, U., Faulds, C.B., Poutanen, K., Buchert, J., 2012. Characterization of lipids and lignans in brewer's spent grain and its enzymatically extracted fraction. *J Agric Food Chem* 60, 9910-9917.
- Nilsson, O., 2015. Hygiene quality and presence of ESBL-producing *Escherichia coli* in raw food diets for dogs. *Infect Ecol Epidemiol* 5, 28758.

## Literaturverzeichnis

- O'Connor, W.J., Summerill, R.A., 1976. The effect of a meal of meat on glomerular filtration rate in dogs at normal urine flows. *J Physiol* 256, 81-91.
- Opitz, B. 1996. Untersuchungen zur Energiebewertung von Futtermitteln für Hund und Katze, Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der LMU, München.
- Opitz, B., Smith, P.M., Kienzle, E., Earle, K.E., Maskell, I.E., 1998. Comparison of Various Methods of Fiber Analysis in Pet Foods. *J Nutr* 128, 2795S-2797S.
- Overgaauw, P.A., 1997. Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. *Crit Rev Microbiol* 23, 233-251.
- Panasevich, M.R., Serao, M.C.R., Godoy, M.R.C.d., Swanson, K.S., Guerin-Deremaux, L., Lynch, G.L., Wils, D., Fahey, G.C., Jr., Dilger, R.N., 2013. Potato fiber as a dietary fiber source in dog foods. *J Anim Sci* 91, 5344-5352.
- Pegg, A.E., 2013. Toxicity of polyamines and their metabolic products. *Chem Res Toxicol* 26, 1782-1800.
- Perez, J., Munoz-Dorado, J., de la Rubia, T., Martinez, J., 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int Microbiol* 5, 53-63.
- Pieper, R., Kroger, S., Richter, J.F., Wang, J., Martin, L., Bindelle, J., Htoo, J.K., Smolinski, D.v., Vahjen, W., Zentek, J., Kessel, A.G.v., 2012. Fermentable fiber ameliorates fermentable protein-induced changes in microbial ecology, but not the mucosal response, in the colon of piglets. *J Nutr* 142, 661-667.
- Pinna, C., Vecchiato, C.G., Bolduan, C., Grandi, M., Stefanelli, C., Windisch, W., Zaghini, G., Biagi, G., 2018. Influence of dietary protein and fructooligosaccharides on fecal fermentative end-products, fecal bacterial populations and apparent total tract digestibility in dogs. *BMC Vet Res* 14, 106.
- Pinna, C., Vecchiato, C.G., Zaghini, G., Grandi, M., Nannoni, E., Stefanelli, C., Biagi, G., 2016. In vitro influence of dietary protein and fructooligosaccharides on metabolism of canine fecal microbiota. *BMC Vet Res* 12, 53.
- Polzin, D.J., Osborne, C.A., Lulich, J.P., 1991. Effects of dietary protein/phosphate restriction in normal dogs and dogs with chronic renal failure. *J Small Anim Pract* 32, 289-295.
- Prester, L., 2011. Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: a review. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 28, 1547-1560.
- Prosby, L., Asp, N.G., Furda, I., DeVries, J.W., Schweizer, T.F., Harland, B.F., 1985. Determination of total dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 68, 677-679.

## Literaturverzeichnis

- Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., DeVries, J.W., Furda, I., 1988. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* 71, 1017-1023.
- Quigley, J.D., 3rd, Campbell, J.M., Polo, J., Russell, L.E., 2004. Effects of spray-dried animal plasma on intake and apparent digestibility in dogs. *J Anim Sci* 82, 1685-1692.
- Ramakrishna, B.S., 2013. Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *J Gastroenterol Hepatol* 28, 9-17.
- Reinhart, J.M., White, B.J., Pohlman, L.M., Schermerhorn, T., 2016. Stability of osmolality in previously frozen canine serum and urine samples. *Vet Clin Pathol* 45, 665-668.
- Reiter, T., Jagoda, E., Capellini, T.D., 2016. Dietary Variation and Evolution of Gene Copy Number among Dog Breeds. *PLoS One* 11, e0148899.
- Remillard, R.L., 2008. Homemade diets: attributes, pitfalls, and a call for action. *Top Companion Anim Med* 23, 137-142.
- Ritchie, L.E., Burke, K.F., Garcia-Mazcorro, J.F., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S., 2010. Characterization of fecal microbiota in cats using universal 16S rRNA gene and group-specific primers for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. *Vet Microbiol* 144, 140-146.
- Rosenbaum, M., Knight, R., Leibel, R.L., 2015. The gut microbiota in human energy homeostasis and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 26, 493-501.
- Rubin, S.I., 1996. Canine and Feline Nephrology and Urology. *Can Vet J* 37, 764-764.
- Sabchuk, T.T., Silva, J.R., Marx, F.O., Felix, A.P., Maiorka, A., Oliveira, S.G., 2014. Effect of feeding frequency of a diet containing soya hulls on the food intake and behaviour of dogs. *J Nutr Sci* 3, e60.
- Saini, J.K., Saini, R., Tewari, L., 2015. Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. *3 Biotech* 5, 337-353.
- Sandri, M., Dal Monego, S., Conte, G., Sgorlon, S., Stefanon, B., 2017. Raw meat based diet influences faecal microbiome and end products of fermentation in healthy dogs. *BMC Vet Res* 13, 65.
- Santos, M., Jiménez, J.J., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C., del Nozal, M.J., 2003. Variability of brewer's spent grain within a brewery. *Food Chemistry* 80, 17-21.
- Schieber, A., Stintzing, F.C., Carle, R., 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments. *Trends Food Sci Technol* 12, 401-413.
- Schlesinger, D.P., Joffe, D.J., 2011. Raw food diets in companion animals: a critical review. *Can Vet J* 52, 50-54.

## Literaturverzeichnis

- Schloss, P.D., Jenior, M.L., Koumpouras, C.C., Westcott, S.L., Highlander, S.K., 2016. Sequencing 16S rRNA gene fragments using the PacBio SMRT DNA sequencing system. *PeerJ* 4, e1869.
- Schmidt, M., Unterer, S., Suchodolski, J.S., Honneffer, J.B., Guard, B.C., Lidbury, J.A., Steiner, J.M., Fritz, J., Kollé, P., 2018. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLoS One* 13, e0201279.
- Schmitt, K. 2014. Identifizierung und Charakterisierung transkribierter Loci der humanen endogenen Retrovirus-Gruppen HERV-K(HML-2) und HERV-W im Kontext von Tumorerkrankungen und Multipler Sklerose. , Dissertation, Universität des Saarlandes.
- Schrag, I. 1999. Untersuchungen zur Bruttoenergiebestimmung an isolierten Einzelfuttermitteln sowie an kommerziellen Futtermitteln für Hund und Katze Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der LMU, München
- Serena, A., Jorgensen, H., Bach Knudsen, K.E., 2009. Absorption of carbohydrate-derived nutrients in sows as influenced by types and contents of dietary fiber. *J Anim Sci* 87, 136-147.
- Sharma, K.D., Karki, S., Thakur, N.S., Attri, S., 2012. Chemical composition, functional properties and processing of carrot-a review. *J Food Sci Technol* 49, 22-32.
- Silvio, J., Harmon, D.L., Gross, K.L., McLeod, K.R., 2000. Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. *Nutrition* 16, 289-295.
- Simpson, J.M., Martineau, B., Jones, W.E., Ballam, J.M., Mackie, R.I., 2002. Characterization of fecal bacterial populations in canines: effects of age, breed and dietary fiber. *Microb Ecol* 44, 186-197.
- Sontas, B.H., Schwendenwein, I., Schafer-Somi, S., 2014. Primary anestrus due to dietary hyperthyroidism in a miniature pinscher bitch. *Can Vet J* 55, 781-785.
- Steinbach, S., Binkert, B., Schweighauser, A., Reynolds, B., Seguela, J., Lefebvre, H., Francey, T., 2010. Quantitative assessment of urea generation and elimination in healthy dogs and in dogs with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 24, 1283-1289.
- Steiner, J., Procopio, S., Becker, T., 2015. Brewer's spent grain: source of value-added polysaccharides for the food industry in reference to the health claims. *Eur Food Res Technol* 241, 303-315.
- Suchodolski, J.S., 2011a. Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *J Anim Sci* 89, 1520-1530.
- Suchodolski, J.S., 2011b. Intestinal microbiota of dogs and cats: a bigger world than we thought. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 41, 261-272.

- Suchodolski, J.S., 2016. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *Vet J* 215, 30-37.
- Suchodolski, J.S., Camacho, J., Steiner, J.M., 2008. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol Ecol* 66, 567-578.
- Suchodolski, J.S., Markel, M.E., Garcia-Mazcorro, J.F., Unterer, S., Heilmann, R.M., Dowd, S.E., Kachroo, P., Ivanov, I., Minamoto, Y., Dillman, E.M., Steiner, J.M., Cook, A.K., Toresson, L., 2012. The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One* 7, e51907.
- Sunvold, G.D., Fahey, G.C., Jr., Merchen, N.R., Titgemeyer, E.C., Bourquin, L.D., Bauer, L.L., Reinhart, G.A., 1995a. Dietary fiber for dogs: IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. *J Anim Sci* 73, 1099-1109.
- Sunvold, G.D., Hussein, H.S., Fahey, G.C., Jr., Merchen, N.R., Reinhart, G.A., 1995b. In vitro fermentation of cellulose, beet pulp, citrus pulp, and citrus pectin using fecal inoculum from cats, dogs, horses, humans, and pigs and ruminal fluid from cattle. *J Anim Sci* 73, 3639-3648.
- Swanson, K.S., Carter, R.A., Yount, T.P., Aretz, J., Buff, P.R., 2013. Nutritional sustainability of pet foods. *Adv Nutr* 4, 141-150.
- Swanson, K.S., Dowd, S.E., Suchodolski, J.S., Middelbos, I.S., Vester, B.M., Barry, K.A., Nelson, K.E., Torralba, M., Henrissat, B., Coutinho, P.M., Cann, I.K., White, B.A., Fahey, G.C., Jr., 2011. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *ISME J* 5, 639-649.
- Swanson, K.S., Grieshop, C.M., Clapper, G.M., Shields, R.G., Jr., Belay, T., Merchen, N.R., Fahey, G.C., Jr., 2001. Fruit and vegetable fiber fermentation by gut microflora from canines. *J Anim Sci* 79, 919-926.
- Swanson, K.S., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Chow, J.M., Wolf, B.W., Garleb, K.A., Fahey, G.C., 2002a. Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. *J Nutr* 132, 3721-3731.
- Swanson, K.S., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Healy, H.P., Dawson, K.A., Merchen, N.R., Fahey, G.C., Jr., 2002b. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *J Nutr* 132, 980-989.
- Terada, A., Hara, H., Oishi, T., Matsui, S., Mitsuoka, T., Nakajyo, S., Fujimori, I., Hara, K., 1992. Effect of Dietary Lactosucrose on Faecal Flora and Faecal Metabolites of Dogs. *Microb Ecol Health Dis* 5, 87-92.

- Topping, D.L., Clifton, P.M., 2001. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev* 81, 1031-1064.
- Trowell, H., 1972. Crude fibre, dietary fibre and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 16, 138-140.
- Uechi, M., Terui, H., Nakayama, T., Mishina, M., Wakao, Y., Takahashi, M., 1994. Circadian variation of urinary enzymes in the dog. *J Vet Med Sci* 56, 849-854.
- Urrego, M.I.G., Matheus, L.F.O., de Melo Santos, K., Ernandes, M.C., Monti, M., de Souza, D.F., Balieiro, J.C.C., Araujo, L.F., Pontieri, C.F.F., Brunetto, M.A., 2017. Effects of different protein sources on fermentation metabolites and nutrient digestibility of brachycephalic dogs. *J Nutr Sci* 6, e43.
- van Bree, F.P.J., Bokken, G., Mineur, R., Franssen, F., Opsteegh, M., van der Giessen, J.W.B., Lipman, L.J.A., Overgaauw, P.A.M., 2018. Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. *Vet Rec* 182, 50.
- Van Soest, P.J., 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. Assoc. Official Agron. Chem.* 46, 829-835.
- Van Soest, P.J., 1978. Dietary fibers: their definition and nutritional properties. *Am J Clin Nutr* 31, S12-s20.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J Dairy Sci* 74, 3583-3597.
- Van Soest, P.J., Wine, R.H., 1967. Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. IV. Determination of Plant Cell Wall Constituents. *J Ass Off Agric Chem* 50, 50-55.
- van Vonderen, I.K., Kooistra, H.S., Rijnberk, A., 1997. Intra- and interindividual variation in urine osmolality and urine specific gravity in healthy pet dogs of various ages. *J Vet Intern Med* 11, 30-35.
- Vervuert, I., Rückert, C., 2017. Der BARF-Trend in der Hundeernährung – Eine Herausforderung für den Tierarzt? *kleintier konkret* 20, 12-15.
- Vester Boler, B.M., Faber, T.A., Bauer, L.L., Swanson, K.S., Smiley, S., Bechtel, P.J., Fahey, G.C., Jr., 2012. Acute satiety response of mammalian, avian and fish proteins in dogs. *Br J Nutr* 107, 146-154.
- Walsh, C.J., Guinane, C.M., O'Toole, P.W., Cotter, P.D., 2014. Beneficial modulation of the gut microbiota. *FEBS Lett* 588, 4120-4130.
- Wambacq, W., Rybachuk, G., Jeusette, I., Rochus, K., Wuyts, B., Fievez, V., Nguyen, P., Hesta, M., 2016. Fermentable soluble fibres spare amino acids in healthy dogs fed a low-protein diet. *BMC Vet Res* 12, 130.

## Literaturverzeichnis

- Waters, D.M., Jacob, F., Titze, J., Arendt, E.K., Zannini, E., 2012. Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer's spent grain enrichment. *Eur Food Res Technol* 235, 767-778.
- Weber, M., Bissot, T., Servet, E., Sergheraert, R., Biourge, V., German, A.J., 2007. A high-protein, high-fiber diet designed for weight loss improves satiety in dogs. *J Vet Intern Med* 21, 1203-1208.
- Wichert, B., Schuster, S., Hofmann, M., Dobenecker, B., Kienzle, E., 2002. Influence of different cellulose types on feces quality of dogs. *J Nutr* 132, 1728s-1729s.
- Windey, K., De Preter, V., Verbeke, K., 2012. Relevance of protein fermentation to gut health. *Mol Nutr Food Res* 56, 184-196.
- Wu, G.D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.Y., Keilbaugh, S.A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W.A., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F.D., Lewis, J.D., 2011. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 334, 105-108.
- Xiros, C., Christakopoulos, P., 2012. Biotechnological Potential of Brewers Spent Grain and its Recent Applications. *Waste and Biomass Valorization* 3, 213-232.
- Xiros, C., Topakas, E., Katapodis, P., Christakopoulos, P., 2008. Hydrolysis and fermentation of brewer's spent grain by *Neurospora crassa*. *Bioresour Technol* 99, 5427-5435.
- Xu, Z., Knight, R., 2015. Dietary effects on human gut microbiome diversity. *Br J Nutr* 113 Suppl, S1-5.
- Yoon, K.Y., Cha, M., Shin, S.R., Kim, K.S., 2005. Enzymatic production of a soluble-fibre hydrolyzate from carrot pomace and its sugar composition. *Food Chem* 92, 151-157.
- Zentek, J., 1995. Influence of diet composition on the microbial activity in the gastro-intestinal tract of dogs. I. Effects of varying protein intake on the composition of the ileum chyme and the faeces. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 74, 43-52.
- Zentek, J., 1996. Cellulose, pectins and guar gum as fibre sources in canine diets. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 76, 36-45.
- Zentek, J., 2016. Ernährung des Hundes; Grundlagen-Fütterung-Dietätik, Enke Verlag, ISBN: 978-3-13-220461-4
- Zentek, J., Fricke, S., Hewicker-Trautwein, M., Ehinger, B., Amtsberg, G., Baums, C., 2004. Dietary protein source and manufacturing processes affect macronutrient digestibility, fecal consistency, and presence of fecal *Clostridium perfringens* in adult dogs. *J Nutr* 134, 2158s-2161s.

## Literaturverzeichnis

Zentek, J., Kaufmann, D., Pietrzak, T., 2002a. Digestibility and effects on fecal quality of mixed diets with various hydrocolloid and water contents in three breeds of dogs. *J Nutr* 132, 1679s-1681s.

Zentek, J., Marquart, B., Pietrzak, T., 2002b. Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs. *J Nutr* 132, 1682S-1684S.

Zentek, J., Marquart, B., Pietrzak, T., Ballevre, O., Rochat, F., 2003. Dietary effects on bifidobacteria and *Clostridium perfringens* in the canine intestinal tract. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 87, 397-407.

Zentek, J., Meyer, H., 1993. Granulated carrots (*Daucus carota*) in dog nutrition. *Schweiz Arch Tierheilkd* 135, 22-28.

Zeugswetter, F.K., Vogelsinger, K., Handl, S., 2013. Hyperthyroidism in dogs caused by consumption of thyroid-containing head meat. *Schweiz Arch Tierheilkd* 155, 149-152.



## Anhang

### A1 Blutentnahme

Tabelle 32: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien der Blutentnahme

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Einmalkanüle	Terumo GmbH	Deutschland Leuven, BEL
S-Monovette 1,3 ml K3E	Sarstedt AG &Co.	Nürnberg, DE
S-Monovette 2,7 ml LH	Sarstedt AG &Co.	Nürnberg, DE
S-Monovette 5,4 ml	Sarstedt AG &Co.	Nürnberg, DE
Eppendorfggefäß 2ml	Eppendorf AG	Hamburg, DE
Zentrifuge (Heraeus Megafuge)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA

### A2 Scheinbare Gesamtverdaulichkeit

Tabelle 33: Verwendete Geräte, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien zur Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit im Kot

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Gefriertrocknungsanlage, Alpha 1-4 LSC	Martin Gefriertrocknungsanlagen GmbH	Christ Osterode Harz, DE
Grindomix GM 200	Retsch GmbH	Haan, DE
Ultra-Zentrifugalmühle 200	ZM Retsch GmbH	Haan, DE
Analysenwaage (Typ: Genius)	Sartorius AG	Göttingen, DE
Trockenschrank (Typ: Heraeus T5042)	Heraeus Holding GmbH	Hanau, DE
Lacktrockenschrank 6050 F, DURAN, DN 300	LUT Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
Muffelofen (Typ: Heraeus M 110)	Heraeus Holding GmbH	Hanau, DE

## Anhang

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Exsikkator (Typ: Duran, DN 300), Exsikkator-Deckel mit Tubus; NS 24/29 Novus	Duran Group GmbH	Wertheim/Main, DE
Makro-Elementaranalysator vario max CN	Elementar Analysesysteme GmbH	Hanau, DE
Rohfaseranalysator (ANKOM2000 Fiber Analyser)	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Soxhlet-Extraktion (Extraktionssystem B-811)	Büchi Labortechnik GmbH	Essen, DE
Atomabsorptionsspektrometer (Typ: contrAA 700)	Analytik Jena AG	Jena, DE
Photometer (Typ: Ultrospec 2100 pro)	Amersham Pharmacia Biotech Inc.	Piscataway, USA
Photometer Software	Amersham Biosciences Corp.	Swift II Quantification
Sandbad (Typ: ST72)	Harry Gestigkeit GmbH	Düsseldorf, DE
Porzellantiegel	VWR International GmbH	Radnor, USA
Filterbeutel Rohfett (XT4 Filter Bags)	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Filterbeutel Rohfaser (F57 Filter Bags)	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Faltenfilter (Whatman 595 ½, 125 mm)	GE Healthcare	Little Chalfont, UK
Glasaufschlussröhrchen	SCP Science	Quebec, KAN
Wasseraufbereitungssystem: Milli-Q	Merck Millipore	Darmstadt, DE
Kaliumhydrogenphosphat	Merck KGaA	Darmstadt, DE
Titandioxid	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Natriumhydroxid	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, DE
Siedesteinchen	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, DE
Kjeldahl Tabletten 3,5 g/Tablette	AppliChem GmbH	Darmstadt, DE
Petrolether (Petroleumbenzin, reinst)	Merck KGaA	Darmstadt, DE
Schwefelsäure	Merck KGaA	Darmstadt, DE

## Anhang

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Salzsäure	Merck KGaA	Darmstadt, DE
Salpetersäure	Sigma Aldrich (Fluka)	St. Louis, USA
Ammoniumvanadat	Merck KGaA	Darmstadt, DE
Ammoniummolybdat	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, DE
Ammoniak	Merck KGaA	Darmstadt, DE
Wasserstoffperoxid (30 %ig)	Sigma Aldrich	St. Louis, USA

Tabelle 34: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat-Lösung für die Bestimmung von Phosphor: Herstellung der Lösung A: Ammoniummolybdat-Lösung

Substanz	Zugabe
Ammoniummolybdat (M= 1235,09 g/mol) in warmen Reinstwasser lösen	100 g   10 ml
Ammoniak (25 %)	
auf 1000 ml Reinstwasser auffüllen	

Tabelle 35: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat-Lösung für die Bestimmung von Phosphor: Herstellung der Lösung B: Ammoniummetavanadat-Lösung

Substanz	Zugabe
Ammoniummetavanadat (M= 116,99 g/mol) in 400 ml warmen Reinstwasser lösen	2,35 g   7 ml
Salpetersäure (65 %)	13 ml
H <sub>2</sub> O	
auf 1000 ml Reinstwasser auffüllen	

## Anhang

Tabelle 36: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat-Lösung für die Bestimmung von Phosphor: Herstellung der Nitrovanadatmolybdat-Lösung

Substanz	Zugabe (ml)
Lösung A	200
Lösung B	200
Salpetersäure (65 %)	134
auf 1000 ml Reinstwasser auffüllen	

Tabelle 37: Zusammensetzung der Kalibrierlösung für die Bestimmung von Phosphor

Substanz	Zugabe (g)
Monokaliumphosphat (136,08 g/mol) in Reinstwasser lösen	0,4387
auf 100 ml Reinstwasser auffüllen	
<p>Von dieser Lösung eine 1:10 Verdünnung herstellen → 0,1 mg/dl β (P)<sup>1</sup></p>	

<sup>1</sup> β (P) = Phosphor

Tabelle 38: Pipettierschema der Standardreihe (in der Makroküvette) für die Bestimmung von Phosphor

Gehalt in µg β (P) <sup>1</sup>	Gehalt in µg β(P) / ml	Volumen Kalibrierlösung [0,1 mg/ml β(P)] in µl	Volumen UltrareinstH <sub>2</sub> O in µl	Volumen Farbreagenz in µl
0	0	0	1500	500
10	5	100	1400	500
20	10	200	1300	500
40	20	400	1100	500
60	30	600	900	500

<sup>1</sup> β (P) = Phosphor

## Anhang

### A3 Bestimmung von NDF, ADF und TDF

Tabelle 39: Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien zur Bestimmung von NDF, ADF und TDF

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Analysenwaage (Typ: Genius)	Sartorius AG	Göttingen, DE
Filterbeutel (F57 Filter Bags)	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Rohfaseranalysator (ANKOM2000 Fiber Analyser)	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Trockenschrank (Typ: Heraeus T5042)	Heraeus Holding GmbH	Hanau, DE
Lackrockenschrank LUT 6050 F, DURAN, DN 300	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
Exsikkator (Typ: Duran, DN 300), Exsikkator-Deckel mit Tubus; NS 24/29 Novus	Duran Group GmbH	Wertheim/Main, DE
Cetyltrimethylammoniumbromid	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
Aceton	Merck KGaA	Darmstadt, DE
Schwefelsäure	Merck KGaA	Darmstadt, DE
EDTA-Natriumsalz	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
Natriumlaurylsulfat	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
Natriumtetraborat	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Natriumphosphatdibasic	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
Triethylenglycol	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
Wasseraufbereitungssystem: Milli-Q	Merck Millipore	Darmstadt, DE
Ethanol 99 %	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
Enzyme ( $\alpha$ -Amylase, Protease, Amyloglucosidase)	Megazyme International Ireland	Bray, Ireland
Celite	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
2(N-morpholino)Ethansulfonsäure (MES)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
Tris(Hydroxymethyl)Aminomethan (TRIS)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE

## Anhang

### A4 Bestimmung kurzkettiger Fettsäuren im Kot

Tabelle 40: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Rüttler VV 3	VWR International GmbH	Darmstadt, DE
Zentrifuge (Typ: 5415 C)	Eppendorf AG	Hamburg, DE
Gaschromatograf (Typ: GC 6890 N)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
HP-INNOWAX Säule (Polyethylen Glycol)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Software (HP ChemStation)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Gasgenerator (Parker ChromGas 9150)	Parker Hannifin Corp.	Cleveland, USA
Injektionsspritze	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Probengefäß (Screw cap vials)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Hexansäure	Sigma Aldrich Co.	St. Louis, USA
Oxalsäure-Dihydrat	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, DE
Wasseraufbereitungssystem: Milli-Q	Merck Millipore	Darmstadt, DE

Tabelle 41: Herstellung der Standardlösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot

Bezeichnung	Zugabe
Stammlösung (10 mM) SUPELCO „Volatile Acids Standard Mix“	50,0 µl
Oxalsäure-Dihydrat	10,0 mg
Reinstwasser	950 µl

## Anhang

Tabelle 42: Herstellung der Stammlösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot

Bezeichnung	Zugabe
Hexansäure	250 µl
Oxalsäure-Dihydrat	2 g
	auf 200 ml mit Reinstwasser auffüllen

Tabelle 43: Herstellung der Verdünnungslösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot

Bezeichnung	Zugabe
Stammlösung (10 mM)	50 ml
Oxalsäure-Dihydrat	10 g
	auf 1000 ml mit Reinstwasser auffüllen

### A5 Bestimmung von D- und L-Laktat im Kot

Tabelle 44: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung von D- und L-Laktat im Kot der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Heraeus Fresco 21 Microzentrifuge	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
HPLC Agilent 1100	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Vorsäule (Phenomenex C18 4.0 L mm x 2,0 ID mm)	Phenomenex Inc.	Torrance, USA
Hauptsäule (Phenomenex Chirex 3126 (D)-penicillamine 150 x 4,6 mm)	Phenomenex Inc.	Torrance, USA
Software (Chromeleon Version 6.9)	Dionex Corporation	Sunnyvale, USA
Cellulose-Acetat-Spritzenvorsatzfilter (0,45 µm)	VWR International GmbH	Darmstadt, DE
Probengefäße (Screw cap vials)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA

Anhang

Kupfer-II-Sulfat	Merck KGaA	Darmstadt, DE
Zinkchlorid Technipur	Merck KGaA	Darmstadt, DE
D- + L-Milchsäure	AppliChem GmbH	Darmstadt, DE
Wasseraufbereitungssystem: Milli-Q	Merck Millipore	Darmstadt, DE

Tabelle 45: Herstellung der Lösung A: Kupfer-II-Sulfat-Lösung mit 2-Propanol zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot

Substanz	Zugabe	Hersteller, Ort, Land
Kupfer-II-Sulfat	399 mg	Merck KGaA, Darmstadt, DE
2-Propanol	50,0 ml	Carl Roth GmbH & Co. KG
Auf 1000 ml mit Reinstwasser auffüllen		

Tabelle 46: Herstellung der Lösung B: Kupfer-II-Sulfat-Lösung zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot

Substanz	Zugabe	Hersteller, Ort, Land
Kupfer-II-Sulfat	79,8 mg	Merck KGaA, Darmstadt, DE
in 1000 ml Reinstwasser lösen		

Tabelle 47: Herstellung der Lösung C: Carrez I zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot

Substanz	Zugabe	Hersteller, Ort, Land
Zinkchlorid	17,0 g	Merck KGaA, Darmstadt, DE
in 100 ml Reinstwasser lösen		



## Anhang

Tabelle 48: Herstellung der Lösung D: Carrez II zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot

Substanz	Zugabe	Hersteller, Ort, Land
Kaliumhexacyanoferrat (II)	15,0 g	Merck KGaA, Darmstadt, DE

in 100 ml Reinstwasser lösen

Tabelle 49: Herstellung der Stammlösung (10 mmol/L) zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot

Substanz	Zugabe	Hersteller, Ort, Land
D- + L-Milchsäure	49,9 mg	AppliChem GmbH, Darmstadt, DE

in ein 25 ml Messkolben überführen  
und mit 0,5 mmol Kupfer-II-Sulfat-  
Lösung auffüllen

Tabelle 50: Herstellung der 1 mmol/L-Lösung zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot

Substanz	Zugabe
Stammlösung (10 mmol/L)	100 µl

in ein Vial geben und mit  
900 µl 0,5 mmol Kupfer-II-  
Sulfat-Lösung verdünnen

## Anhang

Tabelle 51: Herstellung der 0,1 mmol/L-Lösung zur Bestimmung der Laktatkonzentration im Kot

Substanz	Zugabe
1 mmol/L Lösung	100 µl
in ein Vial geben und mit 900 µl 0,5 mmol Kupfer-II-Sulfat-Lösung verdünnen	

### A6 Bestimmung von Ammonium

Tabelle 52: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung von Ammoniumkonzentration im Kot der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Heraeus Zentrifuge (Typ: Fresco 17)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
Mikrotiterplatten Lesegerät (Typ: M200 PRO)	Tecan Group Ltd.	Männedorf, CH
Software i-control 1.7	Tecan Group Ltd.	Männedorf, CH
Mikrotiterplatte (96 well, PS-Microplatte, F-Boden, transparent)	Greiner International GmbH	Bio-One Kremsmünster, AT
Phenol-Nitroprussid-Lösung	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Salzsäure (HCL, 1M)	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, DE

## Anhang

Tabelle 53: Herstellung des MOPS-Puffers (pH 7) zur Bestimmung von Ammonium

Substanz	Zugabe in g	Hersteller, Ort, Land
MOPS (3-N- Morpholinopropansulfon- säure)	2,0928	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, DE
in 100 ml Reinstwasser lösen, pH Wert auf 7 einstellen bei 4°C		

Tabelle 54: Herstellung von 1000 µM Ammonium in MOPS (pH 7) zur Bestimmung von Ammonium

Substanz	Zugabe	Hersteller, Ort, Land
Ammoniumchlorid	0,0535 g	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
In 100 mM MOPS (pH 7)	10 ml	
Lösung 2 mal 1:10 verdünnen		

Tabelle 55: Herstellung einer Natriumhypochloritlösung (0,2 %) in 1 M Natriumhydroxid für die Bestimmung von Ammonium

Substanz	Zugabe in ml	Hersteller, Ort, Land
Natriumhypochlorit 12 %ig	1	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, DE
Natriumhydroxid 1 M	59	

## Anhang

Tabelle 56: Standardreihe für die Ammoniumbestimmung

Endkonzentration NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> in µM	Aus 1000 µM NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (A)	Volumen (A) in µl	Volumen Verdünnungsmedium (V) in µl
400	1000	400	600
350	1000	350	650
300	1000	300	700
250	1000	250	750
200	400	500	500
150	300	500	500
100	200	500	500
50	100	500	500

<sup>1</sup> NH<sub>4</sub><sup>+</sup> = Ammonium

### A7 Bestimmung von Phenol und Indol im Kot

Tabelle 57: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung von Phenol und Indol im Kot der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Gaschromatograf (Typ: GC 6890 N)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Zentrifuge (Avanti J-26 XP)	Beckman Coulter	Krefeld, DE
Oakridge- Zentrifugenröhrchen	Thermo Fisher Scientific, Nalgene	Waltham, USA
Eppendorf Gefäß	Eppendorf AG	Hamburg, DE
Probengefäß (Screw cap vials)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Methanol	Sigma Aldrich	St. Louis, USA

## Anhang

### A8 Bestimmung biogener Amine im Kot

Tabelle 58: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien zur Bestimmung der biogenen Amine im Kot der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Aminosäurenanalysator (Biochrom 20Plus)	Labor-service GmbH	Onken Gründau, DE
Polyamin-Ionenaustauschersäule	Labor-service GmbH	Onken Gründau, DE
Schüttler VV3	VWR International GmbH	Darmstadt, DE
Zentrifuge (Typ: 5415 C)	Eppendorf AG	Hamburg, DE
Cellulose-Acetat- Spritzenvorsatzfilter (0,45 µm, 25 mm)	VWR International GmbH	Darmstadt, DE
Ninhydrin	Labor-service GmbH	Onken Gründau, DE

### A9 Extraktion der DNA aus den Kotproben

Tabelle 59: Verwendete Geräte und Materialien zur Extraktion der DNA aus den Kotproben der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Analysenwaage (Typ: Sartorius BP 110S)	Sartorius AG	Göttingen, DE
MP FastPrep 24™ 5G	MP Biomedicals	Santa Ana, USA
Quiagen® PowerSoil DNA Kit	MO BIO Laboratories Inc.	Carlsbad, USA
FastPrep 24 Lysing Matrix E- Röhrchen	MP Biomedicals	Santa Ana, USA
PV-1 Vortex Mixer	Grant Instruments Ltd.	Cambridge, UK
Eppendorf® Zentrifuge 5430	Eppendorf AG	Hamburg, DE
Eppendorf Safe Lock Tubes (1,5 und 2 ml)	Eppendorf AG	Hamburg, DE

## Anhang

### A10 Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Harn

Tabelle 60: Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien zur Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Harn der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
HPLC Agilent 1100	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Lithiumcarbonat	Sigma Aldrich (Fluka)	St. Louis, USA
Borsäure	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, DE
Probengefäß (Screw cap vials)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA

### A11 Bestimmung von Indican im Harn

Tabelle 61: Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien zur Bestimmung von Indican im Harn der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
QuantiChrom Indican Assay Kit	BioAssay Systems	Hayward, USA
UV-Mikroküvette (Zentrumshöhe 15mm)	Brandt GmbH + Co KG	Wertheim, DE
Photometer (Ultrospec 3300 pro)	Amersham Biosciences	Little Chalfont, UK
1,5 ml Greiner Tubes	Greiner Bio One	Kremsmünster, AT
Pipetten (1000 µl, 100 µl, 200 µl, 10 µl, 20 µl)	Sorenson Bioscience	Salt Lake City, USA
Zentrifuge (Heraeus Fresco 17)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA

## Anhang

Tabelle 62: Standard-Stammlösung: Bestandteil des Kits; Konzentration: 30 mg/dl

Ifd.-Nr.	Endkonzentration in mg/dl	Verdünnungs- stufe	Vol.		
			Standard in µl	Vol. H <sub>2</sub> O in µl	Endvol. in µl
RLW <sup>1</sup>	0	0	0	600	600
1	0,5	1/60	10	590	600
2	1	1/30	20	580	600
3	2	1/15	40	560	600
4	4	2/15	80	520	600
5	6	1/5	120	480	600
6	8	4/15	160	440	600
7	10	1/3	200	400	600

<sup>1</sup> RLW = Reagenzienleerwert

### A12 Bestimmung von Phenol und Indol im Harn

Tabelle 63: Verwendete Geräte, Materialien und Chemikalien zur Bestimmung von Phenol und Indol im Harn der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Gaschromatograf GC 6890 N	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Zentrifuge Fresco 21	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
Probengefäß (Screw cap vials)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Konz. Ameisensäure (85 %)	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, DE
β- Glucuronidase/Arylsulfatase	Sigma Aldrich	St. Louis, USA

A13 Bestimmung der Osmolalität im Harn

Tabelle 64: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der Osmolalität im Harn der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Osmometer Typ OM 806	Vogel Medizinische Technik & Elektronik	Gießen, DE
Eppendorfgefäß	Eppendorf AG	Hamburg, DE

A14 Bestimmung des pH-Wertes in Kot und Harn

Tabelle 65: Verwendete Geräte für die Bestimmung des pH-Wertes in Kot und Harn der Hunde

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
pH- Messelektrode	Mettler Toledo	Gießen, DE
Eppendorfgefäß	Eppendorf AG	Hamburg, DE



## Veröffentlichungen

### Posterbeiträge

22<sup>nd</sup> Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition,  
München – 06.-09.09.2018

Bauer, L., Zentek, J. (2018).

*The impact of varying levels of protein and fibers on digestibility and bacterial metabolites in dogs.*

In: Congress Proceedings, ISBN: 978- 3- 00- 058952- 2: S. 216

11. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar "Biomedical Sciences"  
Berlin – 21.09.2018

Bauer, L., Kriesten, A.; Ebersbach, L.; Topp, K.; Zentek, J. (2018).

*Comparison of different fiber analytic methods and their limitations.*

In: Proceedings, ISBN: 978-3-86387-929-7: S.36

## Danksagung

Zuallererst möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Jürgen Zentek für die Möglichkeit der Promotion am Institut für Tierernährung sowie die stete Unterstützung und Beratung bei der Anfertigung dieser Arbeit bedanken. Ich bedanke mich besonders für sein offenes Ohr und die uneingeschränkte Bereitschaft, Probleme und Fragen zeitnah zu diskutieren und zu klären.

Mein Dank gilt zudem der Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Forschung e.V. für die finanzielle Förderung.

Bei Herrn Dr. Wilfried Vahjen und Herrn Temesgen Hailemariam Dadi bedanke ich mich herzlich für ihre großartige Hilfsbereitschaft und Beratung bei der Statistik.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. Barbara Kohn für die Untersuchung der Blutproben in der Kleintierklinik der Freien Universität sowie bei Frau PD Dr. Nadine Paßlack für die Leitung des Versuches.

Besonders herzlich bedanken möchte ich mich bei Anett Kriesten, Luisa Ebersbach, Katharina Schröter, Marita Eitinger und Susan Paetzelt für die technische Assistenz im Labor, die Hilfe bei kleinen und großen Fragen sowie die großartige mentale Unterstützung in schwierigen Zeiten. Ich bedanke mich vor allem bei Frau Anett Kriesten für die Hilfe bei Problemen und Fragen der Faseranalytik.

Mein besonderer Dank geht an die Tierpfleger Corinna Schmidt, Kim Kerstan, Sandra Fischer, Chris Schulze und Ines Bebert für die Hilfe bei der Organisation und Durchführung der Studie sowie der liebevollen Betreuung der Hunde.

Für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre und die Verschönerung des Arbeitsalltages bedanke ich mich sehr bei meiner Büro Kollegin Eva-Maria Saliu sowie bei den anderen Mitarbeitern des Instituts.

Mein größter und aufrichtiger Dank gilt meiner Familie, meinem Mann und meinen Freunden, ohne deren unermüdliche Unterstützung, Motivation und Rückhalt die Anfertigung dieser Arbeit weitaus schwieriger gewesen wäre. Ich möchte besonders meinen Eltern danken, dass sie mir das Studium, diese Arbeit und meinen bisherigen Weg ermöglicht haben. Danke David, dass Du immer für mich da bist!

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen Anspruch genommen habe.

Berlin, den 20.05.2019

Anne Laura Eisenhauer











**mbv**berlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-86387-977-8