

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

**Ernährungsbiologische Untersuchungen zum Einsatz "neuer" pflanzlicher  
Proteinquellen sowie zu der Relevanz des Getreideanteils  
in der Ernährung von Hunden**

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

vorgelegt von  
**Jennifer Litzenburger**  
Tierärztin  
aus Saarbrücken

Unterstützt mit Mitteln der Gesellschaft zur Förderung kynologischer Forschung

Berlin 2024

Journal-Nr.: 4491

Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereichs  
Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

<b>Dekan:</b>	Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler
<b>Erster Gutachter:</b>	Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
<b>Zweiter Gutachter:</b>	PD Dr. Gunnar Loh
<b>Dritter Gutachter:</b>	Prof. Dr. Nadine Paßlack

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus): dogs, animal nutrition, feeds, animal feeding, protein nutrients

**Tag der Promotion: 18.12.2024**

“Natürlich kann man ohne Hund leben, es lohnt sich nur nicht.”

(Heinz Rühmann)

## **Harley und Familie**

## Inhalt

Tabellenverzeichnis.....	VI
Abbildungsverzeichnis.....	XIII
Abkürzungsverzeichnis.....	XIV
1 Einleitung.....	1
2 Literatur.....	2
2.1 Domestizierung und ihre Auswirkungen auf die Ernährung von Hunden.....	2
2.2 Pflanzenbasierte Proteinquellen in der Ernährung des Hundes.....	2
2.2.1 Charakterisierung, Nährstoffzusammensetzung.....	2
2.2.2 Fütterungsstudien mit pflanzenbasierten Proteinquellen bei Hunden.....	6
2.3 Getreidefreie Ernährung des Hundes.....	9
2.3.1 Pseudogetreide: Definition und Beispiele.....	9
2.3.2 Fütterungsstudien mit getreidefreier Ernährung von Hunden.....	11
2.4 Antinutritive Faktoren.....	17
2.4.1 Definition und Arten von antinutritiven Faktoren in pflanzlichen Proteinquellen, Getreide und Pseudogetreide.....	17
2.4.2 Verarbeitungsmethoden zur Reduzierung antinutritiver Faktoren.....	20
2.4.3 Auswirkungen auf die Gesundheit und Ernährung des Hundes.....	21
2.5 Studien zu vegetarischen und veganen Alleinfuttermitteln bei Hunden.....	22
2.5.1 Nährstoffprofil und Akzeptanz.....	22
2.5.2 Langzeitauswirkungen auf die Gesundheit.....	26
2.6 Bedeutung einer ausgewogenen Aminosäurenversorgung.....	26
2.6.1 Essenzielle und nicht essenzielle Aminosäuren.....	26
2.6.2 Verwertung von Aminosäuren.....	26
2.6.3 Taurin.....	27
2.6.4 Schwefelhaltige Aminosäuren.....	29
2.6.5 Weitere Aminosäuren und ihre ernährungsphysiologische Bedeutung.....	29
2.7 Einsatz pflanzlicher Proteine in Diäten für Hunde.....	30
2.7.1 Vergleich mit tierischen Proteinen.....	30
2.7.2 Effekte der Proteinversorgung auf die Tiergesundheit.....	31
2.7.3 Dilatative Kardiomyopathie.....	32
2.7.4 Zusammenhang mit der Ernährung.....	32
2.7.5 Andere Einflussfaktoren.....	35
2.8 Rolle von pflanzlichen und tierischen Proteinen bei der Entwicklung von Futtermittelunverträglichkeiten und -allergien.....	35
2.9 Nutzen und Risiken pflanzlicher Proteinquellen für die Gesundheit des Hundes.....	37

3	Material und Methoden.....	38
3.1	Versuchsziel.....	38
3.2	Hunde.....	38
3.3	Versuchsdiäten.....	38
3.4	Versuchsplan .....	40
3.4.1	Probensammlung und -entnahme .....	42
3.4.2	Kotsammlung .....	42
3.4.3	Harnsammlung .....	43
3.4.4	Blutentnahme .....	43
3.5	Analysen.....	43
3.5.1	Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit .....	43
3.5.2	Durchführung.....	43
3.5.3	Bestimmung der Rohrnährstoffe.....	44
3.5.4	Bestimmung der Neutral- und Säure-Detergenzien-Faser.....	45
3.5.5	Bestimmung der Mengen- und Spurenelemente.....	45
3.5.6	Titandioxidbestimmung .....	46
3.5.7	Bestimmung der Aminosäuren .....	46
3.6	Bestimmung der bakteriellen Metabolite in den Kotproben.....	47
3.6.1	Kurzketige Fettsäuren.....	47
3.6.2	L- und D-Laktat.....	47
3.6.3	Ammonium.....	48
3.6.4	Phenole und Indole.....	48
3.6.5	Biogene Amine .....	49
3.7	Mikrobiologische Methoden .....	49
3.7.1	Extraktion bakterieller DNA aus Kot .....	49
3.7.2	Illumina®-Sequenzierung.....	50
3.7.3	Erstellung eines Dendrogramms .....	50
3.8	Untersuchungen von Harn.....	50
3.8.1	Vorbereitung.....	50
3.8.2	Stickstoff .....	50
3.8.3	Phenole und Indole.....	51
3.8.4	Harnsäure und Kreatinin .....	51
3.8.5	Bestimmung der Anionen.....	51
3.8.6	Bestimmung der Kationen.....	51
3.8.7	Bestimmung der Osmolalität .....	52
3.9	Bestimmung der Blutparameter.....	52
3.9.1	Hämatologische Untersuchung .....	52

3.9.2	Differentialblutbild.....	52
3.9.3	Klinisch-chemische Parameter im Blut.....	53
3.9.4	Bestimmung der Aminosäuren im Blut.....	53
3.10	Statistische Auswertung.....	53
4	Ergebnisse.....	54
4.1	Versuchsdiäten.....	54
4.2	Gesundheitszustand und Körpermasse der Hunde.....	55
4.3	Kotkonsistenz.....	55
4.4	Untersuchung der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit der Versuchsdiäten.....	56
4.4.1	Untersuchungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Rohrnährstoffe.....	56
4.4.2	Untersuchungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Mineralstoffe.....	57
4.4.3	Korrelation zwischen der Futterraufnahme und der scheinbaren Verdaulichkeit der Mineralstoffe.....	61
4.5	Untersuchungen der fäkalen Konzentrationen mikrobieller Metabolite und Kotbeschaffenheit.....	61
4.5.1	Ammonium, D/L-Laktat sowie Phenol, Indol und 3-Methylindol.....	61
4.5.2	Biogene Amine.....	65
4.5.3	Kurzkettenige Fettsäuren.....	68
4.5.4	pH-Wert und Trockensubstanz der Fäzes.....	71
4.6	Untersuchungen der Zusammensetzung der fäkalen Mikrobiota.....	73
4.6.1	Untersuchung der bakteriellen Phyla.....	73
4.6.2	Untersuchungen der bakteriellen Genera.....	75
4.6.3	Untersuchungen der bakteriellen Diversität.....	79
4.7	Visualisierung der fäkalen Metabolite und Mikrobiota mittels Dendrogramm und „Heatmap“.....	81
4.8	Untersuchungen der Parameter im Harn.....	86
4.8.1	Untersuchungen zur Harnzusammensetzung.....	86
4.8.2	Anionen und Kationen im Harn sowie relative Übersättigung mit Struvit und Calciumoxalat.....	88
4.8.3	Korrelation zwischen der Futterraufnahme und Harnkonzentrationen der Mineralstoffe.....	91
4.8.4	Konzentration von Phenolen und Indol im Harn.....	91
4.9	Untersuchungen der Parameter im Blut.....	93
4.9.1	Blutbild.....	93
4.9.2	Klinisch-chemische Parameter.....	98
4.9.3	Aminosäuren.....	101
5	Diskussion.....	104

5.1	Versuchsdesign.....	104
5.2	Versuchsdiäten.....	104
5.3	Versuchstiere .....	104
5.4	Kotkonsistenz.....	105
5.5	Untersuchung der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit .....	105
5.5.1	Untersuchungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Rohrnährstoffe.....	105
5.5.2	Untersuchungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Mineralstoffe .....	109
5.6	Untersuchungen der intestinalen Mikrobiota und Kotbeschaffenheit.....	110
5.6.1	Ammonium, D/L-Laktat, Phenol und Indol.....	110
5.6.2	Biogene Amine .....	115
5.6.3	Kurzkettige Fettsäuren.....	116
5.6.4	pH-Wert und Trockensubstanz der Fäzes.....	117
5.7	Untersuchungen der Zusammensetzung der fäkalen Mikrobiota .....	118
5.7.1	Untersuchungen der bakteriellen Phyla .....	119
5.7.2	Untersuchungen der bakteriellen Genera .....	120
5.7.3	Untersuchungen der bakteriellen Diversität .....	123
5.8	Visualisierung der fäkalen Metabolite und Mikrobiota mittels Dendrogramm und „Heatmap“ .....	123
5.9	Untersuchungen der Parameter im Harn.....	126
5.9.1	Untersuchungen der Harnzusammensetzung.....	126
5.9.2	Anionen und Kationen sowie relative Übersättigung für Struvit und Calciumoxalat 127	
5.10	Untersuchungen der Parameter im Blut.....	127
5.10.1	Blutbild .....	127
5.10.2	Klinisch-chemische Parameter.....	128
5.10.3	Aminosäuren .....	129
5.11	Schlussfolgerung und Ausblick .....	132
6	Zusammenfassung.....	133
7	Summary .....	135
8	Literaturverzeichnis .....	137
	Anhang.....	170
	Verwendete Materialien .....	170
	Referenzwerte .....	185
	Veröffentlichungen.....	187
	Danksagung .....	189
	Finanzierungsquellen.....	190
	Interessenskonflikte.....	190

Selbstständigkeitserklärung ..... 191

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht zur Nährstoffzusammensetzung pflanzlicher Proteinquellen für die Hundeernährung nach Zentek (2022).....	5
Tabelle 2: Übersicht zu den Aminosäuregehalten pflanzlicher Proteinquellen für die Hundeernährung nach Zentek (2022).....	5
Tabelle 3: Übersicht der Studien zur pflanzenbasierten Ernährung bei Hunden .....	8
Tabelle 4: Übersicht über die durchschnittlichen Nährstoffgehalte von Amaranth, Buchweizen und Quinoa.....	10
Tabelle 5: Übersicht über die durchschnittlichen Aminosäuregehalte von Quinoa, Amaranth und Buchweizen.....	11
Tabelle 6: Übersicht der Untersuchungen zur getreidefreien Ernährung bei Hunden in Verbindung mit einer DCM <sup>4</sup> .....	15
Tabelle 7: Antinutritive Faktoren in Getreide, Pseudogetreide und Hülsenfrüchten und ihre Eigenschaften.....	19
Tabelle 8: Übersicht der Studien zur Beurteilung veganer Alleinfuttermittel bei Hunden und Katzen.....	24
Tabelle 9: Rassespezifische Unterschiede in der Taurinsynthese, in Anlehnung an Ko et al. (2007) .....	28
Tabelle 10: Übersicht verschiedener Aminosäuren und ihre wichtigsten Eigenschaften.....	29
Tabelle 11: Vergleich der scheinbaren Verdaulichkeit (%) von pflanzlichen und tierischen Eiweißquellen nach (Zentek 2022) .....	31
Tabelle 12: Gruppeneinteilung, Name, Geschlecht und Geburtsdatum der Hunde .....	38
Tabelle 13: Übersicht zu den eingesetzten Versuchsmischungen für die Fütterungsstudie mit Austausch einer tierischen Proteinquelle gegen pflanzliches Protein in Kombination mit Getreide oder Quinoa .....	39
Tabelle 14: Zusammensetzung der Versuchsdiäten für die Hunde (%) .....	40
Tabelle 15: Zuordnung der Diäten im zeitlichen Verlauf.....	41
Tabelle 16: Schematische zeitliche Darstellung des Versuchsablaufs innerhalb der Fütterungsperioden der Hunde.....	42
Tabelle 17: Bewertungsskala für die Beurteilung der Kotkonsistenz der Hunde .....	42
Tabelle 18: Zusammensetzung der acht Versuchsdiäten.....	54
Tabelle 19: Aminosäurekonzentrationen in den Versuchsdiäten .....	55
Tabelle 20: Kotscore <sup>1</sup> nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen.....	56

Tabelle 21: Scheinbare Verdaulichkeit (%) der Rohnährstoffe und Mengenelemente nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10 .....	59
Tabelle 22: Scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe und Mengenelemente nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	60
Tabelle 23: Regressionsgleichung zwischen scheinbare Verdaulichkeit und der Mineralstoffaufnahme über das Futter (mg/kg Körpermasse) .....	61
Tabelle 24: Konzentration der mikrobiellen Metabolite Ammonium, D/L-Laktat sowie Phenol, Indol und 3-Methylindol ( $\mu\text{mol/g}$ ursprüngliche Substanz) im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen, n=10	63
Tabelle 25: Konzentration der mikrobiellen Metabolite Ammonium, D/L-Laktat sowie Phenol, Indol und 3-Methylindol im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen, Darstellung der Interaktionen, n=10.....	64
Tabelle 26: Konzentration der mikrobiellen Metabolite biogene Amine ( $\mu\text{mol/g}$ ursprüngliche Substanz) im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	66
Tabelle 27: Konzentration der mikrobiellen Metabolite biogene Amine im Hundekot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	67
Tabelle 28: Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren ( $\mu\text{mol/g}$ ursprüngliche Substanz) im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10 .....	69
Tabelle 29: Konzentration der mikrobiellen Metabolite kurzkettige Fettsäuren im Hundekot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen.....	70
Tabelle 30: Trockensubstanz (g/kg) und pH-Wert des Hundekots nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	72
Tabelle 31: Trockensubstanz (g/kg ursprüngliche Substanz) und pH-Wert des Hundekots nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	72

Tabelle 32: Relatives Vorkommen (%) bakterieller Phyla im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	74
Tabelle 33: Relatives Vorkommen bakterieller Phyla im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktion, n=10 .....	74
Tabelle 34: Relatives Vorkommen [%] bakterieller Genera im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	77
Tabelle 35: Relatives Vorkommen bakterieller Genera im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	78
Tabelle 36: Darstellung der bakteriellen Diversität im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	80
Tabelle 37: Darstellung der bakteriellen Diversität im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	80
Tabelle 38: pH-Wert, Osmolarität, Stickstoff und Kreatinin und Harnstoff im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10 .....	87
Tabelle 39: pH-Wert, Osmolarität, Stickstoff und Kreatinin und Harnstoff im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	87
Tabelle 40: Anionen und Kationen (µg/ml) im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	89
Tabelle 41: Anionen und Kationen gemessen im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	90
Tabelle 42: Regressionsgleichung mit der abhängigen Variablen gemessener Gehalt der Mineralstoffe im Urin (µg/ml), unabhängige Variable Mineralstoffaufnahme über das Futter (mg/kg Körpermasse) .....	91
Tabelle 43: Indol und Phenol (µmol/ug ursprüngliche Substanz) im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	92

Tabelle 44: Indol und Phenol im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	92
Tabelle 45: Blutbild der Hunde nach Fütterung mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10 .....	94
Tabelle 46: Blutbild der Hunde nach Fütterung mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10.....	96
Tabelle 47: Klinisch-chemische Parameter der Hunde nach Fütterung mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	99
Tabelle 48: Klinisch-chemische Parameter der Hunde nach Fütterung mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	100
Tabelle 49: Aminosäurenkonzentrationen (nmol/ml) im Serum nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10.....	102
Tabelle 50: Aminosäuren (nmol/ml) gemessen im Serum nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10 .....	103
Tabelle 51: Verwendete Geräte und Materialien zur Blutentnahme .....	170
Tabelle 52: Verwendete Geräte und Materialien zur Analyse der Nährstoffe und Bestimmung des Titandioxidgehalts, der scheinbaren Verdaulichkeit von Rohfaser, Rohprotein, Rohasche, Rohfett sowie der Mengen- und Spurenelemente .....	170
Tabelle 53: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat- Lösung für die Phosphorbestimmung: Herstellung der Ammoniummolybdat- Lösung .....	171
Tabelle 54: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat- Lösung für die Phosphorbestimmung: Herstellung der Ammoniummetavanadat- Lösung für die Phosphorbestimmung.....	171
Tabelle 55: Zusammensetzung der der Nitrovanadatmolybdat- Lösung für die Phosphorbestimmung: Herstellung der Nitrovanadatmolybdat- Lösung.....	171
Tabelle 56: Zusammensetzung der Kalibrierlösung für die Phosphorbestimmung .....	171
Tabelle 57: Verwendete Geräte und Materialien zur ADF- und NDF- Bestimmung .....	172
Tabelle 58: Herstellung der NDF Lösung I .....	172
Tabelle 59: Herstellung der NDF Lösung II .....	172
Tabelle 60: Herstellung der ADF Lösung.....	173
Tabelle 61: Verwendete Geräte und Materialien zur Aminosäurenbestimmung im Futter ...	173

Tabelle 62: Herstellung der Oxidationslösung zur Aminosäureanalytik.....	173
Tabelle 63: Herstellung der Hydrolysemischung.....	173
Tabelle 64: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot.....	173
Tabelle 65: Herstellung der Standardlösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot.....	174
Tabelle 66: Herstellung der Stammlösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren ...	174
Tabelle 67: Herstellung der Verdünnungslösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren .....	174
Tabelle 68: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung des D- und L-Laktats....	174
Tabelle 69: Herstellung der Lösung A: Kupfer-II-Sulfat-Lösung mit 2- Propanol zur Bestimmung der Laktatkonzentration .....	175
Tabelle 70: Herstellung der Lösung B: Kupfer-II-Sulfat- Lösung zur Bestimmung der Laktatkonzentration .....	175
Tabelle 71: Herstellung der Lösung C: Carrenz I zur Bestimmung von D- und L-Laktat.....	175
Tabelle 72: Herstellung der Lösung D: Carrez II zur Bestimmung von D- und L-Laktat.....	175
Tabelle 73: Herstellung der Stammlösung (10 mmol/l) zur Laktatbestimmung.....	175
Tabelle 74: Herstellung der 1 mmol/l Lösung zur Bestimmung von D- und L-Laktat .....	176
Tabelle 75: Herstellung der 0,1mmol/l Lösung Zur Laktatbestimmung .....	176
Tabelle 76: Verwendete Geräte und Materialien zur Ammoniumbestimmung .....	176
Tabelle 77: Herstellung des MOPS-Pufferlösung zur Ammoniumbestimmung.....	176
Tabelle 78: Herstellung von 10ml Ammonium in MOPS (pH7) zur Bestimmung von Ammonium .....	176
Tabelle 79: Herstellung der Natriumhypochloritlösung (0,2 %) in 1 M Natriumhydroxid zur Bestimmung von Ammonium.....	177
Tabelle 80: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung von Phenol und Indol in den Kotproben.....	177
Tabelle 81: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der biogenen Amine in den Kotproben.....	177
Tabelle 82: Herstellung der Standardprobenlösung zur Bestimmung der biogenen Amine	178
Tabelle 83: Verwendete Geräte und Materialien zur Extraktion der DNA aus Hundekot.....	178
Tabelle 84: Verwendete Geräte und Materialien zur Vorbereitung der Urinproben für weitere Untersuchungen .....	178
Tabelle 85: Verwendete Geräte und Materialien zur Stickstoffbestimmung .....	178
Tabelle 86: Verwendete Geräte und Materialien zur Phenol- und Indol-Bestimmung.....	178
Tabelle 87: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der Harnsäure und des Kreatinins.....	179

Tabelle 88: Herstellung des Lithiumcarbonat Pufferlösung für Harnsäurebestimmung.....	179
Tabelle 89: Herstellung der Harnsäure Stammlösung.....	179
Tabelle 90: Herstellung der Harnsäure Standardlösung .....	179
Tabelle 91: Herstellung der Kreatinin Stammlösung.....	180
Tabelle 92: Herstellung der Kreatinin Standardlösung.....	180
Tabelle 93: Herstellung Eluent C: Phosphatpuffer (0,1M).....	180
Tabelle 94: Herstellung Eluent D .....	180
Tabelle 95: Verwendete Geräte und Materialien zur Anionen Bestimmung in den Harnproben .....	180
Tabelle 96: Herstellung der Anionen-Standardlösung zu Bestimmung der Anionen im Urin	181
Tabelle 97: Herstellung der Major Standardlösung zu Bestimmung der Anionen im Urin ...	181
Tabelle 98: Herstellung der Minor Standardlösung zu Bestimmung der Anionen im Urin ...	181
Tabelle 99: Verwendete Geräte und Materialien zur Kationen Bestimmung in den Harnproben .....	182
Tabelle 100: Herstellung der Salzsäure (0,01M) zur Bestimmung der Kationen im Urin ....	182
Tabelle 101: Herstellung des internen Lithiumstandards I zur Bestimmung der Kationen im Urin .....	182
Tabelle 102: Herstellung des internen Lithiumstandards II zur Bestimmung der Kationen im Urin.....	182
Tabelle 103: Herstellung der Ammonium Stammlösung zur Bestimmung der Kationen im Urin .....	183
Tabelle 104: Herstellung der Natrium- und Kaliumstammlösung zur Bestimmung der Kationen im Urin.....	183
Tabelle 105: Herstellung der Kation Kalibrierungsstandardlösung zur Bestimmung der Kationen im Urin.....	183
Tabelle 106: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Ammonium-Zwischenlösung.....	183
Tabelle 107: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Kalibrierungsstandard I.....	183
Tabelle 108: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Kalibrierungsstandard II.....	184
Tabelle 109: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Kalibrierungsstandard III.....	184
Tabelle 110: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Kalibrierungsstandard IV .....	184
Tabelle 111: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der Osmolalität in den Harnproben .....	184

Tabelle 112: Verwendete Geräte und Materialien zur Erstellung des Blutbildes.....	184
Tabelle 113: Verwendete Geräte und Materialien zur Erstellung des Differentialblutbildes.	184
Tabelle 114: Verwendete Geräte und Materialien zur Untersuchung klinisch-chemischer Parameter im Blut.....	185
Tabelle 115: Verwendete Geräte und Materialien zur Analyse der Aminosäuren m Blut.....	185
Tabelle 116: Referenzbereiche für die hämatologische Untersuchungen nach Herstellerangabe Sysmex.....	185
Tabelle 117: Referenzbereiche (Zellzahl/ $\mu$ l) für Differentialblutbild nach Herstellerangabe Sysmex.....	185
Tabelle 118: Referenzbereiche für klinische Chemie nach Herstellerangabe Kone Lab.....	186

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ähnlichkeitsdendrogramm über den Einfluss der Proteinquellen auf die fäkalen Metabolite.....	82
Abbildung 2: Ähnlichkeitsdendrogramm über den Einfluss der Proteinquellen auf die fäkalen Mikrobiota.....	83
Abbildung 3: Visualisierung des Proteineinflusses auf die fäkalen Metabolite mittels „Heatmap“ .....	84
Abbildung 4: Visualisierung des Proteineinflusses auf die fäkalen Mikrobiota mittels „Heatmap“ .....	85

## Abkürzungsverzeichnis

®	Eingetragenes Warenzeichen
°C	Grad Celsius
AAFCO	Association of American Feed Control Officials
ADF	Acid Detergent Fiber
ALT	Alanin-Aminotransferase
ALT Alanin-Aminotransferase	ALT Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
Baso	Basophile Granulozyten
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DNA	Desoxyribonucleic Acid/Desoxyribonucleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
Eo	eosinophile Granulozyten
ESVC	European Society of Veterinary Cardiology
FDA	Food and Drug Administration
FEDIAF	Fédération Européenne de l'Industrie des Aliments pour Animaux Familiers/ European Pet Food Industry Federation
GB	Getreidebasierte Diät
GF	Getreidefreie Diät
HCl	Salzsäure
HCT	Hämatokrit
HFR	High Fluorescence Ratio
HGB	Hämoglobin
IgE	Immunglobulin E
IRF	Reticulozytenreifeindex
LFR	Low Fluorescence Ratio
Li- Heparin	Lithium-Heparin
Lymph	Lymphozyten
MCH	Mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt
MCHC	Mittlere Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres Zellvolumen
MFR	Medium Fluorescence Ratio
Mono	Monozyten
MOPS	3-N-Morpholinopropansulfonsäure
MPV	Mittleres Thrombozytenvolumen
n.a.	Nicht angegeben
NaOH	Natriumhydroxid
NDF	Neutral Detergent Fiber
Neut	Neutrophile Granulozyten
NfE	Stickstofffreie Extraktstoffe
nm	Nanometer
NRC	National Research Council
NT- proBNP	N-terminales pro B-Typ natriuretisches Peptid
PCT	Procalcitonin
PDW	Thrombozytenverteilungsbreite
PLT	Thrombozyten
RBC	Erythrozyten
RET	Reticulozyten

Rp  
rRNA  
SCFA  
TS  
w/v  
WBC  
WSAVA

Rohprotein  
Ribosomale Ribonukleinsäure  
Kurzketttige Fettsäuren  
Trockensubstanz  
Masse pro Volumen  
Leukozyten  
World Small Animal Veterinary Association

# 1 Einleitung

In der Praxis spielt die Ernährung des Hundes mit pflanzlichen Komponenten sowie die Diskussion um die mögliche Rolle von Getreide als Auslöser von Futterunverträglichkeiten eine bedeutsame Rolle. Wissenschaftliche Daten zur Beurteilung heute vielfach gebräuchlicher pflanzlicher Eiweißkomponenten bzw. auch Alternativen zum Getreide bei Hunden sind bisher nur in geringem Umfang verfügbar.

Nachweislich hat sich der Hund durch die Domestikation an die Ernährung des Menschen angepasst, was unter anderem zu einer vermehrten Expression der stärke-spaltenden Amylase führte. Des Weiteren zeigen verschiedene Arbeiten, dass pflanzliche und tierische Eiweißquellen nach entsprechender Aufarbeitung eine ähnliche scheinbare Verdaulichkeit aufweisen. Daraus erschließt sich die Möglichkeit einer bedarfsdeckenden Ernährung mit pflanzlichen Komponenten infolge der hohen Anpassungsfähigkeit des Hundes.

Entscheidend dafür ist die ausreichende Versorgung mit essenziellen Aminosäuren, einschließlich der Aminosäure Taurin. So konnten inzwischen rassespezifische Unterschiede zur Eigensynthese von Taurin festgestellt werden.

Ergänzend zu den Eiweißlieferanten wird Getreide als Kohlenhydratquelle eingesetzt. Vielen Tierhalterinnen und Tierhaltern sehen den Einsatz von Getreide kritisch. Daher spielen Ersatzprodukte, zum Beispiel sogenannte Pseudogetreide, eine gewisse Rolle. Dazu liegen kaum wissenschaftliche Studien vor. In diesem Zusammenhang ist auch auf die Gehalte an antinutritiven Inhaltsstoffen der pflanzlichen Komponenten hinzuweisen. Die Wechselwirkung zwischen Getreide, sogenanntem Pseudogetreide und pflanzlichen Eiweißlieferanten ist noch nicht umfangreich erforscht bzw. fehlen wissenschaftliche Daten als Diskussionsgrundlage. Die der eigenen Studie zugrunde liegende Hypothese lautet, dass pflanzliche Proteinquellen und Quinoa in der Ernährung von Hunden nicht zu einer geringeren Nährstoffverdaulichkeit und negativen Veränderungen in den fäkalen mikrobiellen Metaboliten, der fäkalen Mikrobiota sowie den Harn- und Blutparametern im Vergleich zu traditionellen Diäten mit tierischen Proteinen und Weizen führen. Das Ziel dieser Studie war es, die Auswirkungen verschiedener pflanzlicher Proteinquellen (Erbsen- und Bohnenkonzentrat) und Kohlenhydratquellen (Weizen und Quinoa) in Futtermischungen auf die scheinbare Verdaulichkeit der Nährstoffe, die fäkalen mikrobiellen Metabolite, die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota sowie Harn- und Blutparameter bei Hunden zu untersuchen. Dadurch sollte festgestellt werden, ob pflanzliche Proteinquellen und Quinoa als Alternativen zu herkömmlichen tierischen Proteinen und Getreide in der Hundeernährung dienen können.

## 2 Literatur

### 2.1 Domestizierung und ihre Auswirkungen auf die Ernährung von Hunden

Während Wölfe Beutetierfresser sind, hatten Hunde, die zwischen der späten Bronzezeit und der Eiszeit domestiziert wurden, ihr Nahrungsspektrum verändert und waren keine reinen Fleischfresser mehr. Stattdessen passten sich die Hunde an die kohlenhydratreichere Ernährung des Menschen an. Es wird angenommen, dass die Menschen damals ihre Hunde unter anderem mit Resten ihrer eher pflanzenbasierten Nahrung fütterten (Albizuri et al. 2021). Damit bestand die Ernährung des Hundes nicht nur aus einer Komponente, insbesondere tierischen Proteinquellen, sondern auch aus Kohlenhydraten. Der Anteil an Kohlenhydraten in der Ernährung des Hundes führte zu einer höheren Expression von Verdauungsenzymen wie Amylase und Maltase, die für die Verdauung von Stärke notwendig sind. Die Fähigkeit, Stärke zu verdauen, gilt als wichtiger Schritt bei der frühen Domestizierung des Hundes und unterscheidet ihn von Wölfen (Axelsson et al. 2013). Aufgrund der Domestizierung von Wolfsvorfahren zu rezenten Hunden änderte sich also nicht nur das äußere Erscheinungsbild, sondern auch die Verdauungsphysiologie. In einer Studie wurde die Verbreitung des Gens *Amy2B* untersucht, indem DNA-Proben von Hunden und Wölfen analysiert wurden, die auf ein Alter von 15000 bis 4000 v. Chr. zurückgehen (Ollivier et al. 2016). Das Gen *Amy2B* kodiert für die Pankreas-Amylase, die im Dünndarm Stärke zu Maltose abbaut. Die Studie ergab eine verstärkte Expression von *Amy2B* bei Hunden in verschiedenen Regionen West- und Osteuropas und Südwestasiens (Ollivier et al. 2016). Dies deutet darauf hin, dass eine regionale Anpassung stattgefunden hat, die es Hunden ermöglichte, stärkehaltige Nahrung effizient zu verdauen (Arendt et al. 2014). Es ist anzunehmen, dass diese genetische Veränderung durch die fortschreitende Entwicklung der ackerbaulichen Landwirtschaft erklärt werden kann (Arendt et al. 2016). Darüber hinaus beeinflusste die pflanzenreichere Ernährung nicht nur das Genom des Hundes, sondern auch das Mikrobiom im Verdauungstrakt. Durch den Verlust und Erwerb spezifischer Bakterientaxa passte sich das Darmmikrobiom sowohl an protein- als auch an kohlenhydratreiche Ernährungsweisen an (Alessandri et al. 2019).

### 2.2 Pflanzenbasierte Proteinquellen in der Ernährung des Hundes

#### 2.2.1 Charakterisierung, Nährstoffzusammensetzung

In letzter Zeit hat sich die Ernährung von Hunden von traditionellen Ansätzen zu individuell angepassten Prinzipien durch die Besitzer gewandelt (Oberbauer und Larsen 2021). Die Wahl der Hundebesitzer über die Ernährung des eigenen Hundes orientiert sich an ethischen Grundsätzen, dem Tierschutzgedanken oder auch an der Gesundheit des Individuums (Ingenpass et al. 2021). Der Fokus vieler Hundebesitzer liegt auf Futtermitteln mit hochwertigen, gesunden und möglichst nachhaltigen Zutaten (Oberbauer und Larsen 2021). Tierhalter,

die vegan oder vegetarisch leben, übertragen oft ihre eigenen Ernährungsgewohnheiten auf ihre Hunde und bevorzugen deshalb pflanzliche anstelle von tierischen Eiweißquellen (Ingenpass et al. 2021). Hülsenfrüchte wie Sojabohnen, Linsen und Erbsen sind aufgrund ihrer Eigenschaften durchaus als pflanzliche Proteinquellen geeignet (Reilly et al. 2020a), da sie reich an Aminosäuren wie Lysin, Leucin, Arginin, Glutaminsäure und Asparaginsäure sind (Boye et al. 2010). Die Aminosäure Methionin ist jedoch nur begrenzt enthalten (Reilly et al. 2020a).

Die in pflanzlichen Protein- und Kohlenhydratquellen vorkommenden Kohlenhydrate umfassen Mono-, Di-, Oligo- und Polysaccharide. Letztere werden weiter in Stärke und Nicht-Stärke-Polysaccharide unterteilt. Ernährungsphysiologisch unterscheidet man zwischen verdaulichen und unverdaulichen Kohlenhydraten. Zu den wichtigsten Formen unverdaulicher Kohlenhydrate gehören Nicht-Stärke-Polysaccharide, resistente Stärke und viele Oligosaccharide (Asp 1996). Die in Hülsenfrüchten enthaltene Stärke wird von Hunden gut verdaut und hat aufgrund der Verdauungskinetik günstige Effekte auf den Stoffwechsel von Hunden. Die Stärkeverdauung ist von Faktoren wie der Kornstruktur, dem Verhältnis von Amylose zu Amylopektin und dem Grad der Verkleisterung abhängig (Alvarenga et al. 2021). Neben den einfachen Kohlenhydraten sind auch Oligosaccharide, bestehend aus einer Mischung von Hexose-Oligomeren mit variierendem Polymerisationsgrad, in vielen pflanzlichen Proteinquellen und auch in Getreide enthalten (Delzenne 2003). Es wird zwischen gewöhnlichen und funktionellen Oligosacchariden unterschieden (Kandler und Hopf 1980). Zu letzteren gehören z.B. Fructo-Oligosaccharide, Galacto-Oligosaccharide, Cyclodextrine oder  $\alpha$ -Galactooligosaccharide aus Leguminosen (Rajagopalan und Krishnan 2019). Für den Abbau der Oligosaccharide aus Leguminosen ist das Enzym  $\alpha$ -Galactosidase erforderlich.  $\alpha$ -Galactosidasen hydrolysieren  $\alpha$ -1,6-Verknüpfungen von  $\alpha$ -Galactosid-Resten (Viana et al. 2006). Monogastrier können aufgrund des Fehlens dieses Enzyms die in pflanzlichen Proteinquellen enthaltenen  $\alpha$ -1,6-Galactosid-Bindungen nicht aufspalten (King et al. 2002; Delzenne 2003).

Leguminosen enthalten einen hohen Anteil an unlöslichen und löslichen Faserstoffen, wobei Zellulose und Hemizellulose die Hauptbestandteile darstellen, während Pektin und Lignin in geringerer Konzentration vorhanden sind (Khan et al. 2007). Die löslichen Ballaststoffe können von der intestinalen Mikrobiota fermentiert werden (Eisenhauer et al. 2019), während unlösliche Ballaststoffe die gastrointestinale Transitzeit (Müller et al. 2018) und die Magenentleerung sowie das Volumen der ausgeschiedenen Faeces beeinflussen (Soliman 2019).

Die in Hülsenfrüchten enthaltenen antinutritiven Substanzen können die Verdauung ebenfalls negativ beeinträchtigen (Kong et al. 2022) (siehe dazu 2.4.1). Deshalb ist eine zusätzliche Wärmebehandlung erforderlich, um diese zu deaktivieren und die Verdaulichkeit zu verbessern (Alvarenga et al. 2021). Insbesondere wenn Hülsenfrüchte zu Extrudaten (Reilly et al.

2021) oder Proteinkonzentraten (Reilly et al. 2020b) verarbeitet werden, können sie die Ernährung von Hunden sinnvoll ergänzen.

Eine Übersicht über die Nährstoffzusammensetzung pflanzlicher Proteinquellen ist in Tabelle 1 dargestellt. Die Aminosäurezusammensetzung pflanzlicher Proteinquellen, die überwiegend in der Ernährung von Hunden zum Einsatz kommen, ist in 1NfE= Stickstofffreie Extraktstoffe

Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 1: Übersicht zur Nährstoffzusammensetzung pflanzlicher Proteinquellen für die Hundeernährung nach Zentek (2022)

g/kg TS	Rohasche	Rohfaser	Rohprotein	Rohfett	NfE <sup>1</sup>
Ackerbohnen (groß)	33,0	90,0	250	10,0	487
Erbsen	33,0	58,0	220	13,0	536
Kichererbsen	27,0	21,0	200	34,0	420
Linsen	23,0	39,0	230	6,00	582
Sojabohne getoastet	54,0	65,0	340	160	261
Sojabohnenkonzentrat	58,0	34,0	650	5,00	173
Sojaextraktionsschrot, entschält, getoastet	56,0	29,0	510	8,00	287
Sojaextraktionsschrot, nicht entschält, getoastet	59,0	59,0	450	9,00	303

<sup>1</sup>NfE= Stickstofffreie Extraktstoffe

Tabelle 2: Übersicht zu den Aminosäuregehalten pflanzlicher Proteinquellen für die Hundeernährung nach Zentek (2022)

Aminosäure, g/kg TS	Linsen (gekocht)	Gartenbohnen, weiß, gekocht	Erbsen, gekocht	Sojabohne, getrocknet	Sojaextraktionsschrot, entschält, getoastet	Sojaextraktionsschrot, nicht entschält, getoastet
Arginin	17,9	14,9	21,0	25,8	31,5	31,1
Histidin	5,20	7,00	5,90	9,10	12,2	11,7
Isoleucin	12,4	14,9	14,1	19,5	24,0	21,2
Leucin	16,5	22,6	17,5	31,1	37,3	34,8
Lysin	14,4	18,7	14,3	20,8	30,2	29,1
Methionin	1,70	2,60	2,80	6,40	6,60	6,60
Cystin	1,90	2,30	2,70	6,50	7,30	6,90
Phenylalanin	10,4	14,0	11,5	21,5	24,8	21,8
Threonin	8,40	11,5	8,50	16,3	19,1	18,3
Tryptophan	2,00	2,30	1,70	4,90	6,50	5,90
Valin	12,8	16,3	13,0	19,3	24,7	21,7

## 2.2.2 Fütterungsstudien mit pflanzenbasierten Proteinquellen bei Hunden

Wissenschaftliche Studien, die eine vollständig pflanzenbasierte Ernährung untersuchen, sind bisher begrenzt verfügbar. Ein Überblick ist in Tabelle 3 dargestellt.

Bei sportlich aktiven Hunden kann die Ernährung auch auf Basis pflanzlicher Proteine erfolgen, vorausgesetzt, dass die Diäten dem Nährstoffbedarf des Hundes entsprechen. Dies zeigte eine Studie, in der zwölf Siberian Huskies über einen Zeitraum von 16 Wochen eine fleischfreie Ration basierend auf Sojaextraktionsschrot und Maiskleber (43 %) oder eine fleischhaltige Kontrollration mit Geflügelmehl erhielten. Die 16 Wochen umfassten zwei Wochen Training, zehn Wochen Wettkampf und wiederum vier Wochen Training. Zu Beginn der Studie sowie in der dritten, achten und 16. Woche erfolgte die Entnahme von Blutproben. Der Gesundheitszustand der Hunde wurde regelmäßig kontrolliert und blieb ohne besondere Befunde. Die Blutwerte der Hunde lagen während des Versuchszeit innerhalb des Referenzbereichs. Ein signifikanter Anstieg der Erythrozytenzahl war in beiden Gruppen zu beobachten ( $p < 0,01$ ) (Brown et al. 2009).

In einer weiteren Studie wurde die Verdaulichkeit von Rationen auf pflanzlicher Basis bei Hunden untersucht. In einem Cross-over-Modell erhielten sechs Beagles eine pflanzliche Ration bestehend aus Weizen (29,1 %), Bruchreis (29,1 %), Weizengluten (8,81 %), Reisprotein (8,81 %) und Sonnenblumenöl (6,8 %) sowie eine Kontrollration bestehend aus Weizen (30,6 %), Bruchreis (30,6 %), Geflügelmehl (19,5 %) und Geflügelfett (5,23 %). Zudem enthielten beide Diäten Geschmacksverstärker (3 %), Zuckerrübenschnitzel (2,94 bis 3 %), Bierhefe (2 %), Leinsamen (2 %) und Dicalciumphosphat (1,01 bis 3,24 %). Die Fütterungsstudie dauerte insgesamt 24 Tage, wobei die Eingewöhnungsphase für das Futter sechs Tage und die Sammelphase für die Fäkalien weitere sechs Tage betrug. Untersucht wurde die Verdaulichkeit der organischen Substanz, des Rohproteins, der stickstofffreien Extraktstoffe (NfE) und des Rohfetts. Hinsichtlich der Verdaulichkeit der organischen Substanzen, von Rohprotein und Rohfett gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen vegetarischer und fleischbasierter Ernährung. Allerdings wiesen Hunde, die mit Fleisch gefüttert wurden, eine minimal höhere ( $p < 0,05$ ) Verdaulichkeit der stickstofffreien Extraktstoffe (89,5 %) auf als Hunde, die vegetarisch ernährt wurden (88,6 %) (Ingenpass et al. 2021).

Eine weitere Studie kam ebenfalls zu dem Ergebnis, dass pflanzliche Proteinquellen für die Ernährung von Hunden geeignet sind. Zehn Beagles erhielten fünf Rationen, die entweder Kichererbsen, grüne Linsen, Erdnussmehl, Trockenhefe oder ein Geflügelprodukt als primäre Proteinquellen beinhalteten in Kombination mit den Kohlenhydratquellen Mais und Reis. Den pflanzlichen Diäten wurden Geflügelmehl und Reis zugesetzt, um einen vergleichbaren Energie- und Nährstoffgehalt zu erhalten. Der Rohproteingehalt der Diätvarianten variierte zwischen 266 bis 312 g/kg TS. Zwischen der pflanzenbasierten und tierischen Diät zeigten sich

keine Unterschiede der scheinbaren Proteinverdaulichkeit. Insgesamt fiel die Proteinverdaulichkeit für alle Diätvarianten mit 81,5 bis 86,6 % gleich gut aus. Die Ration mit pflanzlichen Proteinen führte bei den Hunden zu höheren Gesamtkonzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) im Kot (627  $\mu\text{mol/g}$  TS) als die Kontrollration (381  $\mu\text{mol/g}$  TS). Die Butyratkonzentration im Kot war am höchsten, wenn die Hunde mit Diäten mit Trockenhefe gefüttert wurden (Reilly et al. 2021).

In einer anderen Studie wurden 15 Hunde verschiedener Rassen, die in Haushalten in Los Angeles lebten, 12 Monate lang vegan ernährt. Klinische, hämatologische und ernährungsphysiologische Parameter wurden nach 0, 6 und 12 Monaten erhoben. Die vegane Diät basierte auf Erbsen, Erbsenprotein, Kartoffeleiweiß, Hirse und Linsen. Die Studie zeigte, dass alle Hunde während der veganen Ernährung klinisch gesund blieben. Die Blutuntersuchungen zeigten keine signifikanten Unterschiede. Ebenso unterschieden sich die kardialen Biomarker im Serum mit Ausnahme von drei Hunden nicht zwischen den Anfangs-, Zwischen- und Endwerten. Die Aminosäurekonzentrationen im Blut lagen während des Versuchsverlaufs innerhalb des Referenzbereichs und zeigten keine signifikanten Unterschiede. Vitamin A stieg im Laufe des Versuchszeitraums leicht an ( $p=0,01$ ). Die Vitamin-D<sub>3</sub>-Versorgung war nach den Blutbefunden zu Beginn der Studie bei 47 % der Hunde unzureichend, verbesserte sich aber im Verlauf ( $p=0,004$ ). Die gemessenen Vitamin E-Werte lagen zu allen drei Zeitpunkten über dem Referenzintervall. Veränderungen im Zeitverlauf konnten nicht festgestellt werden ( $p=0,33$ ) (Linde et al. 2023).

Eine Studie untersuchte den Einfluss einer pflanzenbasierten Diät auf Aminosäurekonzentrationen und klinische Parameter bei Hunden. Nach vier Wochen Fütterung einer auf Erbsenprotein basierenden Diät waren alle essenziellen Aminosäuren und Taurin, außer Methionin, im Vergleich zu den Ausgangswerten erhöht. Die Taurinkonzentrationen im Blut waren bei pflanzenbasierter Diät signifikant höher als bei der Diät mit tierischen Komponenten ( $p=0,026$ ). Trotz niedrigerem Methionin- und Tauringehalt in der pflanzenbasierten Diät zeigten sich höhere Taurinkonzentrationen in Plasma und Vollblut. Echokardiografische und klinisch-chemische Parameter wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diätgruppen auf (Cavanaugh et al. 2021).

Eine pflanzenbasierte Ernährung des Hundes erscheint demnach unter der Bedingung, dass die gefütterten Diäten den Bedarf des Hundes an Aminosäuren sowie Spuren- und Mengenelementen abdecken, möglich.

Tabelle 3: Übersicht der Studien zur pflanzenbasierten Ernährung bei Hunden

Referenz	Zeitraum <sup>1</sup>	Stichprobengröße (n)	Versuchsaufbau		Untersuchungen mit Ergebnissen
			TB Diät <sup>2</sup>	PB Diät <sup>3</sup>	
Brown et al. (2009)	112	12	Geflügelmehl	Sojamehl, Kasein und Maiskleber	Hämatologische und klinische Untersuchungen ergaben keine gesundheitlichen Mängel
Ingenpass et al. (2021)	12	6	Geflügelmehl	Weizengluten, Reispotein	Keine Unterschiede der Gesamtverdaulichkeit zwischen den Diäten, ↑ NfE-Verdaulichkeit bei Fütterung TB Diät
Reilly et al. (2021)	14	10	Geflügelmehl	Kichererbsen, grünen Linsen, Erdnussmehl, Trockenhefe	↑ Proteinverdaulichkeit, ↑ fäkaler Konzentration SCFA bei Fütterung PB Diät
Cavanaugh et al. (2021)	84	38	n.a.	Erbsen	↑ Taurin- und Aminosäurekonzentration (ausgenommen Methionin) nach Fütterung PB Diät, hämatologische Untersuchung ergab keine gesundheitlichen Probleme
Linde et al. (2023)	365	15	n.a.	Getrocknete Erbsen, Erbsenprotein, Kartoffelprotein, Hirse, Linsen, Erdnusskerne	Keine Unterschiede in Blut- und Urinparametern sowie kardialen Biomarkern im Serum

<sup>1</sup>Gesamtstudiendauer in Tagen; <sup>2</sup>Diät basierend auf tierischen Proteinquellen; <sup>3</sup>Diät basierend auf pflanzlichen Proteinquellen

## 2.3 Getreidefreie Ernährung des Hundes

### 2.3.1 Pseudogetreide: Definition und Beispiele

Pseudogetreide wie Amaranth, Quinoa und Buchweizen zählen zu den zweikeimblättrigen Pflanzenarten, die sich botanisch von den einkeimblättrigen Getreidearten unterscheiden (Janssen et al. 2017). Sie werden aufgrund ihrer ähnlichen Zusammensetzung wie Getreide als "Pseudogetreide" klassifiziert. Pseudogetreide enthalten hauptsächlich Albumine und Globuline, während Getreide Proteine wie Prolamine und Gluteline aufweisen (Janssen et al. 2017). Zudem unterscheiden sie sich durch ihre spezifische Zusammensetzung an Ballaststoffen und sekundären Pflanzenstoffen von traditionellen Getreidearten (Bender und Schönlechner 2021).

In Tabelle 4 ist eine Übersicht der analytischen Bestandteile von Quinoa, Amaranth und Buchweizen dargestellt sowie in Tabelle 5 der Gehalt an essenziellen Aminosäuren.

Amaranth wird in Mittel- und Südamerika angebaut und ist an raue Bedingungen angepasst, wodurch er auch auf marginalen Böden gedeihen kann, obwohl seine Physiologie noch wenig erforscht ist (Stetter et al. 2016). Amaranth Arten zeigen eine hohe genetische Variabilität, die sich in Wuchsform, Proteingehalt, Samenertrag, Resistenz gegen Schädlinge und Krankheiten sowie Anpassungsfähigkeit an unterschiedliche Umweltbedingungen äußert. Die Kombination verschiedener anatomischer Merkmale ermöglicht es der Pflanze, sich an diverse geografische und ökologische Bedingungen anzupassen (Assad et al. 2017). Amaranth ist reich an Fettsäuren, Proteinen, Mikronährstoffen, Vitaminen und Squalen, wobei Leucin die limitierende Aminosäure ist (Becker et al. 1981).

Buchweizen wird hinsichtlich der Erntezeit in drei Typen unterteilt: Sommertyp, Herbsttyp und Mitteltyp (Ikeda 2002). Gewöhnlicher Buchweizen (*Fagopyrum esculentum*) und tartarischer Buchweizen (*Fagopyrum tataricum*) werden in Asien, Europa und Amerika für verschiedene Lebensmittel und Produkte angebaut (Zhu 2016). Stärke, der Hauptbestandteil der Samen, kann über 70 % des Trockengewichts ausmachen (Vojtišková et al. 2012; Zhu 2016). Daher beeinflusst die Stärke maßgeblich die Qualität der Buchweizenprodukte (Zhu 2016). Buchweizen enthält zudem einen hohen Gehalt an essenziellen Aminosäuren, insbesondere Lysin, Threonin, Tryptophan und schwefelhaltigen Aminosäuren (Eggum et al. 1980).

Die in Buchweizen enthaltenen Flavonoide, Quercetin und Quercitrin, sowie Gerbstoffe stehen im Verdacht, Leberschädigungen bei Hunden verursacht zu haben. In einer retrospektiven Studie wurde die Inzidenz von Lebererkrankungen bei Hunden, die in Deutschland und Russland mit Buchweizen gefüttert wurden, untersucht. Zwischen 2007 und 2017 wurden 34 Fälle aus Deutschland und 57 Fälle aus Russland identifiziert, während die Kontrollgruppe 85 Fälle in Deutschland und 48 in Russland umfasste. In Deutschland betrug die Inzidenz von

Lebererkrankungen bei Hunden, die Buchweizen erhielten, 32 %, verglichen mit 3,5 % in der Kontrollgruppe, während in Russland kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt wurde. Unterschiede in der Verarbeitung und im Aussehen des Buchweizens, insbesondere die erhöhte Toxizität niedrigmolekularer Gerbstoffe im deutschen Buchweizen, könnten zu diesen Ergebnissen beigetragen haben. Deutsche Proben wiesen kleinere, grüne Samen auf, während russische Proben bräunlich waren und einen höheren Stärkeaufschlussgrad aufwiesen. Aufgrund dieser potenziellen Risiken wird empfohlen, deutschen Buchweizen in der Hundeernährung zu vermeiden, bis die genauen Ursachen der Toxizität vollständig geklärt sind (Lineva et al. 2019).

Quinoa gehört zur Familie der *Chenopodiaceae*. Das Pseudogetreide stammt ursprünglich aus den Andenregionen, wo es seit mehreren tausend Jahren angebaut wird (Vega-Galvez et al. 2010) und ist für seine gute Widerstandsfähigkeit gegenüber Witterungs- und geographischen Bedingungen bekannt, was sich darin zeigt, dass sich die Pflanze an Bedingungen in Bolivien mit Höhen bis zu 4.500 m und in Chile bis auf Meereshöhe angepasst hat (Vega-Galvez et al. 2010). Quinoa enthält eine ausgewogenere Verteilung der essenziellen Aminosäuren, darunter auch die schwefelhaltigen Aminosäure Methionin (Wright et al. 2006) und wird als vielversprechende Kulturpflanze eingestuft, die aufgrund ihres hohen Nährstoffgehalts und ihrer genetischen Vielfalt zur Ernährungssicherheit im 21. Jahrhundert beitragen kann (Quiroga et al. 2015).

Die glutenfreien Pseudogetreide bieten aufgrund ihrer Eigenschaften eine gute Alternative zu Weizen und werden zunehmend eingesetzt (Janssen et al. 2017). Der Einsatz von Weizen in der Hundeernährung wird von Tierhaltern diskutiert, da das enthaltene Gluten den Ruf hat, Allergien bei Hunden auszulösen (Laflamme et al. 2014). Es fehlen jedoch Daten und Studien zu Pseudogetreide, um deren Bestandteile und Eigenschaften genauer zu charakterisieren und insbesondere deren ernährungsphysiologische Auswirkungen bei Hunden zu beschreiben (Traughber et al. 2021).

Tabelle 4: Übersicht über die durchschnittlichen Nährstoffgehalte von Amaranth, Buchweizen und Quinoa

g/kg TS	Amaranth	Buchweizen	Quinoa
Rohasche	35,0 <sup>1</sup>	24,8 <sup>3</sup>	33,0 <sup>5</sup>
Rohfaser	21,5 <sup>1</sup>	153 <sup>3</sup>	33,0 <sup>5</sup>
Rohprotein	156 <sup>1</sup>	122 <sup>3</sup>	131 <sup>5</sup>
Rohfett	83,7 <sup>1</sup>	29,1 <sup>3</sup>	57,0 <sup>5</sup>
Stärke	600 <sup>2</sup>	700 <sup>4</sup>	761

<sup>1</sup>De La Rosa et al. (2009) <sup>2</sup>Zhu (2017) <sup>3</sup>Eggum et al. (1980) <sup>4</sup>Zhu (2016) <sup>5</sup>Nowak et al. (2016) <sup>6</sup>Pereira et al. (2019)

Tabelle 5: Übersicht über die durchschnittlichen Aminosäuregehalte von Quinoa, Amaranth und Buchweizen

Aminosäure, g/kg Protein	Amaranth	Buchweizen	Quinoa
Cystin	20,0 <sup>2</sup>	22,0 <sup>2</sup>	14,0 <sup>3</sup>
Histidin	26,0 <sup>2</sup>	22,0 <sup>2</sup>	32,0 <sup>2</sup>
Isoleucin	28,5 <sup>1</sup>	35,0 <sup>2</sup>	31,0 <sup>3</sup>
Leucin	58,0 <sup>1</sup>	61,0 <sup>2</sup>	60,0 <sup>3</sup>
Lysin	63,5 <sup>1</sup>	51,0 <sup>2</sup>	48,0 <sup>3</sup>
Methionin	20,0 <sup>2</sup>	19,0 <sup>2</sup>	19,0 <sup>3</sup>
Phenylalanin	46,0 <sup>2</sup>	42,0 <sup>2</sup>	73,0 <sup>2</sup>
Tryptophan	33,0 <sup>2</sup>	16,0 <sup>2</sup>	12,0 <sup>2</sup>
Threonin	40,5 <sup>1</sup>	35,0 <sup>2</sup>	37,0 <sup>3</sup>
Valin	32,5 <sup>1</sup>	47,0 <sup>2</sup>	37,0 <sup>3</sup>

<sup>1</sup>De La Rosa et al. (2009) <sup>2</sup>Ahmed et al. (2014) <sup>3</sup>Nowak et al. (2016)

### 2.3.2 Fütterungsstudien mit getreidefreier Ernährung von Hunden

Die Fütterung einer getreidefreien Diät im Rahmen einer 84-tägigen Studie zeigte eine hohe Nährstoffverdaulichkeit. Des Weiteren wurden die Kotbeschaffenheit und Konzentrationen fermentativer Endprodukte im Kot bei acht kastrierten, erwachsenen Labrador-Retrievern untersucht. Als Ausgangsdiät wurde ein kommerziell erhältliches Futter ohne Getreide mit Lammfleisch (26 %), dehydriertem Lammfleisch (25 %), Kartoffeln, getrocknetem Vollei, frischem Hering, dehydriertem Hering, Hühnerfett, Heringsöl, Erbsenfasern, getrockneten Karotten, sonnengetrocknetem Luzernegrünmehl sowie Inulin gewählt, die Kontrolldiät wurde als „Premiumfutter“ deklariert mit dehydriertem Lammfleisch (28 %), Reis (28 %), Mais (23 %), Hühnerfett (5 %), dehydriertem Fisch, getrockneter Rote Bete (4 %), dehydriertem Vollei (4 %), Fischöl (2 %), Pflanzenöl (1 %), Natriumchlorid sowie Bierhefe (0,30 %). Dabei enthielt die getreidefreie Diät einen höheren Rohproteinanteil (392 g/kg) als die Kontrolldiät (244 g/kg). Die getreidefreie Diät führte zu einer signifikant niedrigeren Kotmenge ( $p=0,033$ ) und einer höheren scheinbaren Verdaulichkeit von Protein ( $p=0,002$ ) und Fett ( $p<0,001$ ) im Vergleich zur Diätvariante mit Getreide. Außerdem reduzierte die Diät ohne Getreide die Konzentrationen von Propionat ( $p<0,001$ ) und Butyrat ( $p=0,026$ ) im Kot, während die fäkalen Gehalte an Putrescin ( $p=0,009$ ), Ammoniak ( $p=0,05$ ) und Indol ( $p=0,005$ ) anstiegen (Chiofalo et al. 2019).

Die Ergänzung eines getreidefreien Hundetrockenfutters mit Methionin, Taurin oder einer Kombination aus Cholin, Kreatin und Carnitin beeinflusste die postprandiale Aminosäurekonzentration. Das Futter basierte auf tierischen Proteinquellen wie Schwein, Lamm und Ente und enthielt einen Rohproteingehalt von 296 g/kg TS. Nach der Supplementierung der Kontrolldiät mit Methionin enthielt die Diät 7,2 g/kg TS Methionin und 10,5 g/kg TS Methionin und Cystin. Die Kontrolldiät enthielt bereits 0,86 g/kg TS Taurin, das nach der Supplementierung auf 1,6 g/kg TS anstieg. Somit überstieg die Supplementierung mit Methionin und Taurin den

empfohlenen Bedarf für Hunde (NRC 2006). Die Ergebnisse zeigten, dass zusätzliche Methioningaben die Methionin- und Homocysteinkonzentrationen im Blut erhöhten, jedoch keinen Einfluss auf die Taurinkonzentration hatten. Eine zusätzliche Tauringabe erhöhte nur die Plasmataurinkonzentrationen. Ergänzungen mit Methylspendern zeigten keine Veränderungen bei den untersuchten Aminosäuren im Vergleich zur Kontrollgruppe (Banton et al. 2021).

Die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) veröffentlichte 2018 einen Bericht, der darauf hinwies, dass dilatative Kardiomyopathie bei Hunden häufiger auftrat, wenn sie über längere Zeit Diäten mit höheren Anteilen an Hülsenfrüchten oder Kartoffeln anstelle von Getreide erhalten hatten (FDA 2018).

Eine im Jahr 2020 veröffentlichte Studie zeigte, dass die Fütterung mit kommerziellem, getreidefreiem Futter im Gegensatz zu einer getreidehaltigen Diät zu einem Anstieg der Taurinkonzentration im Blut führte ( $p < 0,05$ ), während das Verhältnis von Taurin zu Kreatinin durch die Ernährung nicht beeinflusst wurde ( $p > 0,05$ ). Die Autoren schlussfolgern, dass die getreidefreie Fütterung aufgrund der Erhöhung der Taurinkonzentration nicht die Grundlage für eine dilatative Kardiomyopathie sein dürfte und dass andere Ursachen für diese Herzerkrankung untersucht werden müssen. Die Studie untersuchte die Auswirkungen einer getreidefreien Diät auf den Taurinstatus und die allgemeine Gesundheit von großen Hunderassen. Acht Labrador Retriever wurden 26 Wochen lang mit einer getreidefreien Diät gefüttert. Die getreidefreie Diät enthielt 378 g/kg TS Protein und 1,4 g/kg TS Taurin, während die getreidehaltige Kontrolldiät 308 g/kg TS Protein und 0,7 g/kg TS Taurin enthielt. Blutproben wurden zu Beginn der Studie sowie in Woche 13 und 26 entnommen. Urin- und Kotproben wurden zu Beginn und in Woche 26 gesammelt (Donadelli et al. 2020).

Eine weitere Studie zur dilatativen Kardiomyopathie ergab ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der Ernährung und Herzkrankheiten bei Hunden. Sie umfasste 32 Beagles und 33 Mischlingshunde, die über 210 Tage in vier Ernährungsgruppen eingeteilt waren: hoher tierischer Proteinanteil ohne Getreide, niedriger tierischer Proteinanteil ohne Getreide, hoher pflanzlicher Proteinanteil mit Getreide und niedriger pflanzlicher Proteinanteil mit Getreide. Die Diät mit einem hohen Anteil an tierischem Eiweiß setzte sich zu 70 % des Gesamtproteins aus tierischen Quellen zusammen, während die Diät mit einem niedrigen Anteil an tierischem Eiweiß 45 % des Gesamtproteins aus tierischen Quellen umfasste. Die pflanzliche Diät mit hohem Proteingehalt enthielt 34,5 % Hülsenfrüchte und 26,8 % Kartoffeln, wohingegen die Diät mit moderatem Proteingehalt 66,9 % Hülsenfrüchte und 1,50 % Kartoffeln beinhaltete. Untersuchte Parameter umfassten herzspezifische Biomarker, endomyokardiale Biopsien sowie lineare und volumetrische echokardiographische Parameter (Leach et al. 2023).

In einem Crossover-Design mit acht Beagles wurden grundlegende Gesundheitsparameter, Plasmaamino­säuren, kardiale Biomarker, fäkale Gallensäuren und echokardiographische

Untersuchungen vor der Studie, nach der Haltungsdiät und nach einer fünfwöchigen Testfütterungsperiode gemessen. Die Diäten umfassten eine konventionelle Haltungsdiät, eine Kontrolldiät mit 30 % Reis, eine getreidefreie Diät mit 30 % Erbsen und eine Diät mit 30 % Reis und 1 % Raffinose, basierend auf Schweinefleisch, Knochen-, Lachs- und Kartoffelmehl. Die konventionelle Diät enthielt einen Tauringehalt von 0,7 g/kg TS sowie einen Proteingehalt von 287 g/kg TS, während die Testdiäten vergleichbare Taurinkonzentrationen (1,30 bis 1,90 g/kg TS) und Proteingehalte (302 bis 312 g/kg TS) enthielten. Die Ergebnisse zeigten, dass die Verdaulichkeiten von Rohprotein, Rohfett und Nicht-Faser-Kohlenhydraten bei allen Diäten ähnlich waren, jedoch war die Gesamtverdaulichkeit von Methionin und Taurin bei der getreidefreien Diät niedriger. Die Plasmataurinwerte blieben unabhängig von den Diäten unverändert. Die Herzfunktion war nach der konventionellen Diät durch eine niedrigere Auswurfleistung und höheres endystolisches Volumen charakterisiert, während die getreidefreie Diät keine Auswirkungen zeigte. Der Einsatz von Raffinose führte zu einem Anstieg des kardialen Markers NT-proBNP, jedoch zeigten sich nach fünf Wochen keine Veränderungen der Herzfunktion. Es wurde offen gelassen, ob eine längere Fütterung die Herzfunktion beeinträchtigen könnte (Bokshowan et al. 2023).

Eine andere Studie untersuchte die Auswirkungen einer getreidebasierten und getreidefreien Ernährung auf Proteinverwertung und Taurinstatus bei 12 Beaglen in einem vollständig randomisierten Design. Die getreidefreien Diäten beinhalteten Kartoffeln, Erbsen und Tapiokastärke, während die getreidebasierte Diät Sorghum und Dinkel enthielt. Beide Diätvariationen wurden ergänzt mit hydrolysiertem Schweineprotein, Hühnerfett, Taurin und einem Vitaminprämix. Der Rohproteingehalt (373 bis 377 g/kg TS) sowie die Taurinkonzentration (3,30 bis 3,50 g/kg TS) waren für beide Diäten vergleichbar. Die Ergebnisse zeigten, dass die scheinbare Verdaulichkeit von Rohprotein durch die Diäten nicht beeinflusst wurde, jedoch war die Verdaulichkeit der organischen Substanz bei der Diät ohne Getreide niedriger als bei der Diät mit Getreide ( $p < 0,05$ ). Weitere Marker wie Taurinkonzentrationen im Vollblut und das Taurin-Kreatinin-Verhältnis im Urin zeigten keinen Einfluss der Ernährung. Die Futteraufnahme und die Gesamtausscheidung von Gallensäuren waren zwischen getreidebasierter Diät und getreidefreier Diät ähnlich, jedoch schieden Hunde, die mit der getreidefreien Diätvariante gefüttert wurden, mehr primäre Gallensäuren aus (25,5 % vs. 12,1 % an Tag 28) (Pezzali et al. 2020).

Die Fütterung einer getreidefreien, leguminosenreichen Testdiät führte zu einer Reduktion der Erythrozytenzahl und einer Hyperphosphatämie, Befunde, die auch bei Hunden mit Verdacht auf DCM beobachtet wurden. Ein genauer Zusammenhang zwischen der getreidefreien Diät und einer Herzerkrankung beim Hund konnte nicht erbracht werden. Im Rahmen der Studie wurden die Auswirkungen einer getreidefreien Ernährung mit hohem Anteil an Hülsenfrüchten (60 %) auf gesunde erwachsene Labrador-Retriever untersucht. Die Hunde wurden über 30

Tage mit einer getreidebasierten oder getreidefreien Diät gefüttert. Die konventionelle Kontrolldiät hatte die folgenden Zusammensetzungen: Rohprotein 261 g/kg TS, Rohfett 110 g/kg TS, Rohfaser 21,9 g/kg TS und Rohasche 72,5 g/kg TS. Die getreidefreie Diät enthielt 278 g/kg TS Rohprotein, 123 g/kg TS Rohfett, 46,8 g/kg TS Rohfaser und 62,7 g/kg TS Rohasche. Der Taurinstatus zeigte am Tag 14 einen vorübergehenden Anstieg im Vollblut (23,4 %) und Plasma (47,7 %) unter der Fütterung der Testdiät, während das Taurin-Kreatinin-Verhältnis im Urin am Tag 28/30 um 77 % und das Taurin im gepoolten Urin um 78 % reduziert war. Die Konzentration des NT-proBNP, eines herzspezifischen Biomarkers, wurde durch die Ernährung nicht signifikant beeinflusst (Bakke et al. 2022).

In den bisherigen Studien konnten keine gesundheitlichen Mängel einer getreidefreien Ernährung beim Hund festgestellt werden. Eine Zusammenfassung der vorgestellten Studie zur getreidefreien Ernährung beim Hund ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Übersicht der Untersuchungen zur getreidefreien Ernährung bei Hunden in Verbindung mit einer DCM<sup>4</sup>

Referenz	Zeitraum <sup>1</sup>	Stichprobengröße (n)	Versuchsaufbau			Direkte Korrelation zwischen DCM <sup>4</sup> und Ernährung: ja/nein
			GF Diät <sup>2</sup>	GB Diät <sup>3</sup>	Taurin Konzentration ↑↓	
Kaplan et al. (2018)	n.a.	76	n.a.	n.a.	↑ bei Fütterung GB Diät mit Taurinzugabe	Nein
Donadelli et al. (2020)	182	8	Rp: 378 g/kg TS Taurin: 1,4 g/kg TS	Rp: 309 g/kg TS Taurin: 0,70 g/kg TS	↑ bei Fütterung GF Diät Taurin-Kreatinin-Verhältnis unverändert	Nein
Pezzali et al. (2020)	28	12	Rp: 377 g/kg TS Taurin: 3,60 g/kg TS mit Taurinzugabe	Rp: 377 g/kg TS Taurin: 3,30 g/kg TS Mit Taurinzugabe	↑ bei Fütterung GF Diät Taurin-Kreatinin-Verhältnis unverändert	Nein
Banton et al. (2021)	28	8	Versuchsdiet mit Methionin: Rp: 296 g/kg TS Taurin: 0,80 g/kg TS Versuchsdiet mit Taurin: Rp: 296 g/kg TS Taurin: 1,50 g/kg TS Versuchsdiet mit Kreatinin, Cholin und Carnitin Rp: 296 g/kg TS Taurin: 0,80 g/kg TS	Rp: 296 g/kg TS Taurin: 0,80 g/kg TS	↑ bei Fütterung GF Diät mit Taurinzugabe	Nein
Freid et al. (2021)	n.a.	71	n.a.	n.a.	↑ bei Fütterung GB Diät mit Taurinzugabe	Nein

Adin et al. (2021)	n.a.	188	n.a.	n.a.	↑ bei Fütterung GB Diät	Nein
Bakke et al. (2022)	30	5	Rp: 261 g/kg TS Taurin: 0,10 g/kg TS	Rp: 278 g/kg TS Taurin: 0,60 g/kg TS	↑ bei Fütterung GF Diät	Nein
Bokshowan et al. (2023)	70	8	Versuchsdiet mit Oligosacchariden: Rp: 312 g/kg TS Taurin: 1,90 g/kg TS Versuchsdiet ohne Getreide: Rp: 302 g/kg TS Taurin: 1,30 g/kg TS	Rp: 304 g/kg TS Taurin: 1,40 g/kg TS	unverändert	Nein
Owens et al. (2023)	n.a.	46	n.a.	n.a.	unverändert	Nein
Leach et al. (2023)	210	65	n.a.	n.a.	n.a.	Nein

<sup>1</sup>Versuchsdauer in Tagen; <sup>2</sup>Diät ohne Getreide; <sup>3</sup>Diät mit Getreide <sup>4</sup>Dilatative Kardiomyopathie

## 2.4 Antinutritive Faktoren

### 2.4.1 Definition und Arten von antinutritiven Faktoren in pflanzlichen Proteinquellen, Getreide und Pseudogetreide

Antinutritive Faktoren werden von Pflanzen zur Abwehr von Feinden wie Pflanzenfressern und Insekten oder zur Anpassung an ungünstige Wachstumsbedingungen synthetisiert. Über die Ernährung können sie nachteilige Auswirkungen auf Tiere und Menschen haben. Trotzdem sind Hülsenfrüchte üblich in der menschlichen und tierischen Ernährung (Bora 2014).

Die in Hülsenfrüchten, Getreide sowie Pseudogetreide vorkommenden antinutritiven Faktoren werden im Folgenden mit ihren Eigenschaften beschrieben und sind zusammenfassend in Tabelle 7 dargestellt.

Alkaloide sind bedeutende sekundäre Stoffwechselprodukte mit funktionellen Eigenschaften, die aufgrund ihrer biosynthetischen Vorstufe und ihres heterocyclischen Ringsystems in verschiedene Kategorien wie Indol-, Piperidin-, Tropan-, Purin-, Pyrrolizidin-, Imidazol-, Chinolizidin-, Isochinolin- und Pyrrolidin-Alkaloide eingeteilt werden. Sie besitzen positive Effekte und fangen Radikale ein oder interagieren mit dem Katalysator oxidativer Reaktionen (Roy 2017). Pflanzenalkaloide wie Pyrrolizidine, Tropane, Piperidine und Indolizidine können bei Mensch und Tier Nebenwirkungen wie Juckreiz, Übelkeit, Erbrechen, leichte Magen-Darm-Störungen, Psychosen, Lähmungen, Teratogenität, Herzrhythmusstörungen bis hin zum plötzlichen Tod verursachen (Adibah und Azzreena 2019). Alkaloide kommen auch in geringer Konzentration in Getreide vor (Crews et al. 2009; Menkovska 2014) und umfassen verschiedene Typen, die unterschiedliche toxische Wirkungen haben können. Mutterkornalkaloide sind Mykotoxine, also keine sekundären pflanzliche Inhaltsstoffe, die Mykotoxikosen verursachen können. Es werden zwei Formen der Erkrankung unterschieden: die gangränöse Form, die durch Durchblutungsstörungen gekennzeichnet ist, und die krampfartige Form, die sich durch neurologische Symptome wie Muskelkrämpfe und Halluzinationen auszeichnet. Diese Unterschiede lassen sich auf die variierende Menge und Art der im Mutterkorn enthaltenen Alkaloide zurückführen. Tropanalkaloide besitzen pharmakologische Eigenschaften wie Anticholinergika und Stimulantien. Pyrrolizidin-Alkaloide hingegen haben hepatotoxische, karzinogene und genotoxische Wirkungen und können zu schweren Leberschäden führen. Diese verschiedenen Alkaloidtypen stellen eine erhebliche Gesundheitsgefahr dar, sowohl für Menschen als auch für Tiere, wenn sie in der Nahrung vorkommen (Menkovska 2014).

Amylaseinhibitoren in Hülsenfrüchten hemmen die im Pankreas sezernierte  $\alpha$ -Amylase von Säugetieren (Powers und Whitaker 1978). Der Inhibitor interagiert substratmimetisch mit den Bindungsstellen des Enzyms und zielt auf katalytische Reste im aktiven Zentrum ab. Diese

Wechselwirkungen führen zu strukturellen Veränderungen im aktiven Zentrum der  $\alpha$ -Amylasen (Bompard-Gilles et al. 1996).

Lectine sind eine umfangreiche Gruppe von Proteinen, die in den Samen verschiedener Hülsenfrüchte (Loris et al. 1998), Getreiden (Ebere und Godswill 2016) und Pseudogetreiden (Adamcová et al. 2021) vorkommen und eine spezifische Bindung an Kohlenhydrate zeigen (Loris et al. 1998). Obwohl sie auf der Ebene ihrer Aminosäuresequenzen und Tertiärstrukturen stark ähnlich sind, variieren ihre Kohlenhydratanteile und ihre quaternären Strukturen erheblich (Loris et al. 1998). Sie binden an Glykoproteine der Epithelmembran. Diese Bindung kann die Durchlässigkeit der Darmmembranen stören, was wiederum die Absorption von Nährstoffen beeinträchtigt und zu einer umfassenden Schädigung der Membran des proximalen Dünndarms führen kann (Adamcová et al. 2021). Lectine interagieren reversibel mit spezifischen Monosacchariden oder Oligosacchariden und können sich an die Kohlenhydratbestandteile auf der Oberfläche der Erythrozyten anlagern, was zu einer Agglutination der Erythrozyten führt (Schnebli und Bächli 1975).

Oxalate kommen hauptsächlich in den Pflanzenfamilien der *Polygonaceae*, *Amaranthaceae* und *Chenopodiaceae* vor. Zu den *Amaranthaceae* gehört Amaranth, zu den *Polygonaceae* gehören Buchweizen, Rhabarber und Sauerampfer, während Rüben, Mangold, Spinat und Quinoa zur Familie der *Chenopodiaceae* gehören. Oxalate kommen in diesen Pflanzenfamilien in jedem Pflanzengewebe vor, d. h. in Blättern, Stängeln, Wurzeln und Nüssen, wobei der Oxalatgehalt in Blättern und Stängeln mit Konzentrationen zwischen 258 und 1029 mg/100 g am höchsten ist. Oxalate beeinträchtigen die Aufnahme von Mineralien und Spurenelementen und können im Harn unlösliche Komplexe mit zweiwertigen Ionen bilden, was zur Bildung von Calciumoxalatsteinen führt (Siener et al. 2006).

Phytinsäure kommt natürlich in pflanzlichen Protein- und Kohlenhydratquellen vor (Ruales und Nair 1993; Schlemmer et al. 2009). Wiederkäuer, deren Pansenmikrobiota das Enzym Phytase produziert, sind in der Lage, Phytinsäure abzubauen (D'silva et al. 2000), wohingegen Monogastrier dazu nur eingeschränkt in der Lage sind (Wu et al. 2009). Phytinsäure ist ein Chelat- oder Komplexbildner und bindet Metallionen (Wang und Guo 2021), sodass sie die biologische Funktion von Spurenelementen, Nahrungsproteinen und Verdauungsenzymen hemmt (Schlemmer et al. 2009). Die Eigenschaft der Komplexbildung verhindert andererseits ungünstige Reaktionen von Metallionen wie Oxidation und Verkalkung (Wang und Guo 2021). Bei der Verarbeitung von Lebensmitteln ist es für Mensch und Tier wichtig, die chemischen und strukturellen Eigenschaften der Phytinsäure und die in diesem Zusammenhang auftretenden Wechselwirkungen zu kennen (Wang und Guo 2021).

Saponine gehören zu den natürlichen Detergenzien (Santini et al. 2019), die aus glykosylierten Sekundärmetaboliten bestehen. Ihre chemischen Strukturen sind durch ein steroidales oder triterpenoides Aglykon mit einer oder mehreren Glukoseketten gekennzeichnet (Güçlü-Üstündağ und Mazza 2007). Saponine haben bekanntermaßen hämolytische Wirkungen. Die Interaktion zwischen Saponinen und den Sterolen der Erythrozytenmembran erhöht die Membrandurchlässigkeit, was zu einer Schädigung der Membran und einem Verlust von Hämoglobin führt (Voutquenne et al. 2002). Sie sind auch für ihren bitteren Geschmack bekannt (Martínez Noguera et al. 2022).

Tannine kommen ebenfalls als antinutritive Faktoren in Hülsenfrüchten vor. Sie können mit Proteinen (sowohl Enzym- als auch Nicht-Enzym-Proteinen) in Wechselwirkung treten und Tannin-Protein-Komplexe bilden. Diese Komplexe führen zur Inaktivierung der Verdauungsenzyme. In-vitro- und In-vivo-Studien deuten darauf hin, dass Bohnentannine die Proteinverdaulichkeit verringern, indem sie entweder Verdauungsenzyme inaktivieren oder die Anfälligkeit der Substratproteine durch Bildung von Komplexen mit Tanninen und absorbiertem ionisierbarem Eisen erhöhen (Reddy et al. 1985).

Getreide und Hülsenfrüchte enthalten geringe Aktivitäten von Trypsininhibitoren, die die Verdauung durch Hemmung von Trypsin erschweren, insbesondere beim Einsatz von nicht erhitzten Sojaprodukten (Odani et al. 1986).

Urease ist ein weiterer antinutritiver Faktor, der in Leguminosen vorkommt. Urease ist ein Enzym, das Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid spaltet (Sujoy und Aparna 2013). Die Aktivität von Urease wird durch den Anstieg des pH-Werts gemessen, der durch die Freisetzung von Ammoniak verursacht wird (Baker und Mustakas 1973).

Tabelle 7: Antinutritive Faktoren in Getreide, Pseudogetreide und Hülsenfrüchten und ihre Eigenschaften

Antinutritiver Faktor	Eigenschaft	Referenz
Alkaloide	Freie Radikalfänger; Katalysator oxidativer Reaktionen Auslöser von Juckreiz, Übelkeit, Erbrechen, leichte Magen-Darm-Störungen, Psychosen, Lähmungen, Teratogenität, Herzrhythmusstörungen, Tod	Roy (2017) Adibah und Azzreena (2019)
Saponine	Bitterer Geschmack; hämolytisch; natürliches Detergens	Martínez Noguera et al. (2022) Voutquenne et al. (2002) Santini et al. (2019)
Tannine	Bildung von Tannin-Protein-Komplexe, Verringerung der	Reddy et al. (1985)

	Futtermittelaufnahme; Hemmung der proteolytischen Enzyme; verminderte Proteinverdaulichkeit	
Trypsininhibitoren	Hemmung von Trypsin, verminderte Proteinverdaulichkeit	Odani et al. (1986)
Oxalate	Faktor für die Bildung von Calciumoxalatsteinen	Siener et al. (2006)
Urease	Spaltet Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid	Sujoy und Aparna (2013)
Lectine	Schädigung des Darmepithels und Hemmung der Nährstoffabsorption Agglutination der Erythrozyten	Kik et al. (1989) Adamcová et al. (2021) Schnebli und Bächli (1975)
Amylaseinhibitoren	Hemmen die Stärkeverdauung im Dünndarm	Powers und Whitaker (1978)
Phytate	Chelatbildner, Reduktion der Mineralstoffverfügbarkeit, insbesondere Phosphor	Schlemmer et al. (2009)

#### 2.4.2 Verarbeitungsmethoden zur Reduzierung antinutritiver Faktoren

Das Einweichen der Samen von Hülsenfrüchten in destilliertem Wasser führte zu einer Verringerung des Phytinsäuregehalts um 37 %, während das Einweichen in Natriumbicarbonatlösung den Gehalt an Phenolen und Tanninen um 72 % bzw. 78 % reduzierte (Vijayakumari et al. 2007).

Das Kochen von Gemüse (Brokkoli, Rosenkohl, Karotten, Rhabarberstängel, Spinat und Mangoldblätter) reduzierte den Gehalt an löslichem Oxalat signifikant um 30 bis 87 % (Chai und Liebman 2005). Elektrische Impulsfelder, Ultraschall und enzymatische Behandlungen haben ebenfalls gezeigt, dass sie den Oxalatgehalt reduzieren können. Die Effizienz dieser Behandlungen wird maßgeblich von Zeit, Temperatur und den Eigenschaften des Substrats, wie pH-Wert, Faser- und Fettgehalt sowie Zubereitungsmethoden, beeinflusst (Huynh et al. 2022). Die Urease kann durch Wärmebehandlung über 15 min bei 90° Celsius inaktiviert werden (Baker und Mustakas 1973).

Dampfgaren führte im Vergleich zum Aufbrühen mit heißem Wasser zu einer stärkeren Reduzierung der Aktivität der Trypsininhibitoren. Des Weiteren bewirkte die Kombination aus Einweichen und Dampfgaren geringere Nährstoffverluste im Vergleich zur Kombination aus Einweichen und Aufbrühen mit heißem Wasser (Wang et al. 1997). In der Literatur wurde berichtet, dass durch eine Wasserdampfbehandlung hitzeempfindliche antinutritive Faktoren wie Urease, Trypsininhibitoren, Lipoxygenase und Lectine reduziert wurden (Van Der Poel et al.

1990; Qin et al. 1996; Kong et al. 2022). Zusätzlich wurde berichtet, dass feuchtes Erhitzen den Saponingehalt in Quinoa reduzierte (Sharma et al. 2022).

Die Keimung von Ackerbohnen über einen Zeitraum von 6 Tagen erwies sich im Vergleich zu anderen Verarbeitungsmethoden wie Einweichen, Kochen und Trockenhitze als besonders wirksam, da sie den Gehalt an Phytinsäure um 45 % stark reduzierte und gleichzeitig einen hohen Ballaststoffgehalt aufrechterhielt (Vidal-Valverde et al. 1998). Auch das Kochen und Keimen von Linsen über einen Zeitraum von 6 Tagen scheint ein geeignetes Verfahren zu sein, um die Qualität von Linsenmehl aus ernährungsphysiologischer Sicht zu verbessern (Vidal-Valverde et al. 1994).

Untersuchungen zeigten, dass Extrusionsbedingungen von 148 °C, 25 % Feuchtigkeit und 100 U/min eine effektive thermische Verarbeitungsmethode darstellen, um Tannine, Trypsin-, Chymotrypsin- und  $\alpha$ -Amylase-Inhibitoren sowie die Hämagglutinierungsaktivität zu reduzieren, ohne den Proteingehalt zu beeinflussen, wie es bei den Behandlungen durch Schälen, Einweichen und Keimen der Fall ist (Alonso et al. 1998). So war es möglich, über die Extrusion bei Temperaturen zwischen 140 und 180 °C den Gehalt an Phytinsäure, Trypsininhibitoren sowie Tanninen um bis zu 98 bis 99 % zu reduzieren (Rathod und Annapure 2016).

Bei der Herstellung von (Erbsen-)Konzentraten kann das Schälen dazu beitragen, den Gehalt in der Schale vorhandener antinutritiver Faktoren wie Tannine zu verringern. Jedoch sind Trypsininhibitoren und Lectine größtenteils in den Proteinkörpern des Keimblatts enthalten und werden daher durch das Schälen nicht entfernt (Frikha et al. 2013). Saponine hingegen können durch Waschen oder abrasives Schälen entfernt werden und sollten in einer essbaren Portion von 100 g nicht mehr als 0,01 g betragen (Kozioł 1992).

#### 2.4.3 Auswirkungen auf die Gesundheit und Ernährung des Hundes

Unbehandelte antinutritive Faktoren, die in pflanzlichen Protein- und Kohlenhydratquellen enthalten sind, können die Gesundheit von Hunden potenziell beeinträchtigen (Tabelle 7). Daher ist es für die Ernährung von Hunden notwendig, pflanzliche Protein- und Kohlenhydratquellen vor der Fütterung zu verarbeiten, um antinutritive Substanzen zu reduzieren. Die Extrusion von Linsen beispielsweise reduziert antinutritive Faktoren und verbessert die Nährstoffaufnahme, was die Herstellung von proteinreichen extrudierten Produkten ermöglicht (Rathod und Annapure 2016). Eine Untersuchung des Extrusionsprozesses einer getreidehaltigen Diät bestehend aus Dinkel (16,8 %), Hirse (16,8 %) und Sorghum (16,8 %), kombiniert mit hydrolysiertem Schweinefleischprotein (42 %) und einer getreidefreien Diät bestehend aus Kartoffeln (16,8 %), Erbsen (26,2 %) und Tapiokastärke (7,32 %), ebenfalls kombiniert mit Schweinefleischprotein (42 %) zeigte, dass sich die beiden Klassen von Kohlenhydratquellen während der Extrusion unterschiedlich verhielten. Dies erforderte Anpassungen der

Verarbeitungsparameter, um Futtermittel mit vergleichbarer Schüttdichte herzustellen. Die getreidefreie Diät benötigte während des Extrusionsprozesses mehr Energie und Feuchtigkeit als die getreidehaltige Diät, was zu härteren Kroketten führte. Trotz dieser Unterschiede hatte der unterschiedliche Herstellungsprozess keinen Einfluss auf die Nährstoffverdaulichkeit (Pezzali und Aldrich 2019).

## 2.5 Studien zu vegetarischen und veganen Alleinfuttermitteln bei Hunden

### 2.5.1 Nährstoffprofil und Akzeptanz

Vier vegane, in Brasilien erhältliche Alleinfuttermittel für Hunde und Katzen sind hinsichtlich der Makronährstoffzusammensetzung, der Fettsäuren- und Aminosäurenprofile sowie des Gehalts an Mineralstoffen bewertet worden (Zafalon et al. 2020). Die Nährstoffzusammensetzung wurde mit den Empfehlungen der European Pet Food Industry Federation (FEDIAF 2023) und der Association of American Feed Control Officials (AAFCO 2019) verglichen. Bei keinem der vier Futtermittel wurden die empfohlenen Referenzwerte eingehalten. Die Diäten enthielten entweder einen zu hohen Zink- und Kupfergehalt, enthielten einen geringen Kaliumgehalt oder ein zu niedriges Calcium/Phosphor-Verhältnis. Auch war die Taurinkonzentration in den Diäten zu gering (Zafalon et al. 2020).

Vier in Deutschland erhältliche, vegane Alleinfuttermittel für Katzen und Hunde zeigten ebenfalls deutliche Abweichungen (Starzonek et al. 2021). Die Fütterungsempfehlung des Herstellers wich bei zwei von vier Futtermitteln von den Vorgaben ab und es ergab sich eine Energiebedarfsdeckung von 64 bis 121 %. Die Zufuhr an Mengen- und Spurenelementen der Alleinfuttermittel lag deutlich über der Versorgungsempfehlung. Nach den Vorgaben der (FEDIAF 2023) wurden der Rohfett-, Rohprotein- und Phosphorgehalt in einem Fall unterschritten. Ein Alleinfuttermittel hielt den Zinkgehalt nach (NRC 2006) nicht ein. Die meisten Produkte erfüllen die empfohlene Versorgung mit essenziellen Aminosäuren, jedoch deckten zwei Produkte nicht die empfohlene Zufuhr an Methionin und Cystin ab. Die Anforderungen an die Vitaminzufuhr wurden durch die Nahrungsergänzungsmitteln nur zum Teil erfüllt. Zusammenfassend ergab die Untersuchung, dass keines der veganen Alleinfuttermittel den Energie- und Nährstoffbedarf von Hunden und Katzen uneingeschränkt deckte. Eine Mangelernährung bei langfristiger Fütterung der vorgestellten pflanzenbasierten Alleinfuttermittel konnte daher nicht ausgeschlossen werden (Starzonek et al. 2021).

In einer weiteren Untersuchung wurden die Gehalte an Rohprotein und Aminosäuren in vegetarischen Alleinfuttermitteln, bestehend aus 13 vegetarischen Trockenfuttermitteln und 11 Dosenfuttermitteln, für Hunde und Katzen, die auf dem amerikanischen Markt erhältlich sind, überprüft. Zur Überprüfung der Nährwerte wurden die AAFCO-Nährstoffempfehlungen (AAFCO 2019) für Hunde- und Katzenfutter herangezogen. Die Proteinkonzentration reichte von 19,2 bis 40,3 %.

Die empfohlene Mindestproteinkonzentration wurde von 23 Futtermitteln eingehalten. Im Vergleich zum Nährstoffprofil (AAFCO 2019) erfüllten sechs Futtermittel nicht alle empfohlenen Aminosäurenkonzentrationen, wobei von diesen sechs Futtermitteln ein Futtermittel unter dem Mindestwert für Leucin, Methionin, Cystin und Taurin lag. Zwei Futtermittel enthielten zu wenig Methionin, Cystin und Taurin. Zwei weitere Futtermittel enthielten nach Angaben der (AAFCO 2019) zu wenig Lysin und Tryptophan. Ein Futtermittel enthielt zu wenig Tryptophan. Die Autoren empfahlen eine routinemäßige Überwachung von Hunden und Katzen, die mit kommerziellen vegetarischen Alleinfuttermitteln gefüttert werden (Kanakubo et al. 2015).

Der aktuellen Studienlage zufolge war vor allem der Aminosäuregehalt in veganen Alleinfuttermitteln für Hunde in Bezug auf die empfohlenen Richtwerte oftmals unzureichend (Kanakubo et al. 2015; Zafalon et al. 2020; Starzonek et al. 2021). Der Gehalt an Mengen- und Spurenelementen in den veganen Alleinfuttermitteln war demnach sehr variabel. In Tabelle 8 ist eine Übersicht der Studien zu veganen Alleinfuttermitteln bei Hunden zu finden.

Tabelle 8: Übersicht der Studien zur Beurteilung veganer Alleinfuttermittel bei Hunden und Katzen

Untersuchte Diät	Ergebnis	Proteinquelle	Referenz
Vier vegane Alleinfuttermittel für Hunde und Katzen	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kein Futtermittel erfüllte die empfohlenen Referenzwerte</li> <li>Abweichungen von empfohlenen Referenzwerten: <ul style="list-style-type: none"> <li>↑Zink</li> <li>↑Kupfer</li> <li>↓Kalium</li> <li>↓Taurin</li> </ul> </li> </ul>	<p>Diät 1: Sojaextraktionsschrot, Kichererbsen, Weizengluten</p> <p>Diät 2: Mais, Maisglutenmehl, hydrolysierte Hefe, Soja- und Weizenkleie</p> <p>Diät 3: Sojaschrot, Maisglutenmehl</p> <p>Diät4: Maisglutenmehl, Erbsenprotein, Sojaschalen</p>	Zafalon et al. (2020)
Vier vegane Alleinfuttermittel für Katzen und Hunde (in Deutschland erhältlich)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fütterungsempfehlungen stark abweichend von berechneter Menge</li> <li>Übermäßige Aufnahme von Mengen- und Spurenelementen</li> <li>Ein Futtermittel erfüllte nicht die Vorgaben für Rohprotein, Rohfett, Phosphor, Zink und Kupfer</li> <li>Mehrere Futtermittel deckten nicht den Bedarf an Methionin und Cystin</li> <li>Anforderung an Vitaminzufuhr nur zum Teil erfüllt</li> </ul>	<p>Diät 1: Kartoffelprotein, Erbsen, hydrolysiertes pflanzliches Protein</p> <p>Diät 2: Kartoffeln, Hirse, Linsen, Erbsenprotein, Erbsenproteinpulver, Lupine</p> <p>Diät 3: Sojabohnen und Erbsen</p> <p>Diät 4: Kartoffeln, Erbse</p>	Starzonek et al. (2021)
13 vegetarische Trockenfutter und 11 Dosenfutter für Hunde und Katzen	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bedarfsdeckende Proteinkonzentration eingehalten</li> <li>Sechs Futtermittel erfüllen AAFCO-Empfehlungen für bestimmte Aminosäuren nicht</li> </ul>	n.a.	Kanakubo et al. (2015)

- Drei Futtermittel erfüllen AAFCO-Etikettierungsanforderungen (mit Kalorienangabe)
-

## 2.5.2 Langzeitauswirkungen auf die Gesundheit

Eine Übersichtsstudie, in der 16 Arbeiten zur veganen oder vegetarischen Ernährung von Hunden und Katzen ausgewertet wurden, kam zu dem Ergebnis, dass es keine Hinweise auf dauerhafte negative Auswirkungen einer veganen oder vegetarischen Ernährung bei Hunden gab. Es gab aber nur einige wenige Untersuchungen mit ausreichender Tierzahl. Außerdem wurde kritisiert, dass es an qualitativ hochwertigen Studien mit standardisierten Messergebnissen und ausreichend großen Stichprobengrößen mangelt (Domínguez-Oliva et al. 2023).

In einer im Jahr 2014 durchgeführten Studie werden 174 Hunde- und 59 Katzenbesitzer aus Österreich, Deutschland und der Schweiz zur Ernährung ihrer Haustiere befragt. Die an der Studie teilnehmenden Hunde wurden zwischen sechs Monaten und sieben Jahren vegan ernährt. Klinische Untersuchungen werden bei 20 zufällig ausgewählten Hunden durchgeführt. Die Blutuntersuchungen umfassten hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen sowie die Untersuchung von Mineralstoffen und Spurenelementen, Gesamtprotein, Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und Carnitin. Die Gesamteiweißkonzentration im Serum aller 20 Hunde lag innerhalb des Referenzbereichs, bei keinem der gemessenen Parameter konnten signifikante Unterschiede zwischen vegan und konventionell ernährten Hunden festgestellt werden (Semp 2014).

## 2.6 Bedeutung einer ausgewogenen Aminosäurenversorgung

### 2.6.1 Essenzielle und nicht essenzielle Aminosäuren

Aminosäuren sind organische Verbindungen, die durch eine  $\alpha$ -Amino-, eine  $\alpha$ -Carboxylgruppe und einen Rest gekennzeichnet sind (Berg et al. 2013). Aminosäuren verbinden sich über Peptid-Carboxyl-Bindungen kettenförmig zu Proteinen (Sigel und Martin 1982; Kasper 2014). Grundsätzlich wird zwischen essenziellen und nicht-essenziellen Aminosäuren unterschieden. Nicht-essenzielle Aminosäuren können vom Organismus selbst synthetisiert werden, während essenzielle Aminosäuren über die Nahrung aufgenommen werden müssen. Für den Hund sind die Aminosäuren Arginin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin essentiell (Belitz et al. 2004; Zentek 2022).

Der National Research Council (NRC) definierte für jede Aminosäure den Bedarf für Hunde im Wachstum, in Reproduktion und Erhaltung (NRC 2006).

### 2.6.2 Verwertung von Aminosäuren

Hochverdauliche Proteine werden bereits im Dünndarm weitgehend verdaut, wodurch die freigesetzten Aminosäuren absorbiert und dem Organismus zur Verfügung gestellt werden können (Zentek 2022). Schlechter verdauliche Proteine können im Dünndarm weniger aufgeschlossen werden, sodass sie weiter in den Dickdarm transportiert werden, wo sie wegen der

fehlenden Absorption durch die Dickdarmschleimhaut dem Organismus nicht oder allenfalls zu einem geringen Teil zur Verfügung stehen. Stattdessen werden sie von der intestinalen Mikrobiota fermentiert, wobei unter anderem Ammoniak, kurzkettige Fettsäuren und biogene Amine gebildet werden (Neis et al. 2015; Blachier et al. 2022). Die Verdaulichkeit von Aminosäuren hängt einerseits von verschiedenen Faktoren wie Alter, Rasse und dem intestinalen Mikrobiom des Hundes ab (Oberbauer und Larsen 2021) und wird andererseits von Faktoren wie der physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Interaktionen mit anderen Nahrungsbestandteilen und den Aminosäuren beeinflusst (Friedman 1996). Die Verdaulichkeit pflanzlicher Proteine ist zudem abhängig von den Auswirkungen auf die Verdauung der in Pflanzen enthaltenen Oligosaccharide (Abdel-Gawad 1993) und anderen antinutritiven Faktoren, siehe dazu Kapitel 2.4.1.

Bei der Bewertung der Verdaulichkeit von Proteinen müssen sowohl die Absorptions- als auch die Sekretionsprozesse, die während der Verdauung stattfinden, berücksichtigt werden. Dies führt dazu, dass die Angabe der scheinbaren Verdaulichkeit von Proteinen und Aminosäuren intrinsisch fehlerhaft ist (Hendriks et al. 2013). Die Proteinverdauung des Hundes ist variabel, sodass die Bioverfügbarkeit von Aminosäuren nicht exakt einzuschätzen ist (Hendriks et al. 2015).

Die biologische Wertigkeit eines Proteins ist abhängig von dem Anteil an essenziellen Aminosäuren. Eine limitierende Aminosäure ist diejenige essenzielle Aminosäure, die in einem bestimmten Futterprotein in der geringsten Menge vorhanden ist im Vergleich zu dem Bedarf des Organismus (Kasper 2014). Ein Mangel an essenziellen Aminosäuren äußert sich in der Regel klinisch unspezifisch (Oberbauer und Larsen 2021).

### 2.6.3 Taurin

Die Aminosäure Taurin ist insbesondere im Herz-, Skelett-, Gehirn- und Netzhautgewebe vorhanden (Hayes 1988) und spielt eine entscheidende Rolle bei der Konjugation von Gallensäuren zu Gallensalzen (Kasper 2014). Bei Katzen führt ein Taurinmangel zu einer Netzhautdegeneration und weiteren Störungen, insbesondere einer dilatativen Kardiomyopathie (Hayes et al. 1975). Bei der Katze gilt Taurin als essenzielle Aminosäure, aufgrund der geringen Aktivität der Cysteinsulfinsäuredecarboxylase kann sie Taurin nicht selbst synthetisieren (Knopf et al. 1978).

#### 2.6.3.1 Bedeutung für die Herzfunktion

Taurin erhöht die Calcium Empfindlichkeit der Myofilamente in den Skelettmuskelfasern von Säugetierherzen. Dies zeigte sich erstmals bei der Untersuchung der Auswirkungen der Aminosäure Taurin auf die isometrische Kraftentwicklung an Muskelfaserpräparaten sowohl in atrialen als auch in ventrikulären Schweineherzmuskeln (Galler et al. 1990). Taurin übt eine

unmittelbare Wirkung auf intrazelluläre Systeme im Herzmuskel aus. Dabei verbessert es die Fähigkeit des sarkoplasmatischen Retikulums des Herzens, Calcium aufzunehmen und steigert gleichzeitig die Empfindlichkeit der Myofilamente der Herztrabekel (Steele et al. 1990).

In einigen Studien wurde ein Taurinmangel mit dilatativer Kardiomyopathie beim Hund in Verbindung gebracht, wobei diese Kausalität nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft nicht eindeutig nachgewiesen werden konnte (Kaplan et al. 2018; Freid et al. 2021; Owens et al. 2023). Eine Taurinunterversorgung kann durch Futterrationen entstehen, deren Komponenten nur eine geringe Verfügbarkeit an schwefelhaltigen Aminosäuren oder Taurin aufweisen, beispielsweise in getreidefreien und pflanzenbasierten Diäten mit Hülsenfrüchten (Banton et al. 2021) oder bei Diäten, bei denen Lammfleisch die Proteinquelle und Reis die Kohlenhydratquelle ist (Backus et al. 2003).

### 2.6.3.2 Taurinsynthese bei Hunden und der Einfluss der Ernährung

Die Taurinsynthese erfolgt durch die Umwandlung von Methionin in Cystein über die biochemischen Prozesse der Transmethylierung und Transulfurierung. (Oberbauer und Larsen 2021). Die schwefelhaltige Aminosäure Cystein wird über die Cysteindioxygenase zu Cysteinsulphinat und anschließend über die Cysteinsulfinat-Decarboxylase in Hypotaurin umgewandelt. Hypotaurin wird im Anschluss zu Taurin transformiert (Legrand-Defretin 1994). Die Taurinsynthese ist bei größeren Hunden geringer als bei kleinen Hunden (Ko et al. 2007). Obwohl die meisten Hunderassen das Potenzial haben, Cystein in der Leber effizient in Taurin umzuwandeln, zeigten Hunde der Rasse Neufundländer, die mit handelsüblichem Futter gefüttert werden, einen Taurinmangel. Dieser Mangel könnte auf genetische Mutationen zurückzuführen sein (Backus et al. 2003). Darüber hinaus sind bestimmte Hunderassen, wie beispielsweise Golden Retriever, ebenfalls anfälliger für einen Taurinmangel (Kramer et al. 1995; Kaplan et al. 2018). In Tabelle 9 sind die rassespezifischen Unterschiede der Taurinsynthese dargestellt.

Tabelle 9: Rassespezifische Unterschiede in der Taurinsynthese, in Anlehnung an Ko et al. (2007)

Taurinbiosynthese	Versuch 1 <sup>1</sup>		Versuch 2 <sup>2</sup>	
	Kleine Hunde	Große Hunde	Kleine Hunde	Große Hunde
Gesamt, mg/d	749 ± 53,0	816 ± 218	752 ± 97,0	1228 ± 315
mg/kg Körpermasse	59,1 ± 4,40	22,3 ± 6,00	58,4 ± 6,50	31,6 ± 7,50

<sup>1</sup>Versuch 1: Fütterung der Hunde gemäß Erhaltungsbedarf

<sup>2</sup>Versuch 2: Fütterung auf Basis der metabolischen Körpermasse (kg<sup>0,75</sup>)

## 2.6.4 Schwefelhaltige Aminosäuren

Methionin und Cystein sind schwefelhaltige Aminosäuren, die sich an der Bindung von Metallionen innerhalb der Proteine beteiligen können (Chakrabarti 1989). Während Methionin eine essenzielle Aminosäure ist, gehört Cystein zu den nicht essenziellen Aminosäuren. Mit höherer Aufnahme von Methionin über die Nahrung kommt es zu einem Anstieg der Methionin Adenosyltransferase und Cystathioninsynthase. Bei ausreichend hoher Konzentration der Aminosäure Methionin kann diese über das Enzym Methionin Adenosyltransferase zu Adenosylhomocystein reagieren und über die Adenosylhomocysteinase zu Homocystein. Homocystein kann wiederum über einen Zwischenschritt über die Cystathionase zu Cystein transformiert werden. Liegt aber eine Unterversorgung von Methionin vor, kann Homocystein über die Methyltetrahydrofolathomocysteinmethyltransferase oder Betain-Homocysteinmethyltransferase wieder zu Methionin umgewandelt werden (Finkelstein 1990). Cystein spielt eine zentrale Rolle in der Synthese von Glutathion, einem wichtigen Antioxidans (Kranich et al. 1998). Dabei wird Cystein zusammen mit Glutamat und Adenosintriphosphat über das Enzym Glutathionsynthase zu Glutathion transformiert (Deleve und Kaplowitz 1990).

## 2.6.5 Weitere Aminosäuren und ihre ernährungsphysiologische Bedeutung

Die Tabelle 10 bietet eine Übersicht über verschiedene Aminosäuren und ihre spezifischen Funktionen im Stoffwechsel.

Tabelle 10: Übersicht verschiedener Aminosäuren und ihre wichtigsten Eigenschaften

Aminosäure	Eigenschaft	Referenz
Alanin	Energielieferant (über Pyruvatsynthese) Stickstofftransport, Muskelmetabolismus Transaminierung von Pyruvat → Alanin	Dieterle et al. (1978) Odessey et al. (1974) Goldstein und Newsholme (1976)
Arginin	Hauptvorläufer für Stickstoffoxidsynthese (Vasodilator) Entgiftung von Ammoniak	Palmer et al. (1988) Najarian und Harper (1956)
Asparaginsäure	Regulator Proteinsynthese Aspartat + Glutamin → Asparagin + Glutamat	Krall et al. (2016) Cedar und Schwartz (1969)
Citrullin	Entgiftung von Ammoniak über Harnstoffzyklus Arginin → Citrullin	Bradford und McGivan (1980) Beaumier et al. (1995)
Glutaminsäure	Proteinsynthese ↑ Entgiftung von Ammoniak über Glutaminsynthese Ammoniak + Glutamat → Glutamin	Coëffier et al. (2003) Hakvoort et al. (2017) Liaw und Eisenberg (1994)
Glycin	Neurotransmitter ↑ Proteinsynthese ↓ Proteinsynthese Serin → Glycin	Jursky und Nelson (1995) Sun et al. (2016) Amornwatcharapong et al. (2017)

Histidin	Histaminproduktion Sauerstoffligand in Hämoglobin	Yoshikawa et al. (2014) Birukou et al. (2010)
Isoleucin	Muskelsynthese ↑	Liu et al. (2021)
Leucin	Muskelsynthese ↑	Churchward-Venne et al. (2014)
Lysin	Muskelsynthese ↑ Proteinsynthese ↑	Sato et al. (2015)
Phenylalanin	Tyrosinsynthese Katecholaminsynthese	Clarke und Bier (1982) Rios et al. (1999)
Threonin	Proteinsynthese ↑	Zhang et al. (2017)
Tryptophan	Serotoninsynthese	Joh et al. (1975)
Valin	Proteinsynthese ↑	Khairallah und Mortimore (1976)

---

## 2.7 Einsatz pflanzlicher Proteine in Diäten für Hunde

### 2.7.1 Vergleich mit tierischen Proteinen

Tierische Proteine (Fleisch) weisen beim Hund die höchste präzäkale scheinbare Verdaulichkeit auf mit einem Wert von 98 %, während Sojaprotein mit 94 % und Erbsenprotein mit 85 % ebenfalls gute Verdaulichkeitswerte zeigen (Verweis auf Tabelle 11).

Geflügelmehl wird aufgrund seiner hohen Verdaulichkeit und seines Nährstoffprofils häufig als Proteinquelle in kommerziellen Hundefuttermitteln verwendet (Barry et al. 2009). Es wird in vielen Studien in Kontrolldiäten verwendet (Barry et al. 2009; Reilly et al. 2021; Traughber et al. 2021). Dieses Produkt wird durch Kochen, Pressen, Sterilisieren und Mahlen von Nebenprodukten der Geflügelschlachtung hergestellt. Die Qualität und Zusammensetzung können je nach Anteil der tierischen Gewebe und der Verarbeitung variieren (Vanelli et al. 2021). Zudem beeinflussen die Verarbeitungstemperatur und der Gehalt an Rohasche die Eigenschaften des Geflügelmehls (Yamka et al. 2003). Im Gegensatz dazu sind pflanzliche Proteinquellen in ihrer Zusammensetzung weniger variabel (Vanelli et al. 2021). Jedoch stellen die schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystin in Hülsenfrüchten limitierende Faktoren dar (Boulter et al. 1976; Reilly et al. 2020b). Tierische Proteine weisen insofern ein höherwertiges Aminosäureprofil als pflanzliche Proteinquellen auf (Donadelli et al. 2019). Zudem liefern tierische Proteinquellen wie Fleisch und Fisch zusätzlich Vitamin B<sub>12</sub> (Watanabe 2007).

Bei der Untersuchung von fünf verschiedenen Hülsenfrüchten einschließlich schwarzer Bohnen, Kichererbsen, Marinebohnenpulver, gelber Erbsen und grüner Linsen wurde die Verdaulichkeit des Proteins untersucht. Die ausgewählten Hülsenfrüchte erreichten eine hohe Verdaulichkeit der essenziellen Aminosäuren mit Ergebnissen zwischen 88 % (Methionin) und 96 % (Tryptophan) (Reilly et al. 2020a). In einer weiteren Studie wurden pflanzliche Proteinquellen wie Erbsenprotein, Kartoffelprotein, Ackerbohnen, Sojaproteinkonzentrat und Trockenhefe untersucht. Auch diese fünf ausgewählten pflanzlichen Proteinkonzentrate zeigten eine gute

Verdaulichkeit der essenziellen Aminosäuren von 88 % bis 96,3 %. Allerdings war die scheinbare Verdaulichkeit von Lysin, Methionin und Cystein in diesen pflanzlichen Proteinkonzentraten geringer (Reilly et al. 2020b). Beide Studien kommen zu dem Entschluss, dass pflanzliche Proteinquellen für die Ernährung von Hunden geeignet sind, wenn die begrenzenden Aminosäuren Methionin und Cystein durch zusätzliche Proteinquellen oder freie Aminosäuren ergänzt werden.

Tabelle 11: Vergleich der scheinbaren Verdaulichkeit (%) von pflanzlichen und tierischen Eiweißquellen nach Zentek (2022)

Proteinquelle	Scheinbare Verdaulichkeit	Scheinbare präzäkale Verdaulichkeit	Scheinbare postileale Verdaulichkeit
Frischfleisch	98	98	1 - 2
Geflügelmehl	86	79	7
Fleischmehl	90	86	4
Fischmehl	83 - 89	n.a.	n.a.
Sojaproteinisolat	94	91	3
Sojaproteinkonzentrat mit 45 % des Proteins	87 - 88	n.a.	n.a.
Sojaextraktionsschrot mit geringem Phytatgehalt	79	74	5
Sojaextraktionsschrot oligosaccharidarm	82	72	10
Maiskleberfutter	72	n.a.	n.a.
Erbsen	85	n.a.	n.a.

### 2.7.2 Effekte der Proteinversorgung auf die Tiergesundheit

Hunde sind in der Lage, ihren Proteinumsatz an die Proteinzufuhr anzupassen (Humbert et al. 2001). Dennoch ist es wichtig, die Bedeutung eines ausgewogenen Aminosäurenverhältnisses bei ausgewachsenen Hunden sowie für das Wachstum und die Entwicklung junger Hunde zu beachten. Beispielsweise zeigte sich bei der Fütterung einer proteinarmen Basaldiät, bei der entweder Methionin oder Lysin supplementiert wurden, eine Wachstumsverzögerung bei Welpen. Durch die Zugabe beider Aminosäuren konnte ein besseres Wachstum der Welpen erzielt werden (Gessert und Phillips 1956). Der Verzicht auf Arginin in der Nahrung bei Hunden führte zu einem leichten, aber signifikanten Verlust an Körpermasse. In diesen Experimenten wurde Erbrechen beobachtet, begleitet von Muskelzittern. Darüber hinaus wurde ein erhöhter Ammoniakgehalt im Plasma festgestellt. (Ha et al. 1978; Burns et al. 1981). Ein Futter mit niedrigem Histidingehalt verursachte bei Hunden Gewichtsverlust sowie Reduktion von Plasma- und Muskelhistidin, Muskeltarnosin, Hämatokrit und Serumalbumin. Diese Befunde belegen die essenzielle Rolle von Histidin für Hunde (Cianciaruso et al. 1981). Insbesondere zeigten

Untersuchungen, dass eine Unterversorgung mit Methionin und Cystin das Wachstum und die Gewichtszunahme bei jungen Welpen beeinträchtigen kann. Dies belegt, dass diese Aminosäuren für die normale Entwicklung entscheidend sind (Blaza et al. 1982).

Daraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass eine angemessene Versorgung mit allen essenziellen Aminosäuren in der Ernährung des Hundes von entscheidender Bedeutung ist, um optimale Gesundheit und Wachstum zu gewährleisten, was bei Verwendung pflanzlicher Proteinquellen ein kritischer Punkt sein kann.

### 2.7.3 Dilatative Kardiomyopathie

Eine dilatative Kardiomyopathie ist eine Herzmuskelerkrankung, die durch eine fortschreitende Herzdilatation gekennzeichnet ist (Fentzke et al. 1998). Die Diagnostik einer dilatativen Kardiomyopathie beim Hund erfolgt nach den Leitlinien der European Society of Veterinary Cardiology (ESVC) anhand der folgenden Kriterien: linksventrikuläre Dilatation, reduzierte systolische Funktion und eine vermehrte Sphärizität des linken Ventrikels (Dukes-McCewan et al. 2003).

Grundsätzlich wird zwischen einer primären und einer sekundären Kardiomyopathie unterschieden. Die primäre Kardiomyopathie betrifft typischerweise große Hunderassen wie Dobermannpinscher, Deutsche Dogge, Cocker Spaniel und Boxer (Martin et al. 2009). In diesem Fall haben die Rassen eine genetische Veranlagung für diese Erkrankung entwickelt (Mccauley et al. 2020). Tritt die Herzerkrankung bei einer atypischen Rasse auf, ist von einer sekundären Ursache auszugehen, wie beispielsweise anderen Krankheiten oder Nährstoffmangel (Mccauley et al. 2020). In einigen Fällen kann eine klinische Verbesserung durch eine Taurin- (Adin et al. 2019) oder Carnitin-Supplementierung (Keene 1991) beobachtet werden, womit sich der Verdacht auf eine ernährungsbedingte Ursache erhärtet (Kaplan et al. 2018; Freid et al. 2021; Owens et al. 2023).

### 2.7.4 Zusammenhang mit der Ernährung

Im Jahr 1995 wurde erstmals eine dilatative Kardiomyopathie bei Hunden mit ernährungsbedingtem Taurinmangel diagnostiziert, insbesondere bei Golden Retrievern, Cocker Spaniels, aber auch bei anderen Rassen (Kramer et al. 1995). Die Food and Drug Administration (FDA) veröffentlichte im Jahr 2018 einen Bericht, demzufolge eine dilatative Kardiomyopathie häufiger bei Hunden beobachtet wurde, die über einen längeren Zeitraum mit Hülsenfrüchten oder Kartoffeln anstelle von Getreide gefüttert wurden. Bislang ist kein eindeutiger wissenschaftlicher Zusammenhang zwischen einer getreidefreien Ernährung und dilatativer Kardiomyopathie bekannt (FDA 2018).

Bereits 1995 gab es erste Studien, die den Zusammenhang zwischen Herzerkrankungen und Taurinmangel untersuchten. In einer Studie konnte bei 13 von 76 Hunden, die an einer dilatativen Myopathie erkrankt waren, eine niedrige Taurinkonzentration festgestellt werden. Sieben

der 13 erkrankten Hunde mit einer niedrigen Taurinkonzentration waren Cocker Spaniels oder Golden Retriever. Der Großteil der Hunde mit einer dilatativen Kardiomyopathie wiesen zwar keine niedrigen Taurinkonzentrationen im Plasma auf, doch können bei einzelnen Hunden oder Rassen eine niedrige Taurinkonzentrationen in Kombination mit einer dilatativen Myopathie vorkommen, so die Schlussfolgerung der Autoren (Kramer et al. 1995).

In den nachfolgenden Studien wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen einer Kardiomyopathie und der Ernährung festgestellt, zumindest konnte über eine Futterumstellung eine Besserung erzielt werden (Kaplan et al. 2018; Adin et al. 2019; Freid et al. 2021).

In einer retrospektiven Studie zur dilatativen Kardiomyopathie bei Hunden wurden 71 Fälle im Zusammenhang mit einer getreidefreien Diät analysiert. Nicht-traditionelle extrudierte Futtermittel wurden als getreidefreie Produkte definiert. Hunde mit nicht-traditioneller Ernährung, deren Futter umgestellt wurde, zeigten eine größere prozentuale Abnahme der normalisierten systolischen linksventrikulären Innendimension ( $p=0,03$ ) und des Verhältnisses von linkem Vorhof zu Aorta ( $p<0,001$ ) im Vergleich zu Hunden, deren Ernährung nicht geändert wurde. Die Überlebenszeit der Hunde, deren Ernährung umgestellt wurde, war signifikant länger als bei denen, deren Ernährung nicht geändert wurde ( $p=0,002$ ). Es gab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Taurinsupplementation und der Überlebensdauer. Die genauen Ursachen und Mechanismen der ernährungsbedingten DCM bleiben somit weiterhin unklar (Freid et al. 2021).

Ebenfalls untersuchte eine Studie die Verbindung einer dilatativen Kardiomyopathie bei Golden Retrievern mit einem Taurinmangel und einer möglichen negativen Wirkung einer getreidefreien Diät. Golden Retriever mit dokumentiertem Taurinmangel und DCM sowie gesunde Golden Retriever wurden echokardiographisch untersucht. Die Nährstoffangaben der Futtermittel wurden auf ihre Vollständigkeit und Ausgewogenheit geprüft. Bei Diäten, die nicht in Fütterungsversuchen getestet wurden, aber den AAFCO-Richtlinien (AAFCO 2019) entsprechen sollten, wurde überprüft, ob dies durch Rezepturen oder Analysen des Endprodukts gemäß den Empfehlungen der (WSAVA 2021) bestätigt wurden. Die tatsächliche Energieaufnahme jedes Hundes wurde aufgezeichnet und mit dem berechneten Erhaltungsbedarf verglichen. Von den 24 Hunden mit Taurinmangel und DCM erhielten 23 Hunde getreidefreie oder hülsenfruchtreiche Futtermittel oder eine Kombination dieser Faktoren. Nach der Ernährungsumstellung und Taurinsupplementierung zeigten diese 23 Hunde signifikante Verbesserungen der echokardiografischen Parameter und eine Normalisierung der Taurinkonzentration im Blut. Bei neun von elf Hunden mit diagnostizierter kongestiver Herzinsuffizienz war bei der Nachuntersuchung eine deutliche Verbesserung feststellbar, wobei fünf Hunde keine Diuretikatherapie mehr benötigten. Allen Hunden mit vorliegenden Nachuntersuchungsdaten wurde eine Ernährungsumstellung und eine Taurinsupplementierung in einer Dosis von 3000 mg (Bereich 2000

bis 4500 mg), verteilt auf zwei- bis dreimal täglich, verordnet. Es wurde festgestellt, dass die tatsächliche Nahrungsaufnahme bei allen Hunden, mit Ausnahme eines Tieres, unter dem berechneten Bedarf lag. Dies weist darauf hin, dass die Nahrungsaufnahme in diesen Fällen eine bedeutende Rolle spielen könnte. Zudem zeigten die gesunden Golden Retriever, die ebenfalls mit getreidefreien Diäten gefüttert wurden, ein erhöhtes Auftreten von Taurinmangel. Ein direkter Zusammenhang zwischen Taurinmangel und Ernährung konnte aber nicht nachgewiesen werden. Die Auswahl ausgewogener Diäten mit ausreichendem Taurin- und Nährstoffgehalt ist entscheidend für die Herzgesundheit von Hunden. Weitere Forschung ist erforderlich, um die langfristigen Auswirkungen solcher Diäten auf die Herzgesundheit genauer zu verstehen. Taurinmangel und DCM bei Golden Retrievern sind wahrscheinlich multifaktoriell bedingt und umfassen eine Kombination aus diätetischen, metabolischen und genetischen Faktoren (Kaplan et al. 2018).

Eine weitere Studie untersuchte die Auswirkungen nicht-traditioneller im Vergleich zu traditionellen Diäten auf die Herzgesundheit von Hunden. Nicht-traditionelle Diäten enthielten hauptsächlich Hülsenfrüchte wie Erbsen, Linsen und Kichererbsen, während traditionelle Diäten Getreide beinhalten und weder Kartoffeln noch Hülsenfrüchte unter den ersten zehn Zutaten aufwiesen. Die Hunde wurden klinisch untersucht und es wurden das N-terminale Prohormon des natriuretischen Peptids vom Typ B im Plasma, kardiales Troponin I im Serum sowie die Taurinkonzentration im Vollblut und Plasma analysiert. Hunde, die nicht traditionelle Diäten erhielten, wiesen niedrigere kardiale Auswurfractionen und größere linksventrikuläre Volumina auf, was auf eine beeinträchtigte Herzfunktion hinwies. Diese Diäten waren mit einer geringeren systolischen Myokardleistung verbunden. Im Vergleich dazu zeigten Hunde, die traditionelle getreidebasierte Diäten erhielten, günstigere Parameter der Herzgesundheit. Bei den Konzentrationen der kardialen Marker, Vollblut- und Plasmataurin wurden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diätgruppen festgestellt. Die Studie betonte die Bedeutung einer ausgewogenen Ernährung und der regelmäßigen Überwachung der Herzgesundheit von Hunden, insbesondere bei der Ernährung von nicht-traditionellen Diäten, die möglicherweise mit Herzproblemen in Verbindung stehen (Owens et al. 2023).

Eine weitere Untersuchung kam ebenfalls zu dem Ergebnis, dass keine Unterschiede bei echokardiografischen Variablen, N-terminalem pro-B-Typ natriuretischem Peptid oder Vollblut-Taurin zwischen den Hunden festgestellt wurden, die getreidefreie Diäten auf Basis von Hülsenfrüchten erhielten. Allerdings hatten Hunde, die getreidefreie Diäten konsumierten, höhere Konzentrationen von Troponin I sowie Taurin im Plasma. Hunde, die mit Diäten auf Basis von Erbsen, Linsen oder Kartoffeln gefüttert wurden, wiesen höhere Troponin I-Konzentrationen auf. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass höhere kardiale Troponin I-Konzentrationen bei gesunden Hunden, die getreidefreie und leguminosenhaltige Diäten erhalten, auf eine

geringfügige Schädigung der Kardiomyozyten hinweisen könnten. Dies bedarf jedoch weiterer Aufklärung. Die Diäten wurden basierend auf dem Vorhandensein von Getreide und spezifischen, von der FDA als bedenklich eingestuften Zutaten kategorisiert. Getreidefreie Diäten enthielten keine getreidehaltigen oder getreidebasierten Zutaten wie Weizen, Reis, Hafer, Mais oder Gerste. Getreidehaltige Diäten enthielten solche Zutaten. Kritische Diäten beinhalteten Erbsen, Linsen oder Kartoffeln unter den Top 10 Zutaten. Zusätzlich wurde die Anwesenheit von Taurin und Methionin in den Diäten erfasst, da diese Aminosäuren die Taurinkonzentrationen im Blut beeinflussen können. Insgesamt nahmen 188 gesunde Dobermann-Pinscher, Golden Retriever, Zwergschnauzer und Whippets an der Studie teil (Adin et al. 2021).

Somit wird ein Zusammenhang zwischen Herzerkrankungen beim Hund und getreidefreier Ernährung sowie niedriger Taurinkonzentrationen im Blut zwar seit 1995 diskutiert, es fehlen aber eindeutige kausale Nachweise (Kramer et al. 1995; Kaplan et al. 2018; Adin et al. 2021; Freid et al. 2021; Owens et al. 2023).

Darüber hinaus wurde ein Mangel an Carnitin mit der dilatativen Kardiomyopathie beim Hund assoziiert (Keene et al. 1991). Diäten, die über längere Zeit auf Lammfleischbasis oder mit einem geringen Gehalt an schwefelhaltigen Aminosäuren gefüttert werden, können sich negativ auf den Taurinspiegel auswirken (Kresken et al. 2019).

#### 2.7.5 Andere Einflussfaktoren

Endokrine Störungen wie Hyperthyreose und hohe Katecholaminspiegel durch ein Phäochromozytom können zu einer Schädigung der Kardiomyozyten führen, indem sie den Zellmetabolismus erhöhen. Dies kann letztendlich zu einer systolischen Funktionsstörung führen bis hin zu einer dilatativen Kardiomyopathie. Ebenso kann eine erhebliche Unterfunktion der Schilddrüse beim Hund zu einer Herzmuskelerkrankung führen (Kresken et al. 2019). Unter den infektiösen Ursachen ist die Parvovirusinfektion des Welpen mit kardialer Manifestation zu nennen (Agungpriyono et al. 1999).

### 2.8 Rolle von pflanzlichen und tierischen Proteinen bei der Entwicklung von Futtermittelunverträglichkeiten und -allergien

Der Begriff „unerwünschte Futtermittelreaktion“ („Adverse food reaction“) umfasst verschiedene immunologische (Allergie) und nicht-immunologische (Intoleranz) Reaktionen von Tieren auf Futtermittel oder deren Bestandteile. In der Medizin ist eine Lebensmittelallergie definiert als eine anormale unerwünschte Immunreaktion, die durch einen Lebensmittelinhaltsstoff, vor allem durch Proteine, ausgelöst wird (Gaschen und Merchant 2011). (Glyko-)proteine sind potenzielle Futtermittelallergene und sind resistent gegen Hitze, Säure und Proteasen (Verlinden et al. 2006).

Bei Haustieren ist die Prävalenz von Futtermittelintoleranzen unbekannt. Bisher konnte weder eine rassespezifische noch eine altersbedingte Prädisposition für Futtermittelallergien nachgewiesen werden (Verlinden et al. 2006; Picco et al. 2008). In verschiedenen Studien wurde jedoch immer wieder festgestellt, dass Hunderassen wie Boxer, West Highland Terrier, Golden Retriever, Rhodesian Ridgeback, Deutscher Schäferhund und Mops in besonderem Maße von Futtermittelallergien betroffen sind (Picco et al. 2008). Die Symptome beschränken sich primär auf die Haut und den Magen-Darm-Trakt (Day 2005; Verlinden et al. 2006). Charakteristisch ist ein kortikosteroid-resistenter, generalisierter oder lokalisierter, nicht saisonaler Pruritus (Gesicht, Ohren, Pfoten, Achselhöhlen, Leisten- und Dammbereich), weiterhin Otitis externa, Pyodermie sowie chronisches Erbrechen und Durchfall (Picco et al. 2008). Eine Eliminationsdiät gilt als Goldstandard für die Diagnose einer unerwünschten Futtermittelreaktion, insbesondere einer Allergie. Wenn die Symptome nach Abschluss der Eliminationsdiät (nach etwa 8 bis 12 Wochen) nicht mehr vorhanden sind, wird ein Provokationstest durchgeführt, um die verursachenden Nahrungsmittelbestandteile zu identifizieren (Gaschen und Merchant 2011). Zur Reduktion unerwünschter Reaktionen auf bestimmte Proteine werden Futtermittel mit begrenzten und oft ungewöhnlichen Zutaten hergestellt. Während des Herstellungsprozesses kommt es jedoch gelegentlich zu Kontaminationen mit anderen Proteinquellen (Fossati et al. 2019).

In der Humanmedizin sind die Allergene, die für Nahrungsmittelallergien beim Menschen verantwortlich sind, gut bekannt. In der Veterinärmedizin ist dies deutlich weniger untersucht. Hunde reagieren auf Umwelt- und Nahrungsmittelallergene ähnlich wie der Mensch (Day 2005). Daher wurden menschliche Allergene auch im Hundemodell untersucht (Dearman und Kimber 2009). Die häufigsten diätetischen Allergene sind Proteine von Rind, Huhn, Milch, Eiern, Mais, Weizen und Sojabohnen (Day 2005). Weizen ist das am häufigsten verfütterte Getreide und wurde in einer Studie für 15 % der dokumentierten Fälle (n=198) von Futtermittelüberempfindlichkeit verantwortlich gemacht, wohingegen tierische Proteine in 36 % der untersuchten Fälle eine Reaktion hervorriefen (Laflamme et al. 2014).

Im Hundemodell kann nach Sensibilisierung und Provokation eine IgE-spezifische Immunantwort nachgewiesen werden. Somit spielt das Immunglobulin IgE eine wichtige Rolle in der Sofortreaktion auf ein Futter (Day 2005). Immunglobuline lösen verschiedene Überempfindlichkeitsreaktionen aus: Typ I (zytotoxische Reaktionen), Typ III (durch Immunkomplexe vermittelt) und Typ IV (zellvermittelt) (Verlinden et al. 2006). In einer Studie aus dem Jahr 2013 wurde die Hypothese aufgestellt, dass Welpen, die von Anfang an nur mit einer Proteinquelle gefüttert werden, dazu neigen, eine immunologische Reaktion zu zeigen, wenn eine neue Proteinquelle eingeführt wird. Es stellte sich jedoch

heraus, dass der Organismus weder auf der Ebene der Verdauung noch auf der Ebene des Immunsystems eine Reaktion auf die verschiedenen Proteine zeigte (Philipp 2013).

## 2.9 Nutzen und Risiken pflanzlicher Proteinquellen für die Gesundheit des Hundes

Die pflanzlichen Komponenten in der Ernährung von Hunden und die mögliche Rolle von Getreide als Auslöser von Futtermittelunverträglichkeiten spielen in der Diskussion über die Ernährung von Hunden eine zunehmend wichtige Rolle. Wissenschaftliche Daten zur Bewertung von pflanzlichen Eiweißkomponenten oder Alternativen zu Getreide in Rationen für Hunde liegen jedoch bisher nur in geringem Umfang vor.

Es gibt Hinweise darauf, dass sich der Hund durch die Domestikation an die menschliche Ernährung angepasst hat, was zu einer erhöhten Expression von Amylase geführt hat. So wurde nachgewiesen, dass Menschen bereits in der Bronzezeit Hirse an ihre Hunde verfütterten (Albizuri et al. 2021). Darüber hinaus zeigen verschiedene Arbeiten, dass pflanzliche und tierische Proteinquellen nach entsprechender Verarbeitung eine ähnliche scheinbare Verdaulichkeit bei Hunden aufweisen können. Aufgrund der hohen Anpassungsfähigkeit des Hundes ist es möglich, eine bedarfsgerechte Ernährung mit pflanzlichen Komponenten zu erreichen.

Entscheidend ist dabei die ausreichende Verfügbarkeit von essenziellen Aminosäuren, darunter die Aminosulfonsäure Taurin. Es wurden rassespezifische Unterschiede in der Eigensynthese von Taurin beim Hund festgestellt. Hülsenfrüchte haben mit Ausnahme von Methionin ein essenzielles Aminosäureprofil. Ergänzende Getreidekörner liefern ein Aminosäureprofil mit schwefelhaltigen Aminosäuren. Für die Forschungsarbeit bedeutet dies, dass weitere Untersuchungen erforderlich sind, um die optimale Verwendung von pflanzlichen Proteinquellen und Getreide in Hundefutter zu verstehen.

Basierend auf der durchgeführten Literaturrecherche lässt sich festhalten, dass sowohl pflanzliche als auch tierische Proteinquellen in Kombination mit unterschiedlichen Kohlenhydraten Effekte auf die Verdaulichkeit von Nährstoffen, das intestinale Mikrobiom sowie auf diverse metabolische Parameter haben. Die Übersicht zeigt, dass es für pflanzliche Proteinquellen und das Pseudogetreide Quinoa keine Hinweise für Unverträglichkeiten bei Hunden gibt. Diese Übersicht liefert eine solide Grundlage für weitere Untersuchungen, insbesondere hinsichtlich der Auswirkungen alternativer Formen der Ernährung auf die Gesundheit von Hunden. Die vorliegende Arbeit soll die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Proteinquellen und –konzentrationen sowie die Interaktionen zu Weizen bzw. Quinoa detailliert untersuchen.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Versuchsziel

Die vorliegende Studie zielte darauf ab, die Auswirkungen einer Ernährung auf Basis pflanzlicher Proteine, sowohl mit als auch ohne Zugabe von Getreide, umfassend in Bezug auf die Akzeptanz, die Nährstoffverdaulichkeit und die intestinale Mikrobiota von Hunden zu untersuchen.

Der Tierversuch wurde am Institut der Tierernährung der Freien Universität Berlin im Zeitraum vom 06.03.2023 bis zum 01.11.2023 durchgeführt. Die Genehmigungsnummer für den Tierversuch lautet G0064/22.

### 3.2 Hunde

Die Studie wurde mit zehn adulten und gesunden Beagles durchgeführt. Die Hunde wurden in zwei Gruppen mit jeweils zwei Individuen und in zwei Gruppen mit drei Individuen aufgeteilt. Alle Hunde hatten täglich Auslauf von zwei bis vier Stunden. In Tabelle 12 ist die Gruppeneinteilung dargestellt.

Tabelle 12: Gruppeneinteilung, Name, Geschlecht und Geburtsdatum der Hunde

Gruppe	Name	Geschlecht	Geburtsdatum
1	Nala	Weiblich	08.02.2018
	Minni	Weiblich	28.02.2018
	Merida	Weiblich	16.01.2018
2	Belle	Weiblich	21.01.2018
	Perdita	Weiblich	17.02.2018
3	Lilo	Weiblich	29.01.2018
	Kiara	Weiblich	12.02.2018
4	Elsa	Weiblich	22.01.2018
	Bianca	Weiblich	08.03.2018
	Cinderella	Weiblich	22.01.2018

### 3.3 Versuchsdiäten

Die Auswahl der Diäten in dieser Studie orientierte sich an den zu untersuchenden Faktoren und Komponenten. Um die Haupteffekte der einzelnen Faktoren sowie ihre Wechselwirkungen zu analysieren, wurde die Studie in einem dreifaktoriellen Design durchgeführt, siehe dazu Tabelle 13. Es wurde der Einfluss unterschiedlicher Kohlenhydratquellen (Weizen oder Quinoa) in Kombination mit Proteinlieferanten (Geflügelmehl sowie Erbsen in Kombination mit

Bohnen) und unterschiedlicher Proteinkonzentrationen untersucht. Die bedarfsdeckende Proteinversorgung erfolgte gemäß wissenschaftlichen Empfehlungen, wobei die Aufnahme so berechnet wurde, dass der Bedarf an essenziellen Aminosäuren abgedeckt wurde bzw. bei hoher Versorgung die Menge an Proteinen bzw. Aminosäuren auf das 1,5-fache angehoben wurde.

Das Futter wurde für einen Zeitraum von zwei bis drei Tage im Voraus in einem Dampfgarer für 20 Minuten bei 100 °C zubereitet und bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. Die Fütterung der Hunde erfolgte zweimal täglich entsprechend dem Erhaltungsbedarf.

Die Kombination der genannten Komponenten führte zu insgesamt acht verschiedenen Diäten (Tabelle 13). Die Komponenten der einzelnen Diäten sind in Tabelle 14 dargestellt.

Tabelle 13: Übersicht zu den eingesetzten Versuchsmischungen für die Fütterungsstudie mit Austausch einer tierischen Proteinquelle gegen pflanzliches Protein in Kombination mit Getreide oder Quinoa

Faktoren		Proteinversorgung			
		Bedarfsdeckend		1,5-fache Überversorgung	
	Komponenten	Geflügelmehl	Erbsen + Bohnen	Geflügelmehl	Erbsen + Bohnen
Kohlenhydrate	Getreide	WG1	WEB1	WG1.5	WEB1.5
	Quinoa	QG1	QEB1	QG1.5	QEB1.5

Tabelle 14: Zusammensetzung der Versuchsdieten für die Hunde (%)

	QEB1	QEB1.5	WEB1	WEB1.5	QG1	QG1.5	WG1	WG1.5
Quinoa	71,5	45,8	-	-	85,3	68,0	-	-
Weizen, zerkl. Aufgeschlos- sen	-	-	58,8	39,1	-	-	73,8	59,0
Erbse	10,0	16,0	12,0	15,0	-	-	-	-
Bohnenkon- zentrat	10,2	30,5	18,5	36,5	-	-	-	-
Geflügelmehl low ash	-	-	-	-	9,00	27,6	18,5	35,0
Futtercellulose	-	-	1,00	-	-	1,70	2,70	3,00
Ca-Karbonat	1,00	1,50	0,75	1,40	0,50	-	-	-
Ca-Phosphat	2,00	1,00	2,50	1,50	1,50	-	2,50	0,50
Kaliumzitrat	0,30	-	-	-	0,75	0,70	-	-
FU Mineral <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Novomineral cook it <sup>2</sup>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Kochsalz, io- diert	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sonnenblu- menöl	2,50	2,70	4,00	4,00	0,50	0,50	1,30	1,00
Methionin	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,10	0,30
L-Cystin	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,10	0,20
Titandioxid	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

<sup>1</sup>Analytische Bestandteile: 6,30 % Rohprotein, 1,80 % Rohfett, 2,50 % Rohfaser, 50,0 % Rohasche, Ca 0,23 %, P 0,33 %, Mg 5,50 %, Na 13,0 %, Zusatzstoffe je kg: Fe (Eisen-(II)-sulfat, Monohydrat) 5.000 mg, Cu (Kupfer-(II)-sulfat, Pentahydrat) 1.000 mg, Zn (Zinkoxid) 5.000 mg, Mn (Mangan-(II)-oxid) 6.000 mg, J (Calciumjodat) 45,0 mg, Se (Natriumselenit) 40,0 mg, Vit. A 600.000 IE, Vit. D3 120.000 IE, Vit. K3 300 mg, Vit. E 8.000 mg, Vit. B1 250 mg, Vit. B2 250 mg, Vit. B6 400 mg, Vit. B12 2.000 µg, Biotin 25.000 µg, Folsäure 100 mg, Calcium-D-Pantothemat 1.000 mg (Spezialfutter Neuruppin, D)

<sup>2</sup>Analytische Bestandteile: Ca 21,0 %, P 6,00 %, Mg 1,25 %, Na 1,50 %, Zusatzstoffe je kg: Fe (Eisen-II-sulfat Monohydrat) 600 mg, Cu (Kupfer-II-sulfat Pentahydrat) 300 mg, Zn (Zinkoxid) 3.000 mg, Mn (Mangan-II-sulfat Monohydrat) 150 mg, J (Kaliumjodid) 50 mg, Vit. A (Retinylacetat) 250.000 IE, Vit. D3 30.000 IE, Vit.E 1.750 IE, Vit. B1 150 mg, Vit. B2 300 mg, B12 2.000 µg, Biotin 1.000 µg, Calcium-D-Pantothemat 1.200 mg, Folsäure 10,0 mg (Novomineral COOK IT, Napfcheck, D)

### 3.4 Versuchsplan

Ziel des Versuchsdesigns war es, Verschleppungs- und Zeiteffekte zu eliminieren, sodass sich die Reihenfolge der Diäten in den Gruppen nicht wiederholte. Die Zuordnung der Diäten zu den jeweiligen Versuchsmonaten ist in Tabelle 15 zu sehen.

Tabelle 15: Zuordnung der Diäten im zeitlichen Verlauf

Hund										
Monat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	WEB1.5	QEB1.5	WEB1	QEB1	QEB1	WG1.5	QG1.5	WG1	QG1	WG1.5
2	QEB1	WEB1	QEB1.5	WEB1.5	WEB1	QG1	WG1	QG1.5	WG1.5	WG1
3	WEB1	QEB1	WEB1.5	QEB1.5	QEB1.5	WG1	QG1	WG1.5	QG1.5	QG1.5
4	QEB1.5	WEB1.5	QEB1	WEB1	WEB1.5	QG1.5	WG1.5	QG1	WG1	WG1.5
5	WG1.5	QG1.5	WG1	QG1	WG1.5	WEB1.5	QEB1.5	WEB1	QEB1	QEB1.5
6	WG1	QG1	WG1.5	QG1.5	QG1	WEB1	QEB1	WEB1.5	QEB1.5	QEB1
7	QG1.5	WG1.5	QG1	WG1	QG1.5	QEB1.5	WEB1.5	QEB1	WEB1	WEB1.5
8	QG1	WG1	QG1.5	WG1.5	WG1	QEB1	WEB1	QEB1.5	WEB1.5	WEB1

Eine Versuchsperiode dauerte 28 Tage, während dieser gesamten Zeit wurden die Hunde mit den zugewiesenen Diäten gefüttert. In den ersten 23 Tagen eines Versuchsmonats befanden sich die Tiere in der Adaptionphase. In den Tagen 24 bis 28 wurden Harn- und Kotproben gesammelt. Am Tag 26 erfolgte die Abnahme der Blutproben. Die Tabelle 16 zeigt eine schematische Darstellung des beschriebenen Versuchsablaufs.

Tabelle 16: Schematische zeitliche Darstellung des Versuchsablaufs innerhalb der Fütterungsperioden der Hunde

Versuchsablauf	Tage																											
	1	2	...	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28														
Parallele Fütterung der acht Diäten	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x														
Adaptionsphase	x	x	x	x	x	x	x	x	x																			
Harn- und Kotproben											x	x	x	x	x													
Blutprobe														x														

Einmal wöchentlich wurde die Körpermasse der Hündinnen kontrolliert.

Am Tag der Blutentnahme wurde bei jedem Hund eine allgemeine Untersuchung durchgeführt. Der Allgemein- und Pflegezustand, das Verhalten sowie die Körperhaltung wurden dabei erfasst.

#### 3.4.1 Probensammlung und -entnahme

#### 3.4.2 Kotsammlung

Das Aufsammeln der Kotproben erfolgte frisch von jedem Hund nach dem Absetzen im Stall bzw. im Auslauf oder beim Spaziergang. Die Proben wurden anschließend bei -80 °C eingefroren zur späteren Analyse des Mikrobioms. Zur Bestimmung mikrobieller Metabolite, der pH-Werte und der scheinbaren Verdaulichkeit wurde Kot über mehrere Tage gesammelt, gemischt und bei -20 °C eingefroren.

Die Konsistenz wurde einmal wöchentlich anhand eines Scoring-Systems bestimmt und dokumentiert (Tabelle 17).

Tabelle 17: Bewertungsskala für die Beurteilung der Kotkonsistenz der Hunde

Score	Beschreibung der Fäzes
1	Flüssige Fäzes, Diarrhoe
2	Mischung aus größtem Anteil flüssiger Fäzes
3	Geformte Fäzes, aber sehr weich
4	Geformte und trockene Fäzes aber nicht hart
5	Geformte, trockene und harte Fäzes

### 3.4.3 Harnsammlung

Der Harn wurde nicht invasiv mit einer speziellen Auffangvorrichtung für Hündinnen beim täglichen Spaziergang aufgefangen. Diese Methode wurde vor Beginn der Studie mit den Hunden geübt. Der Harn wurde bei -20 °C eingefroren und später im Labor untersucht.

### 3.4.4 Blutentnahme

In jeder Versuchsphase wurde einmal Blut entnommen, sodass insgesamt pro Hund acht Blutentnahmen erfolgten. Mit Hilfe einer sterilen Einmalkanüle wurden die *Vena cephalica antibrachii* bzw. *Vena saphena lateralis* punktiert. Für die jeweiligen Untersuchungen wurden je 1 ml Blut in einem K-EDTA-Röhrchen, je 1 ml und 8 ml Blut in einem Li-Heparinröhrchen und 0,5 ml Blut in einem Serumröhrchen aufgefangen.

Plasma wurde in einer Zentrifuge bei 1000 x g für 10 Minuten und 4 °C abzentrifugiert. Die biochemische Analyse und die Erstellung des Blutbilds erfolgten in der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin.

Die verwendeten Materialien zur Blutuntersuchung sind in Tabelle 51 aufgeführt.

## 3.5 Analysen

### 3.5.1 Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit

Für die Ermittlung der scheinbaren Verdaulichkeit der Rohrnährstoffe sowie der Mengenelemente wurde das Futter mit 0,2 % Titanoxid (TiO<sub>2</sub>) als Marker versetzt. Mithilfe der folgenden Formel wurde daraufhin die scheinbare Verdaulichkeit berechnet:

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

### 3.5.2 Durchführung

Nach einer dreiwöchigen Adaptionsphase wurden in den darauffolgenden 4 bis 5 Tagen Kotproben gesammelt und bei -20 °C bis zur Weiterverarbeitung gelagert. Nach kurzem Auftauen der Probe wurde der Kot gut durchmischt und 100 g für die Gefrierdrying abgewogen. Die Mischproben wurden über mehrere Tage gefriergetrocknet und anschließend auf 0,5 mm gemahlen, um die Rohrnährstoffe (Rohasche, Rohprotein, Rohfett, Rohfaser) ADF und NDF sowie die Mengenelemente (Phosphor, Calcium, Magnesium, Natrium und Kalium) und Spurenelemente (Eisen, Zink, Mangan, Kupfer) zu analysieren.

Alle dafür verwendeten Materialien sind in Tabelle 52 bis Tabelle 60 im Anhang aufgeführt.

### 3.5.3 Bestimmung der Rohnährstoffe

#### 3.5.3.1 Trockensubstanz

Für die Bestimmung der Trockensubstanz (TS) wurde 1 g Kot- oder Futterprobe in einen Porzellantiegel eingewogen und für einen Zeitraum von vier Stunden bei 103 °C in einem Trockenschrank getrocknet. Nachdem der Tiegel im Exsikkator abgekühlt war, erfolgte die Rückwägung der Probe.

#### 3.5.3.2 Rohasche

Zur Bestimmung der Rohasche wurden 1 g der Futterprobe bzw. 0,5 g der Kotprobe in einen Porzellantiegel eingewogen und für sechs Stunden bei 600 °C in einem Muffelofen verascht. Nachdem der Tiegel im Exsikkator abgekühlt war, erfolgte die Rückwägung der Probe.

#### 3.5.3.3 Rohprotein

Die Bestimmung des Rohproteins erfolgte gemäß der Dumas-Methode durch die Ermittlung des Stickstoffgehalts. Hierbei wurden 300 mg der Futter- und Kotproben sowie 250 mg Glutaminsäure als Standard in jeweils einen Tiegel eingewogen und mittels eines Makro-Elementaranalysators analysiert.

#### 3.5.3.4 Rohfett

Die Quantifizierung des Rohfettes erfolgte mittels des Soxhlet-Verfahrens. Hierzu wurden etwa 1 g der Futter- bzw. Kotprobe in einen Filterbeutel eingewogen. Der Filterbeutel wurde hitzeversiegelt und zur Extraktion in eine Soxhlet-Hülse platziert. Ein vorher gewogenes Glas diente zum Auffangen des extrahierten Fetts. Der Extraktionsprozess des Fetts erfolgte unter Verwendung von Petrolether in einem Büchi-Extraktor. Nach der Extraktion wurde das Glas bei 103 °C für 30 Minuten in einem Trockenschrank getrocknet und nach Abkühlung im Exsikkator erneut gewogen. Anhand der Differenz im Gewicht des Glases konnte der Fettgehalt berechnet werden.

#### 3.5.3.5 Rohfaser

Für die Bestimmung der Rohfaser wurden jeweils 0,5 g der entfetteten Futter- bzw. Kotproben in einen zuvor gewogenen Filterbeutel eingewogen und mittels Hitze verschlossen. Die Proben wurden nacheinander in einem Rohfaseranalysator mit 1,25 %iger Schwefelsäure und anschließend mit 1,25 %iger Natronlauge gekocht. Nachfolgend wurden die Proben für fünf Minuten in Aceton getränkt und für eine Stunde bei 104 °C im Trockenschrank getrocknet. Die behandelten Filterbeutel wurden daraufhin erneut gewogen und danach für sechs Stunden bei 600 °C verascht. Nach der Veraschung erfolgte die erneute Gewichtsmessung der Proben, woraus die Rohfasergehalte berechnet wurden.

### 3.5.4 Bestimmung der Neutral- und Säure-Detergenzien-Faser

#### 3.5.4.1 Neutral-Detergenzien-Faser (NDF)

Neutral-Detergenzien-Faser umfasst Zellwandgerüstsubstanzen wie Hemicellulose, Cellulose und Lignin, welche in neutraler Detergenzienlösung unter definierten Bedingungen nicht gelöst werden. Für die Bestimmung des NDF wurden 0,5 g zuvor entfettetes Futter in ein zuvor gewogenes Filterbeutel eingewogen und verschlossen. Die Filterbeutel wurden zusammen mit zwei Blindwerten und mit 4 ml einer hitzestabilen  $\alpha$ -Amylase im Rohfaseranalysator behandelt. Danach wurden die Beutel in Aceton für 5 Minuten eingelegt und anschließend über Nacht bei 104 °C im Trockenschrank getrocknet. Nach dem Abkühlen im Exsikkator konnten die Proben erneut gewogen und im Muffelofen bei 600 °C für sechs Stunden verascht werden.

Die hierfür verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 57 bis Tabelle 60 (Anhang) aufgeführt.

#### 3.5.4.2 Säure-Detergenzien-Faser (ADF)

Die Säure-Detergenzien-Faser umfasst die Zellwandgerüstsubstanzen Cellulose und Lignin, welche in saurer Detergenzienlösung unter definierten Bedingungen nicht gelöst werden.

Zur Bestimmung der ADF wurden 0,5 g zuvor entfetteter Futterprobe in einen zuvor gewogenen Filterbeutel eingewogen und verschlossen. Zusammen mit zwei Blindwerten wurden die Proben im Rohfaseranalysator extrahiert. Hierfür wurde eine ADF-Lösung (20 g Cetyltrimethylammoniumbromid mit 0,5 molarer Schwefelsäure ad 1 l aufgefüllt) zugegeben. Nach der Extraktion wurden die Beutel für fünf Minuten in Aceton eingeweicht und über Nacht bei 104 °C im Trockenschrank getrocknet. Nach dem Abkühlen im Exsikkator wurden die Proben erneut gewogen und im Muffelofen bei 600 °C für 6 Stunden verascht.

Alle hierfür verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 57 bis Tabelle 60 (Anhang) zu finden.

### 3.5.5 Bestimmung der Mengen- und Spurenelemente

#### 3.5.5.1 Probenvorbereitung

Die Rohasche der jeweiligen Probe diente als Ausgangsmaterial für die Analyse der Spuren- und Mengenelemente. Diese Rohasche wurde mit 7 ml Reinstwasser und 2,1 ml mit 37 %iger Salzsäure versetzt und für 60 Minuten im Sandbad bei 220 °C erhitzt. Nach Abkühlung wurden die Proben quantitativ über einen Rundfilter in einen 25 ml Messkolben überführt.

#### 3.5.5.2 Durchführung

Die quantitative Analyse der Spurenelemente Eisen, Zink, Mangan und Kupfer sowie der Mengenelemente Kalium, Natrium, Calcium und Magnesium erfolgte mittels eines

Atomabsorptionsspektrofotometers. Für die Phosphatbestimmung wurde die Aschelösung mit einem Vanadatmolybdat-Reagenz versetzt. Das Reagenz setzte sich aus Salpetersäure sowie den Phosphorkomplexbildnern Ammoniumvanadat und Ammoniummolybdat zusammen, so dass eine Gelbfärbung entstand, deren Intensität proportional zur Phosphorkonzentration war. Die Extinktion wurde photometrisch bei einer Wellenlänge von  $\lambda=436$  nm erfasst und anhand einer Kalibrierreihe berechnet.

Die hierbei verwendeten Materialien sind in Tabelle 52 bis Tabelle 56 (Anhang) hinterlegt.

### 3.5.6 Titandioxidbestimmung

Zur Quantifizierung des Titandioxids in Futter- und Kotproben wurden jeweils 100 mg Kot bzw. 200 mg Futtermittel in ein Glasaufschlussgerät eingewogen. Nach Zugabe von 10 ml einer 95 bis 98 %iger Schwefelsäure, drei Siedesteinen und einem Kjeldahlkatalysator erfolgte der Aufschluss der Probe bei 400 °C für 95 Minuten. Nach dem Abkühlen wurde die Probe quantitativ in einen 25 ml Messkolben mit Reinstwasser überführt und anschließend in ein Röhrchen gefiltert. Zu 2 ml des Filtrats wurden 200  $\mu$ l 30 %iges Wasserstoffperoxid hinzugefügt und die photometrische Messung erfolgte bei einer Wellenlänge von 410 nm anhand einer Standardreihe (50, 100, 200 und 500  $\mu$ g Titandioxid/2,2 ml).

Die genutzten Materialien und Geräte sind in Tabelle 52 (Anhang) aufgeführt.

### 3.5.7 Bestimmung der Aminosäuren

Zur Quantifizierung der Aminosäuren Methionin und Cystin wurden 0,5 g der Futtermittelprobe in eine 100-ml-Gewindeflasche eingewogen. Für die Bestimmung der übrigen Aminosäuren erfolgten die Messungen ebenfalls mit 0,5 g Futtermittel, jedoch in einer 50-ml-Gewindeflasche. Die Bestimmung von Methionin und Cystin erfolgt in zwei aufeinanderfolgenden Schritten. In einem ersten Schritt wurde die Oxidation durch Zugabe einer frisch gemischten Oxidationslösung (0,5 ml 30 %iger  $H_2O_2$ , 4,5 ml Ameisensäure, siehe Tabelle 62) initiiert. Die Oxidation wurde durch Zugabe von 0,9 g Natriumdisulfit gestoppt, nachdem die Proben 24 Stunden in einem Eisbad im Kühlschrank gelagert wurden. Nach der Oxidation erfolgte die Hydrolyse sowohl für die Bestimmung von Methionin und Cystin als auch für die restlichen Aminosäuren. Die Hydrolyse wurde durch Zugabe von 25 ml 6 molarer Salzsäure eingeleitet und für 24 Stunden bei 110 °C in einem Trockenschrank durchgeführt. Im Anschluss an die Abkühlung auf Raumtemperatur wurden die Proben auf Eis gestellt und nacheinander langsam mit 2 ml, 3 ml und dreimal 5 ml Natronlauge (7,5 mol/l) versetzt. Die pH-Werte wurden mit HCl und NaOH auf 2,20 eingestellt. Die Lösungen wurden unter Verwendung einer Lithiumpufferlösung quantitativ in einen 100-ml-Messkolben überführt und nachfolgend in ein Probenröhrchen für den Autosampler gefiltert.

Die hierfür verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 61 bis Tabelle 63 (Anhang) aufgelistet.

### 3.6 Bestimmung der bakteriellen Metabolite in den Kotproben

#### 3.6.1 Kurzkettige Fettsäuren

Die Analyse der kurzkettigen Fettsäuren erfolgte mittels Gaschromatographie. Mit Hilfe eines Flammenionisationsdetektors wurden die kurzkettigen Fettsäuren nach Trennung über eine Kapillarsäule detektiert und über eine HPChem-Software qualitativ und quantitativ erfasst.

Zur Bestimmung der Fettsäuren wurden 300 mg Kotprobe mit 1 ml des Standards (0,5 mmol/l Capronsäure als interner Standard) vermengt. Die Probe wurde für eine Stunde auf dem Rüttler inkubiert und dann bei 14.800 x g für 8 Minuten zentrifugiert. 100 µl des klaren Überstandes wurden entnommen, mit 900 µl 1 % Oxalsäure nochmals verdünnt und anschließend im Gaschromatographen analysiert. Nach jeder zehnten Probe erfolgte eine Kalibrierung mit einer Standardlösung (Tabelle 65 im Anhang).

Die verwendeten Verbrauchsmaterialien und Geräte sind in Tabelle 64 bis Tabelle 67 (Anhang) aufgeführt.

#### 3.6.2 L- und D-Laktat

Die Analyse von D- und L-Laktat erfolgte mittels einer chiralen Säule in einem Hochdruck-Flüssigkeitschromatographen.

0,5 g der Kotprobe wurden in ein Röhrchen eingewogen und mit 1 ml Kupfer-II-sulfat-Lösung (0,5 mmol/l) (siehe Tabelle 69 und Tabelle 70 im Anhang) versetzt. Nach einer 10-minütigen Extraktion auf dem Schüttler erfolgte die Zugabe von 100 µl Carrez I und Carrez II Lösung (Tabelle 71 und Tabelle 72 im Anhang). Die Probe wurde für 10 Minuten bei 16.200 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend durch einen Celluloseacetatfilter (Porengröße 0,45 µm) in ein Röhrchen filtriert.

400 µl des entnommenen Überstandes wurden in einem Röhrchen mit 600 µl Kupfer-II-sulfat-Lösung (0,5 mmol/l) vermischt. Die Analyten wurden isokratisch voneinander getrennt, wobei D-Laktat eine Retentionszeit von 15 bis 15,5 Minuten und L-Laktat eine Retentionszeit von 12 bis 12,5 Minuten aufwies. Die Messungen erfolgten mit einem UV-Detektor bei einer Wellenlänge von  $\lambda=253$  nm und wurden mithilfe der Chromeleon-Software 6.9 und einer Standardreihe ausgewertet.

Die hierfür genutzten Geräte und Materialien sind in Tabelle 68 bis Tabelle 75 aufgelistet.

### 3.6.3 Ammonium

Die Ammoniumanalyse wurde mittels der Berthelot-Reaktion durchgeführt. In einem alkalischen Milieu liegt Ammonium in Form von Ammoniak vor. Ammoniak reagiert mit Hypochlorit zu Monochloramin, das anschließend mit Thymol zu N-Chlor-2-isopropyl-5-methylchinon-monoimin reagiert. Dieses Zwischenprodukt reagiert weiter mit einem Thymolmolekül zu Indophenol, das im alkalischen Milieu in blauer Basenform vorliegt. Die Konzentration des gebildeten Indophenols wird anschließend photometrisch bestimmt.

Für die Ammoniumbestimmung wurden 0,5 g der zu analysierenden Kotprobe eingewogen. Gleichzeitig wurde eine eiskalte 100 mM MOPS-Pufferlösung mit einem pH-Wert von 6,8 (Tabelle 77) vorbereitet. Zu der Kotprobe wurde 1 ml dieser Pufferlösung hinzugefügt, homogenisiert und anschließend für 10 Minuten auf Eis inkubiert. Nach einer Zentrifugation bei 17.000 x g für 10 Minuten bei 4 °C wurde der Überstand in ein neues Röhrchen pipettiert. Der Überstand musste zur Bestimmung im Verhältnis 1:120 verdünnt werden. In einer Mikrotiterplatte wurden zunächst 20 µl der verdünnten Probe vorgelegt und mit 100 µl Reagenz 1 (Phenol-Nitroprussid) sowie 100 µl Reagenz 2 (0,2 % Natriumhypochloritlösung in 1 M NaOH) vermischt. Nach einer 15-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur erfolgte die photometrische Messung bei einer Wellenlänge von  $\lambda=620$  nm. Die Auswertung erfolgte anhand einer Standardreihe unter Verwendung der XFluor4 Software.

Die verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien sind in Tabelle 76 bis Tabelle 79 im Anhang zu finden.

### 3.6.4 Phenole und Indole

Phenole und Indole wurden mittels Gaschromatographie analysiert.

Für die Analyse der Indole und Phenole wurden 2 g Kot in ein Oakridge-Röhrchen eingewogen. Zur eingewogenen Kotprobe wurden 1 ml des internen Standards (125,67 mg/100 ml 5-Methylindol) und 4 ml Methanol hinzugefügt. Die Probe wurde bei 4 °C für eine Stunde inkubiert, wobei alle 15 Minuten die Probe gründlich durchmischt wurde, um eine homogene Durchmischung zu gewährleisten. Anschließend wurde die Probe für 15 Minuten bei 29.000 x g (bei 4 °C) zentrifugiert, um den Überstand in ein Oakridge-Röhrchen zu überführen. Es erfolgte erneut die Zugabe von 5 ml Ethanol in das Röhrchen und die Inkubation für eine Stunde bei 4 °C mit gründlichem Durchmischen alle 15 Minuten. Anschließend wurde die Probe erneut für 20 Minuten bei 29.000 x g (bei 4 °C) zentrifugiert. Der Überstand wurde zum vorherigen Überstand pipettiert. Von diesen Überständen wurden 2 ml in ein Röhrchen überführt und für 10 Minuten bei 14.800 x g zentrifugiert. Schließlich wurden 300 µl der Probe in ein Röhrchen pipettiert und im Gaschromatographen gemessen.

Die hierbei genutzten Materialien und Geräte sind in Tabelle 80 (Anhang) aufgeführt.

### 3.6.5 Biogene Amine

Die Quantifizierung der biogenen Amine erfolgte durch Anwendung der Ionenaustauscherchromatographie in Verbindung mit einer nachfolgenden Ninhydrin-Nachsäulenderivatisierung.

Zur Analyse der biogenen Amine wurden 0,5 g der zu untersuchenden Kotprobe in ein 2-ml-Röhrchen eingewogen und mit 0,8 ml Extraktionslösung (wässrige Trichloressigsäure, 10 % w/v) für 30 Minuten auf dem Durchmischer inkubiert. Nach einer zwanzigminütigen Zentrifugation bei 13.000 x g wurde der Überstand im Verhältnis 1:2 mit der Extraktionslösung verdünnt und durch einen Cellulose-Acetatfilter (Porengröße 0,2 µm) filtriert. Anschließend wurde jede Probe im Aminosäurenanalysator vermessen.

Die verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien sind in Tabelle 81 sowie in Tabelle 82 (Anhang) aufgeführt.

## 3.7 Mikrobiologische Methoden

### 3.7.1 Extraktion bakterieller DNA aus Kot

Für die Extraktion der DNA aus Hundekot wurde der QIAamp PowerFecal DNA Kit-entsprechend der Herstellerangaben verwendet. Zunächst wurden 250 mg Kot in ein Bead-Beating Röhrchen mit feinen Glasperlen eingewogen und anschließend mit 800 µl CD1 (Lysispufferlösung) homogenisiert. Die Probe wurde dann für 10 Minuten bei 65 °C inkubiert. Im Fastprep-Gerät wurden die Proben 20mal für jeweils 30 Sekunden mit einer Geschwindigkeit von 6 m/s mechanisch aufgeschlossen. Nach einer Zentrifugation bei 15.000 x g für 1 Minute wurde der Überstand (500 bis 600 µl) in ein 2-ml-Röhrchen pipettiert, in dem zuvor 200 µl CD2- Puffer, der Inhibitoren wie Polysaccharide, Zelldebris und Proteine präzipitiert, vorgelegt wurden. Die Probe wurde für 5 Sekunden intensiv gemischt und erneut bei 15.000 x g für 1 Minute abzentrifugiert. 500 bis 600 µl des Lysats wurden in ein 2-ml-Gefäß zu 600 µl CD3-Lösung (Puffer mit hoher Salzkonzentration, der die Bindung der DNA an Silica-Membran erlaubt) pipettiert und kurz homogenisiert. Portionsweise wurde die im Kit enthaltende Silica-Membranfiltersäule mit je 650 µl dieser Lösung beladen. Nach einer Zentrifugation bei 15.000 x g für 1 Minute wurde der Durchfluss verworfen. Anschließend folgten zwei Waschschrte: 500 µl der EA-Lösung und dann 500 µl der C5-Lösung wurden auf die Säule gegeben. Zwischen den Zugaben wurde die Probe bei 15.000 x g für 1 Minute zentrifugiert und der jeweilige Durchfluss verworfen. Zum Trocknen der Membran wurde die Probe bei 16.000 x g für 2 Minuten zentrifugiert. Für die Elution der DNA wurde die Säule in ein 1,5-ml-Gefäß gesetzt, 100 µl der C6-Probe mittig auf die Säule pipettiert und für 1 Minute bei Raumtemperatur inkubiert. Nach einer letzten Zentrifugation bei 15.000 x g für 1 Minute wurde das Eluat bis zur weiteren Verarbeitung bei -30 °C aufbewahrt.

Die hierfür verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 83 (Anhang) aufgelistet.

### 3.7.2 Illumina®-Sequenzierung

Die DNA-Proben wurden durch die Firma LGC Genomics GmbH (Berlin, Deutschland) sequenziert. Die Sequenzierung erfolgte mittels der Illumina®-Technologie (Next-Generation-Sequencing), die eine De-novo-Synthese ermöglichte und 2 x 300 Basenpaare lange „Reads“ generierte (LGC Inc., 2015). Für die Analyse wurde ein MiSeq-Gerät der Firma Illumina, Inc. (San Diego, Kalifornien, USA) verwendet, das die „Sequencing by Synthesis“-Technologie nutzt (Schmitt 2014).

Die resultierenden Daten wurden als FASTA-Dateien übertragen und in die Datenbank „MG RAST“ (<http://metagenomics.anl.gov/>) hochgeladen (Meyer et al. 2008). Mithilfe der 16S-rRNA-Gensequenzen erstellte die Datenbank probenspezifische Metagenome. Zur Darstellung der Metagenome auf Genusebene wurden nur Genera berücksichtigt, deren Sequenzen innerhalb einer analysierten Probe mindestens 5-mal detektiert wurden.

### 3.7.3 Erstellung eines Dendrogramms

Zur Visualisierung der Verteilung der intestinalen Mikrobiota wurde ein Dendrogramm mit folgender Homepage erstellt: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HEATMAP/heat-map.html>

## 3.8 Untersuchungen von Harn

### 3.8.1 Vorbereitung

Die Urinproben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut und für 5 Minuten in einem Ultraschallbad durchmischt. Für die Bestimmung der Osmolalität und Phenole wurden je 2 ml bzw. 5 ml verwendet. Mittels einer pH-Messelektrode wurde der pH-Wert ermittelt und notiert. Anschließend wurde eine definierte Menge Harn mit 6 molarer HCl-Lösung auf den pH-Wert 2 titriert. Davon wurden 2 ml für die Stickstoffbestimmung separiert. Für die Bestimmung der Anionen, Kationen, Harnsäure und des Kreatinins wurden 10 ml der titrierten Probe mit einem SFCA 0,2 µm Filter filtriert.

Die verwendeten Verbrauchsmaterialien sowie Geräte sind in Tabelle 84 (Anhang) aufgeführt.

### 3.8.2 Stickstoff

Der Gehalt an Stickstoff in der Urinprobe wurde mittels der Dumas-Methode quantifiziert. Etwa 300 mg der Urinprobe wurden in einen Tiegel eingewogen, wobei Glutaminsäure mit einer Einwaage von 250 mg als Kalibrierstandard diente. Die Analyse erfolgte mithilfe eines Vario-Max Stickstoffanalysators von Elementar Analysensysteme.

Die genutzten Materialien und Geräte sind in Tabelle 85 (Anhang) zu finden.

### 3.8.3 Phenole und Indole

Indole und Phenole wurden mittels Gaschromatographie analysiert.

Für die Analyse wurden jeweils 5 ml Urin verwendet. Die einzelnen Proben wurden durch Zugabe von Ameisensäure auf einen pH-Wert von 5 eingestellt. Anschließend wurden 80 µl einer Enzymmischung mit β-Glucuronidase und Arylsulfatase zu gegeben und bei 37 °C im Wasserbad inkubiert. Nach dem Wasserbad wurden 100 µl der internen Standardlösung (5-Methylindol) hinzugefügt. Die Probe wurde einen Tag lang lyophilisiert und dann in 500 ml Methanol aufgenommen. Nach einer Zentrifugation von 10 Minuten bei 2.000 x g wurde der Überstand in ein Probengefäß überführt, aus dem 1 µl in den Injektor injiziert wurde.

Die hierbei verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 86 (Anhang) aufgelistet.

### 3.8.4 Harnsäure und Kreatinin

Harnsäure und Kreatinin wurden mittels eines Hochdruckflüssigkeitschromatographischen Trennverfahrens analysiert.

Für die Harnsäurebestimmung wurden 500 µl Harn mit 500 µl Pufferlösung ( $\text{LiCO}_3/\text{H}_3\text{BO}_3$ ) in ein Röhrchen pipettiert. Zur Kreatininbestimmung wurden 10 µl Urin mit 990 µl Reinstwasser in einem Röhrchen verdünnt (1:100).

In Tabelle 87 bis Tabelle 94 (Anhang) sind die verwendeten Materialien und Geräte aufgelistet.

### 3.8.5 Bestimmung der Anionen

Zur Anionenbestimmung wurden die Urinproben in den Kalibrierbereich mit Reinstwasser verdünnt und dann mittels eines Hochdruckflüssigkeitschromatographen unter Verwendung einer Gradientenelution und Leitfähigkeitsdetektion analysiert.

In einem HPLC-Glasfläschchen wurden zur Bestimmung von Sulfat, Phosphat und Chlorid 10 µl Urinprobe mit 990 µl Reinstwasser verdünnt und im Hochdruckflüssigkeitschromatographen gemessen. Zur Bestimmung der Oxalate und Citrate wurden in einem HPLC-Glasflächchen 10 µl Urinprobe mit 900 µl Reinstwasser verdünnt und im Hochdruckflüssigkeitschromatographen gemessen.

Die verwendeten Materialien und Methoden sind in Tabelle 95 bis Tabelle 98 (Anhang) zu finden.

### 3.8.6 Bestimmung der Kationen

Die verdünnten Urinproben wurden mittels eines Hochdruckflüssigkeitschromatographen unter Verwendung isokratischer Bedingungen und Leitfähigkeitsdetektion analysiert.

In einem Messkolben wurden zur Bestimmung von Natrium, Kalium und Ammonium 100 µl Urin mit 500 µl interner Standardprobe Lithium Chlorid mit Reinstwasser auf 50 ml aufgefüllt. Um Natriumverunreinigungen durch Glasröhrchen zu vermeiden, wurde 1 ml der verdünnten Probe stattdessen in ein HPLC-Röhrchen aus Kunststoff überführt und über den Hochdruckflüssigkeitschromatographen gemessen.

Für die Bestimmung von Magnesium und Calcium wurden 100 µl Urinprobe mit 10 µl Lithium Chlorid als Standardprobe und 890 µl Reinstwasser in einem HPLC-Glasfläschchen verdünnt.

In Tabelle 99 bis Tabelle 110 (Anhang) sind die genutzten Materialien und Geräte zu finden.

### 3.8.7 Bestimmung der Osmolalität

Durch die Gefrierpunktbestimmung wurde die Osmolalität der Harnproben bestimmt.

In ein 2-ml-Röhrchen wurden 100 µl der zu analysierende Probe pipettiert, um anschließend die Osmolarität mithilfe des Osmometers bestimmen zu können.

Die hierfür verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 111 (Anhang) aufgeführt.

## 3.9 Bestimmung der Blutparameter

### 3.9.1 Hämatologische Untersuchung

Die Blutparameter Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration sowie mittleres Erythrozytenvolumen (Mean Corpuscular Volume, MCV), mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt (Mean Corpuscular Haemoglobin, MCH) und mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration, MCHC) und die Erythrozyten-, Thrombozyten- und Leukozytenzahl wurden aus EDTA-Blut mittels Fluoreszenz-Durchflusszytometrie analysiert. Referenzwerte für die hämatologische Untersuchung sind in Tabelle 116 zu finden. Die hierfür verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 112 aufgelistet.

### 3.9.2 Differentialblutbild

Die Leukozyten wurden differenziert in neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten sowie Lymphozyten und Monozyten. Dazu wurde entweder ein maschinelles Differentialblutbild oder ein Differentialblutbild per Hand angefertigt, indem ein Tropfen EDTA-Blut auf einen Objektträger ausgestrichen, luftgetrocknet und anschließend nach Pappenheim gefärbt wurde. Die anschließende Zählung und Differenzierung erfolgten unter einem Mikroskop. Die hierfür verwendeten Materialien und Geräte sind in Tabelle 113 (Anhang) aufgeführt. Referenzwerte für das Differentialblutbild sind nach Herstellerangaben Tabelle 117 (Anhang) zu entnehmen.

### 3.9.3 Klinisch-chemische Parameter im Blut

Die Parameter Alanin-Aminotransferase (ALT), Alkalische Phosphatase (AP), Aspartat-Aminotransferase (AST), Harnstoff, Kreatinin, Protein, Albumin, Calcium, Phosphor, Natrium, Kalium und Magnesium wurden aus dem Li-Heparin Plasma photometrisch bestimmt. Referenzwerte des Herstellers für die klinisch-chemischen Parameter sind in Tabelle 118 (Anhang) dargestellt. In Tabelle 114 (Anhang) sind die verwendeten Geräte aufgelistet.

### 3.9.4 Bestimmung der Aminosäuren im Blut

Für die Aminosäurebestimmung wurden sowohl Serum als auch Plasma verwendet. Dazu wurden 0,2 bis 0,4 ml der Probe mit 0,1 ml 10 %igen Sulfosalicylsäure versetzt, das Gemisch gründlich geschüttelt und für 30 Minuten im Kühlschrank zur vollständigen Ausfällung der Proteine gelagert. Nachfolgend erfolgte eine Zentrifugation bei 10000 g/min für 5 Minuten. Der Überstand wurde durch einen 0,2 µm PPPT FE-Zentrifugenfilter filtriert. Die enteweißte Probe wurde im Verhältnis 1:1 mit einer Lithium-Pufferlösung verdünnt und durch Ionenaustauschchromatographie gemessen.

In Tabelle 115 (Anhang) sind die hierfür verwendeten Geräte und Materialien aufgeführt.

### 3.10 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Mittelwerte und Standardabweichungen bzw. -fehler wurden bestimmt und die Daten auf Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test geprüft. Zur Untersuchung der Einflüsse der Faktoren „Proteinart“, „Proteinkonzentration“ und „Kohlenhydratquelle“ sowie deren Wechselwirkungen „Proteinart x Proteinkonzentration x Kohlenhydratquelle“ wurde eine multifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde  $p \leq 0,05$  festgelegt. Um Unterschiede zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen nachzuweisen, wurde anschließend als Post-hoc-Signifikanztest der Tukey-Test, verwendet.

Zur Erstellung der Korrelation zwischen Mineralstoffaufnahme über das Futter und der scheinbaren Verdaulichkeit (%) und der jeweiligen Konzentration im Harn wurde eine Regressionsanalyse mit Kurvenanpassung durchgeführt.

## 4 Ergebnisse

In diesem Abschnitt wird zunächst auf die Ergebnisse der analysierten Zusammensetzung der acht Futtermischungen eingegangen. Im Anschluss wird das Ergebnis des Gesundheitszustandes der Hunde während des Versuchszeitraumes vorgestellt sowie die Ergebnisse der Kot-, Harn-, und Blutanalyse. Die Kotproben wurden auf die scheinbare Verdaulichkeit, ihre mikrobiellen Metabolite sowie die intestinale mikrobielle Besiedlung hin untersucht. Harn und Blut wurden auf den Marker des Proteinmetabolismus untersucht.

### 4.1 Versuchsdieten

Die acht Futterdiäten wurden auf ihren Rohasche, Rohfett, Rohprotein und Rohfasergehalt sowie den Gehalt an Mineralstoffen und unverdaulichen Zellwandgerüstsubstanzen (ADF bzw. NDF) untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 dargestellt. Die Ergebnisse der Aminosäureanalyse sind in Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 18: Zusammensetzung der acht Versuchsdieten

	Diät							
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5
	g/kg US <sup>1</sup>							
TS <sup>2</sup>	897	906	897	910	912	915	921	926
	g/kg TS							
Rohasche	74,9	76,6	79,8	71,5	64,0	74,3	58,2	63,8
Rohprotein	248	348	237	340	251	351	252	362
Rohfett	75,6	66,4	64,2	87,3	57,7	58,1	50,4	71,8
Rohfaser	27,1	29,7	21,2	31,4	30,7	26,9	37,7	32,6
ADF <sup>3</sup>	27,9	38,0	26,8	44,4	34,4	35,8	39,9	40,0
NDF <sup>4</sup>	162	201	149	243	357	299	339	320
Calcium	10,6	10,7	12,0	10,4	9,84	11,0	10,5	13,3
Phosphor	10,8	10,3	10,4	8,91	10,1	10,8	8,83	8,40
Magnesium	2,52	2,60	2,65	2,22	1,67	2,12	1,06	1,19
Kalium	12,4	11,2	12,6	11,9	7,10	13,8	4,40	4,43
Natrium	3,15	2,95	3,24	3,56	2,67	3,37	2,63	3,40
	mg/kg TS							
Eisen	218	188	241	172	200	206	218	194
Kupfer	30,6	34,2	35,5	23,5	28,6	36,1	17,6	19,7
Zink	117	115	120	98,1	113	125	65,0	78,6

<sup>1</sup>US=Ursprungssubstanz <sup>2</sup>TS=Trockensubstanz <sup>3</sup>ADF=Acid Detergent Fiber <sup>4</sup>NDF=Neutral Detergent Fiber

Tabelle 19: Aminosäurekonzentrationen in den Versuchsdiäten

	Diät							
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5
	g/kg TS							
Alanin	10,5	13,5	10,7	18,5	9,4	13,9	12,9	21,3
Arginin	22,9	30,6	16,9	24,4	18,2	30,2	15,1	23,9
Asparaginsäure	9,9	13,5	6,62	10,0	8,05	13,7	6,51	10,3
Cystin	4,01	5,19	3,86	6,62	3,97	4,85	5,74	8,27
Gesamtaminosäuren	218	292	186	298	225	312	242	352
Glutaminsäure	39,3	54,9	30,7	44,6	55,3	70,2	53,5	63,5
Glycin	13,4	14,9	8,83	25,4	9,71	14,0	18,0	28,1
Histidin	6,91	8,83	4,96	6,40	5,96	8,72	4,74	6,29
Isoleucin	9,70	14,0	8,83	13,8	9,82	15,1	10,4	15,7
Leucin	16,9	23,3	14,3	23,2	17,4	13,7	18,2	27,2
Lysin	14,9	20,4	11,4	16,5	12,2	20,5	9,82	15,7
Methionin	8,69	9,60	8,72	10,48	7,39	8,61	5,96	10,59
Ornithin	0,11	0,11	0,11	0,33	0,11	0,11	0,22	0,44
Phenylalanin	10,5	14,3	8,94	13,8	11,1	15,7	11,5	16,5
Prolin	9,5	14,2	11,7	22,7	16,9	20,1	23,9	33,8
Serin	11,5	15,1	10,5	18,6	11,5	16,8	14,1	22,7
Taurin	2,45	1,43	2,10	1,77	1,77	1,54	1,99	1,65
Threonin	8,47	11,8	8,83	13,2	8,05	12,0	9,05	14,9
Tyrosin	7,02	10,4	6,40	8,94	6,95	14,9	6,51	9,71

#### 4.2 Gesundheitszustand und Körpermasse der Hunde

Der Gesundheitszustand der Hunde war während der Versuchsdauer unauffällig, ausgenommen gelegentlicher Vomitus, auf den mit der Umstellung der Fütterungszeiten entgegengewirkt wurde.

#### 4.3 Kotkonsistenz

Die Versuchstiere zeigten bei Fütterung der acht Versuchsdiäten einen geformten, trockenen, aber nicht harten Kot (Score 4). Es konnten keine signifikanten Unterschiede der Kotkonsistenz zwischen den Fütterungsphasen festgestellt werden (Tabelle 20).

Tabelle 20: Kotscore<sup>1</sup> nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen

	Diät							
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5
Mittelwert	3,96	4,02	4,15	4,05	4,07	4,00	4,11	4,03
Median	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Minimum	2,00	2,00	4,00	2,00	4,00	4,00	4,00	2,00
Maximum	4,00	5,00	5,00	5,00	5,00	4,00	5,00	5,00
SEM	0,04	0,06	0,06	0,07	0,04	0,00	0,05	0,07

<sup>1</sup>Kotscore 1 bis 5: flüssige Fäzes (Diarrhöe) – geformte, harte Fäzes

#### 4.4 Untersuchung der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit der Versuchsdiäten

##### 4.4.1 Untersuchungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Rohnährstoffe

In Tabelle 21 sind die Werte für die scheinbare Verdaulichkeit dargestellt sowie in Tabelle 22 die Wechselwirkungen zwischen den in den Diäten enthaltenen Faktoren Proteinart, Proteinkonzentration sowie Kohlenhydrate.

Bei Betrachtung der Ergebnisse zeigten sich signifikante Unterschiede der scheinbaren Verdaulichkeit von Rohasche ( $p < 0,001$ ), Rohfett ( $p < 0,001$ ) sowie Rohprotein ( $p < 0,001$ ) bei Verwendung der unterschiedlichen Kohlenhydratquellen in den Diäten. Die scheinbare Verdaulichkeit der genannten Rohnährstoffe war nach Gabe der Diäten mit Quinoa höher als bei Verwendung von Weizen. Eine Ausnahme stellte die scheinbare Verdaulichkeit von Rohfett dar, hier führte die Fütterung von Weizen zu deutlich höheren Werten.

Die unterschiedlichen Proteinquellen in den Diätvariationen wirkten sich ebenfalls auf die scheinbare Verdaulichkeit der Futterinhaltsstoffe aus. Diäten auf Basis pflanzlicher Proteinquellen führten zu einer höheren Verdaulichkeit von Rohasche ( $p = 0,010$ ), Rohfett ( $p < 0,001$ ) sowie Rohprotein ( $p < 0,001$ ).

Proteinbezogene Dosiseffekte zeigten sich bei Rohfett ( $p < 0,001$ ) und Rohprotein ( $p < 0,001$ ), hier führte eine höhere Proteinkonzentration in den Diäten zu einer höheren scheinbaren Verdaulichkeit der Rohnährstoffe.

Eine Wechselwirkung ergab sich bezüglich der Faktoren Kohlenhydrate und Proteinart in den Diäten für die Verdaulichkeit der Rohasche ( $p < 0,001$ ). Diäten mit Weizen in Kombination mit Geflügelprotein zeigten die niedrigste Verdaulichkeit für Rohasche auf, im Gegensatz zu den Diäten QG1.5 und QG1 mit der höchsten Verdaulichkeit.

Für die Verdaulichkeit von Rohfett ergaben sich komplexe Wechselwirkungen zwischen den in den Diäten enthaltenen Kohlenhydraten und der Proteinart ( $p = 0,012$ ), den Kohlenhydraten

und der Proteinkonzentration ( $p=0,007$ ), der Proteinart und Proteinkonzentration ( $p<0,001$ ) und zwischen allen drei Faktoren untereinander ( $p=0,024$ ). Die weizenhaltige Diät mit 1,5-fachem Gehalt an Erbsen- und Bohnenprotein erhöhten im Vergleich zu Diätvariationen mit Quinoa und einfachem Proteingehalt an Geflügelmehl die scheinbare Verdaulichkeit von Rohfett. Eine Ausnahme stellte die Diät WG1.5 mit einer vergleichbar hohen Verdaulichkeit dar.

Weiterhin ergaben sich für die Verdaulichkeit der Rohfaser Interaktionen zwischen den Faktoren Kohlenhydrate und Proteinkonzentration ( $p<0,001$ ), Proteinart und Proteinkonzentration ( $p=0,022$ ) sowie Interaktionen zwischen allen drei Faktoren Kohlenhydrate, Proteinart und Proteinkonzentration ( $p=0,003$ ). Die Fütterung mit der Diät QG1 führte zur geringsten scheinbaren Verdaulichkeit, während die Diätvariante QG1.5 mit Abstand die höchste Verdaulichkeit aufwies.

#### 4.4.2 Untersuchungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Mineralstoffe

Die Analyse des Futters ergab unterschiedliche Konzentrationen an Spuren- und Mengenelementen in den acht unterschiedlichen Diätvariationen, sodass die Bewertung der scheinbaren Verdaulichkeiten zunächst unter Berücksichtigung der Hauptfaktoren erfolgte. Es waren jedoch hier eindeutige Effekte der Konzentrationen im Futter vorhanden.

Der Einfluss der Kohlenhydratquelle zeichnete sich im Hinblick auf die Verdaulichkeit von Phosphor ( $p=0,009$ ), Magnesium ( $p<0,001$ ), Kalium ( $p<0,001$ ), Natrium ( $p=0,002$ ), Zink ( $p<0,001$ ) und Kupfer ( $p<0,001$ ) ab. Bei Verwendung der unterschiedlichen Kohlenhydratquellen ergab sich auch ein Effekt bei Eisen ( $p=0,021$ ). Die Verwendung von Quinoa in den Versuchsdiäten erhöhte im Vergleich zu den weizenhaltigen Diäten die scheinbare Verdaulichkeit der Mengen- und Spurenelemente.

Bei der scheinbaren Verdaulichkeit von Phosphor ( $p=0,003$ ), Magnesium ( $p<0,001$ ), Kalium ( $p<0,001$ ), Zink ( $p<0,001$ ) und Kupfer ( $p<0,001$ ) zeigten sich höhere Werte für Diäten mit pflanzlichen Proteinquellen. Die Fütterung von tierischen Proteinen erwirkte im Vergleich zu Pflanzenproteinen lediglich eine Erhöhung der scheinbaren Verdaulichkeit von Natrium ( $p=0,010$ ).

Ein Dosiseffekt zeigte sich bei der scheinbaren Verdaulichkeit von Eisen, hier führte ein normaler Proteingehalt in der Fütterung zu einer deutlichen ( $p<0,001$ ) Erhöhung der Werte.

Bei detaillierter Betrachtung der Ergebnisse ergaben sich Interaktionen zwischen den in den Diäten enthaltenen Faktoren Kohlenhydrate und Proteinkonzentration für die Verdaulichkeit von Magnesium ( $p<0,001$ ), Kalium ( $p=0,009$ ) und Natrium ( $p=0,004$ ). Die weizenhaltige Diätvariation mit tierischen Proteinen wies die niedrigste Verdaulichkeit für Magnesium auf, während die Fütterung mit Quinoa und Pflanzenproteinen zu einer höheren Verdaulichkeit führte.

Eine Ausnahme stellt die Diät QG1 mit einer ebenfalls hohen Verdaulichkeit dar. Die niedrigste Verdaulichkeit für Natrium wurde mit weizenhaltigen Diäten in Kombination mit Erbsen und Bohnen erreicht. Mit Ausnahme der Diät QEB1, führten Diäten mit Quinoa und Geflügelmehl zur höchsten scheinbaren Verdaulichkeit für Natrium.

Für die Verdaulichkeit von Kalium ergaben sich weitere Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Kohlenhydrate und Proteinart ( $p < 0,001$ ) sowie zwischen allen drei Faktoren Kohlenhydrate, Proteinart und Proteinkonzentration ( $p < 0,001$ ). Diätvariationen mit Quinoa auf Basis pflanzlicher Proteine erhöhten im Gegensatz zu der Diät WG1.5 die scheinbare Verdaulichkeit von Kalium.

Ebenfalls zeigten sich für die scheinbare Verdaulichkeit von Phosphor Interaktionen zwischen Proteinart und Kohlenhydratquelle ( $p = 0,014$ ). Gruppenunterschiede ergaben sich insbesondere zwischen der Diät WG1.5 mit 24,7 % mit der geringsten Verdaulichkeit und Diät QEB1 mit dem Wert 45,6 %.

Weitere Interaktionen ergaben sich zwischen der Art der Kohlenhydratquelle und Proteindosierung im Hinblick auf die Verdaulichkeit von Zink ( $p < 0,001$ ), Eisen ( $p = 0,006$ ) und Kupfer ( $p = 0,006$ ). Die höchste Kupferverdaulichkeit war nach Gabe der Diät QEB1 festzustellen, die niedrigste nach Gabe der Diät WG1.5.

Für die scheinbare Verdaulichkeit von Zink ergab sich eine weitere Wechselwirkung zwischen Kohlenhydratquelle und Proteinart ( $p = 0,002$ ), wobei die Gabe der Diät WG1 bzw. WG1.5 zur geringsten Verdaulichkeit von Zink führte, während im Vergleich die Diäten QG1 und QEB1 die höchsten Werte aufwiesen.

Eine weitere Interaktion bezüglich der scheinbaren Verdaulichkeit von Eisen zeigte zwischen den in den Diäten enthaltenen Faktoren Proteinart und Proteindosierung ( $p = 0,002$ ). Es zeigten sich Gruppenunterschiede insbesondere zwischen der Diät QG1.5 mit der niedrigsten Verdaulichkeit und Diätvariationen mit Quinoa und Geflügelmehl mit den höchsten scheinbaren Verdaulichkeiten für Eisen.

Tabelle 21: Scheinbare Verdaulichkeit (%) der Rohnährstoffe und Mengenelemente nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

	Diät								SEM	p-Werte		
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5		Koh	Prot	Dos
Rohasche	44,5 <sup>a</sup>	45,3 <sup>a</sup>	47,4 <sup>a</sup>	45,8 <sup>a</sup>	39,9 <sup>ab</sup>	44,2 <sup>a</sup>	31,0 <sup>b</sup>	32,3 <sup>b</sup>	1,06	<0,001	0,010	0,556
Rohfett	75,5 <sup>d</sup>	77,6 <sup>cd</sup>	62,6 <sup>e</sup>	77,3 <sup>cd</sup>	86,6 <sup>ab</sup>	87,9 <sup>a</sup>	82,3 <sup>bc</sup>	87,6 <sup>ab</sup>	0,97	<0,001	<0,001	<0,001
Rohprotein	84,5	87,4	79,4	80,6	81,7	86,7	76,2	79,2	0,50	<0,001	<0,001	<0,001
Rohfaser	-11,8 <sup>bc</sup>	-6,8 <sup>ab</sup>	-36,9 <sup>c</sup>	14,9 <sup>a</sup>	-16,2 <sup>bc</sup>	-24,7 <sup>bc</sup>	1,0 <sup>ab</sup>	-15,4 <sup>bc</sup>	2,59	0,430	0,163	0,059
Calcium	20,9	16,3	22,5	11,2	15,0	19,1	14,1	12,9	1,44	0,326	0,292	0,205
Phosphor	45,6 <sup>a</sup>	36,4 <sup>abc</sup>	40,6 <sup>ab</sup>	38,4 <sup>abc</sup>	41,4 <sup>ab</sup>	39,8 <sup>abc</sup>	29,9 <sup>bc</sup>	24,7 <sup>c</sup>	1,39	0,009	0,003	0,054
Magnesium	51,7 <sup>a</sup>	39,8 <sup>a</sup>	41,2 <sup>a</sup>	13,7 <sup>ab</sup>	-20,4 <sup>bc</sup>	17,7 <sup>ab</sup>	-66,9 <sup>c</sup>	-28,2 <sup>bc</sup>	5,98	<0,001	<0,001	0,259
Kalium	95,2 <sup>a</sup>	91,5 <sup>a</sup>	93,4 <sup>a</sup>	92,7 <sup>a</sup>	85,2 <sup>b</sup>	92,8 <sup>a</sup>	78,5 <sup>c</sup>	77,3 <sup>c</sup>	0,88	<0,001	<0,001	0,763
Natrium	81,4 <sup>a</sup>	72,2 <sup>ab</sup>	80,5 <sup>a</sup>	79,8 <sup>a</sup>	67,1 <sup>b</sup>	73,2 <sup>ab</sup>	73,6 <sup>ab</sup>	76,6 <sup>ab</sup>	0,97	0,002	0,010	0,961
Zink	29,9 <sup>a</sup>	22,1 <sup>a</sup>	29,4 <sup>a</sup>	-0,8 <sup>ab</sup>	5,0 <sup>a</sup>	18,0 <sup>a</sup>	-44,7 <sup>c</sup>	-37,8 <sup>bc</sup>	4,44	<0,001	<0,001	0,880
Eisen	21,9 <sup>ab</sup>	6,30 <sup>abcd</sup>	27,5 <sup>a</sup>	-8,13 <sup>d</sup>	-3,21 <sup>cd</sup>	4,77 <sup>bcd</sup>	15,5 <sup>abc</sup>	-3,57 <sup>cd</sup>	2,15	0,021	0,892	<0,001
Kupfer	55,5 <sup>a</sup>	50,1 <sup>a</sup>	53,9 <sup>a</sup>	22,2 <sup>abc</sup>	25,3 <sup>abc</sup>	45,5 <sup>ab</sup>	7,78 <sup>bc</sup>	0,82 <sup>c</sup>	3,82	<0,001	<0,001	0,599

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test, p<0,05

Tabelle 22: Scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe und Mengenelemente nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Rohasche	<0,001	0,423	0,368	0,840
Rohfett	0,012	0,007	<0,001	0,024
Rohprotein	0,548	0,139	0,079	0,794
Rohfaser	0,074	<0,001	0,022	0,003
Phosphat	0,014	0,753	0,847	0,228
Calcium	0,644	0,147	0,242	0,984
Magnesium	0,132	<0,001	0,721	0,597
Kalium	<0,001	0,009	0,067	0,001
Natrium	0,507	0,004	0,335	0,132
Zink	0,002	<0,001	0,520	0,149
Eisen	0,174	0,006	0,002	0,649
Kupfer	0,355	0,006	0,067	0,613

#### 4.4.3 Korrelation zwischen der Futtermittelaufnahme und der scheinbaren Verdaulichkeit der Mineralstoffe

Die Analyse der acht Diäten ergab unterschiedliche Konzentrationen an Mineralstoffen.

Für die Vergleichbarkeit der scheinbaren Verdaulichkeit der Mineralien innerhalb der acht Diäten wurde die Futtermittelaufnahme pro kg Körpermasse mit der scheinbaren Verdaulichkeit verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 dargestellt.

Für die scheinbaren Verdaulichkeiten von Magnesium ( $p < 0,001$ ), Kalium ( $p < 0,001$ ) und Natrium ( $p = 0,003$ ) zeigten sich signifikante Einflüsse der Aufnahme der Mineralien über die Diäten.

Tabelle 23: Regressionsgleichung zwischen scheinbare Verdaulichkeit und der Mineralstoffaufnahme über das Futter (mg/kg Körpermasse)

	Abhängige Variable: scheinbare Verdaulichkeit		
	p-Werte	Parameterschätzung	
		Konstante	b1
Calcium	0,322	24,6	-0,03
Phosphor	0,753	34,4	0,01
Magnesium	<,001	-84,1	1,87
Kalium	<,001	74,1	0,06
Natrium	0,003	59,9	0,21

#### 4.5 Untersuchungen der fäkalen Konzentrationen mikrobieller Metabolite und Kotbeschaffenheit

##### 4.5.1 Ammonium, D/L-Laktat sowie Phenol, Indol und 3-Methylindol

Bei detaillierter Betrachtung der in Tabelle 24 dargestellten Ergebnisse war festzustellen, dass die Fütterung der zwei unterschiedlichen Kohlenhydratquellen die mikrobiellen Metabolite D-Laktat ( $p < 0,001$ ), L-Laktat ( $p < 0,001$ ), Phenol ( $p < 0,001$ ) sowie Indol ( $p < 0,001$ ) beeinflusste. Weizenhaltige Diäten erhöhten die D-Laktat und L-Laktat Konzentrationen, mit Ausnahme der weizenhaltigen Diätvariationen in Kombination mit Geflügelmehl. Diätvariationen mit Quinoa führten zu einer deutlichen Konzentrationserhöhung für Phenol und Indol im Kot. Eine Ausnahme stellte für beide Parameter die Diät WG1.5 mit einer ebenfalls hohen Konzentration der genannten Parameter dar.

Der Einfluss der unterschiedlichen Proteinquellen in den Diätphasen zeichnete sich auf die Konzentration der D-Laktat ( $p < 0,001$ ), L-Laktat ( $p < 0,001$ ), Phenol ( $p < 0,001$ ), Indol ( $p < 0,001$ ) und Ammonium ( $p < 0,001$ ) ab, bei den Parametern Indol und Ammonium bestand auch ein deutlicher Proteineinfluss ( $p < 0,001$ ).

Diätvariationen auf Basis pflanzlicher Proteine führten zu einer Erhöhung der D- und L-Laktat Konzentration im Gegensatz zur Verwendung von tierischen Proteinen, welche hier die Konzentration senkten. Für die Parameter Phenol und Indol erhöhte die Fütterung mit Geflügelmehl im Vergleich zu den Diäten mit tierischen Proteinquellen die Werte.

Ein erhöhter Proteingehalt erhöhte die Ammonium- und Indolkonzentration in den Fäzes. Eine Ausnahme stellten die Diäten WEB1.5 und QEB1.5 dar, die zu niedrigeren Ammoniumkonzentrationen führten.

Wechselwirkungen ergaben sich zwischen den in den Diäten enthaltenen Kohlenhydraten und der Proteinart für D-Laktat ( $p=0,009$ ), L-Laktat ( $p=0,007$ ), Ammonium ( $p=0,002$ ) sowie Phenol ( $p=0,040$ ). Die Parameter D-Laktat und L-Laktat zeigten mit den Diätvariationen Weizen und Pflanzenproteine im Gegensatz zur Verwendung von Quinoa in Kombination mit Geflügelmehl die höchsten Werte. Die Fütterung von Weizen in Kombination mit Erbsen führte zu einer niedrigeren Konzentration an Ammonium im Gegensatz zur Verwendung von Quinoa in Kombination mit Geflügelmehl, die zu einem höheren Vorkommen des Metabolits führte. Eine Ausnahme stellte hier die Diät WG 1.5 dar mit der höchsten Konzentration. Ammonium wurde zusätzlich durch eine weitere Wechselwirkung zwischen den Faktoren Proteinart und Proteinkonzentration ( $p<0,001$ ) beeinflusst, die Kombination von Weizen mit dem 1,5-fachen Gehalt an Geflügelprotein ging mit der höchsten Konzentration einher.

Die Interaktion zwischen den in den Diäten enthaltenen Faktoren Proteinart und Proteinkonzentration beeinflusste ebenfalls zusätzlich die fäkale Phenolkonzentration ( $p=0,021$ ). Bei Verwendung von weizenhaltigen Diätvariationen auf Basis pflanzlicher Proteine lagen die Werte deutlich niedriger im Vergleich zu den Diäten QG1 bzw. QG 1.5.

Weitere Wechselwirkungen zeigten sich zwischen der Art der Kohlenhydrate und der Proteinkonzentration im Futter ( $p=0,015$ ) sowie zwischen Proteinart und Proteinkonzentration ( $p<0,001$ ) bei dem Parameter Indol. Die niedrigste Indolkonzentration war nach Gabe der Diätvariante mit Weizen in Verbindung mit Erbsen- und Bohnenproteinen festzustellen, die höchste Konzentration nach Gabe der Diät QG1.5.

Die Wechselwirkungen der in den Diäten enthaltenen Faktoren sind in Tabelle 25 dargestellt.

Tabelle 24: Konzentration der mikrobiellen Metabolite Ammonium, D/L-Laktat sowie Phenol, Indol und 3-Methylindol ( $\mu\text{mol/g}$  ursprüngliche Substanz) im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen,  $n=10$

	Diät								SEM	p-Werte		
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5		Koh	Prot	Dos
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	17,1 <sup>ed</sup>	15,3 <sup>ed</sup>	23,0 <sup>cd</sup>	35,2 <sup>ab</sup>	12,6 <sup>e</sup>	15,1 <sup>ed</sup>	27,8 <sup>bc</sup>	42,2 <sup>a</sup>	1,32	0,164	<0,001	<0,001
D-Laktat	4,86 <sup>b</sup>	13,2 <sup>ab</sup>	0,49 <sup>b</sup>	0,27 <sup>b</sup>	27,2 <sup>a</sup>	24,6 <sup>a</sup>	3,59 <sup>b</sup>	0,91 <sup>b</sup>	1,77	<0,001	<0,001	0,804
L-Laktat	4,20 <sup>b</sup>	12,4 <sup>ab</sup>	0,32 <sup>b</sup>	0,05 <sup>b</sup>	25,7 <sup>a</sup>	24,8 <sup>a</sup>	3,10 <sup>b</sup>	0,64 <sup>b</sup>	1,73	<0,001	<0,001	0,676
Phenol	0,08 <sup>bc</sup>	0,05 <sup>bc</sup>	0,15 <sup>ab</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,01 <sup>c</sup>	0,01 <sup>c</sup>	0,03 <sup>bc</sup>	0,09 <sup>bc</sup>	0,01	<0,001	<0,001	0,104
Indol	0,53 <sup>cd</sup>	0,21 <sup>de</sup>	1,01 <sup>b</sup>	1,54 <sup>a</sup>	0,06 <sup>e</sup>	0,20 <sup>de</sup>	0,64 <sup>c</sup>	1,27 <sup>ab</sup>	0,06	<0,001	<0,001	<0,001
3-Methylindol	0,12	0,07	0,05	0,06	0,08	0,09	0,09	0,14	0,01	0,235	0,680	0,851

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p<0,05$

Tabelle 25: Konzentration der mikrobiellen Metabolite Ammonium, D/L-Laktat sowie Phenol, Indol und 3-Methylindol im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
NH4+	0,002	0,198	<0,001	0,796
D-Laktat	0,009	0,233	0,445	0,450
L-Laktat	0,007	0,303	0,359	0,527
Phenol	0,040	0,826	0,021	0,373
Indol	0,416	0,015	<0,001	0,086
3-Methylindol	0,105	0,281	0,302	0,861

#### 4.5.2 Biogene Amine

In Tabelle 26 sind die fäkalen Konzentrationen der biogenen Amine in Abhängigkeit von der Fütterung dargestellt sowie in Tabelle 27 die Wechselwirkungen zwischen den in den Diäten enthaltenen Faktoren Proteinart, Proteinkonzentration sowie Kohlenhydratquelle.

Die Verwendung der zwei verschiedenen Kohlenhydratquellen führte zu signifikanten Unterschieden in den fäkalen Konzentrationen von Spermidin ( $p < 0,001$ ) und Tyramin ( $p = 0,004$ ), vergleichsweise dazu in einem geringeren Umfang auch bei der Histaminkonzentration ( $p = 0,025$ ). Die Fütterung von weizenhaltigen Diätvariationen erhöhte die Histamin- und Tyraminkonzentration im Vergleich zu Diäten mit Quinoa, die zu einem Anstieg der Spermidinwerte führten. Die Diät WG 1.5 stellte mit einer fäkalen Tyraminkonzentration von  $0,007 \mu\text{mol/g}$  eine Ausnahme dar.

Der Einfluss der Proteinquellen zeichnete sich auf die Konzentrationen der Gesamtamine ( $p < 0,001$ ) sowie von Tyramin ( $p = 0,002$ ), Spermin ( $p < 0,001$ ), Putrescin ( $p = 0,012$ ) sowie Cadaverin ( $p < 0,001$ ) ab. Die Verwendung von pflanzlichen Proteinen führte überwiegend zu einem höheren Vorkommen der genannten Amine. Eine Ausnahme stellte Diät QEB1 dar, die im Vergleich zu tierischen Proteinen in den Diäten zu niedrigeren Werten für Putrescin, Tyramin und Gesamtamine führte.

Ein proteinbezogener Dosisinfluss war für die Konzentrationen von Histamin ( $p = 0,008$ ), Spermidin ( $p = 0,002$ ) sowie im geringeren Umfang auch für Cadaverin ( $p = 0,025$ ) und Putrescin ( $p = 0,037$ ) festzustellen. Außer für das Histamin, führte eine höhere Proteingabe zu einem Anstieg der Konzentration der genannten Parameter in den Fäzes.

Eine Wechselwirkung zeigte sich zwischen den Hauptfaktoren Proteinart und Proteinkonzentration für die biogenen Amine Cadaverin ( $p = 0,047$ ) und Spermin ( $p = 0,007$ ). Gruppenunterschiede ergaben sich insbesondere zwischen der Diät QG1 mit der niedrigsten Cadaverinkonzentration bzw. QG1.5 mit der niedrigsten Sperminkonzentration und Diätphase QEB 1.5 mit der höchsten Konzentration für Cadaverin und WEB1.5 mit der höchsten Konzentration Spermin.

Interaktionen zwischen der Art der Kohlenhydrate und der Proteinquelle ( $p = 0,008$ ) sowie Art der Kohlenhydrate und Proteinkonzentration ( $p = 0,018$ ) ergaben sich für Spermidin. Die höchste Konzentration war in den Diätphasen QEB1 und QEB 1.5 festzustellen, die niedrigste nach Fütterung der Diät WEB1.

Tabelle 26: Konzentration der mikrobiellen Metabolite biogene Amine ( $\mu\text{mol/g}$  ursprüngliche Substanz) im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

	Diät								SEM	Koh	p-Werte	
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5			Prot	Dos
Propylamin	0,10	0,01	0,24	0,13	0,12	0,14	0,15	0,04	0,03	0,866	0,380	0,193
Putrescin	4,04	5,43	2,83	3,62	4,55	6,19	3,92	4,25	0,27	0,122	0,012	0,037
Histamin	0,34	0,43	0,42	0,08	0,94	0,49	0,78	0,14	0,06	0,025	0,111	0,008
Cadaverin	1,75 <sup>ab</sup>	3,67 <sup>a</sup>	0,96 <sup>b</sup>	1,11 <sup>b</sup>	2,17 <sup>ab</sup>	3,50 <sup>a</sup>	1,48 <sup>ab</sup>	1,46 <sup>ab</sup>	0,21	0,429	<0,001	0,025
Spermidin	1,24 <sup>a</sup>	1,30 <sup>a</sup>	1,08 <sup>ab</sup>	1,10 <sup>ab</sup>	0,66 <sup>c</sup>	0,97 <sup>abc</sup>	0,79 <sup>bc</sup>	1,07 <sup>ab</sup>	0,03	<0,001	0,496	0,002
Tyramin	0,24	0,35	0,16	0,07	0,77	0,80	0,46	0,07	0,06	0,004	0,002	0,442
Phenylethylamin	0,19	0,53	0,21	0,07	0,56	0,29	0,45	0,11	0,07	0,484	0,230	0,497
Spermin	0,53 <sup>ab</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,41 <sup>ab</sup>	0,31 <sup>b</sup>	0,48 <sup>ab</sup>	0,63 <sup>a</sup>	0,44 <sup>ab</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,02	0,690	<0,001	0,787
Gesamtamine	8,41	12,3	6,31	6,49	10,2	13,0	8,47	7,51	0,56	0,151	<0,001	0,138

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p < 0,05$

Tabelle 27: Konzentration der mikrobiellen Metabolite biogene Amine im Hundekot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Propylamin	0,116	0,636	0,427	0,592
Putrescin	0,734	0,986	0,425	0,823
Histamin	0,625	0,088	0,198	0,605
Cadaverin	0,643	0,656	0,047	0,738
Spermidin	0,008	0,018	0,720	0,935
Tyramin	0,123	0,386	0,163	0,622
Phenylethylamin	0,792	0,189	0,369	0,482
Spermin	0,584	0,473	0,007	0,652
Gesamtamine	0,816	0,645	0,090	0,943

#### 4.5.3 Kurzkettige Fettsäuren

Eine nähere Betrachtung der in Tabelle 28 dargestellten Ergebnisse zeigte, dass die Fütterung von Quinoa in den Diäten zu einem Anstieg der fäkalen Konzentration von Essigsäure ( $p < 0,001$ ), Propionsäure ( $p < 0,001$ ), i-Buttersäure ( $p < 0,001$ ), i-Valeriansäure ( $p < 0,001$ ) sowie zu einer Steigerung der Gesamtkonzentration kurzkettiger Fettsäuren in den Fäzes ( $p < 0,001$ ) führte. Eine Ausnahme stellten die Diäten WG1 und WG1.5 mit ebenfalls vergleichbaren hohen Werten für die i-Buttersäure sowie i-Valeriansäure dar.

Der Einfluss der Proteinquelle zeichnete sich auf das Vorkommen der i-Buttersäure ( $p < 0,001$ ) und i-Valeriansäure ( $p < 0,001$ ) ab. Auf beide Parameter bestand auch ein deutlicher Dosierungseffekt ( $p < 0,001$ ) durch die höhere Proteingabe. Diäten auf Basis tierischer Proteinquellen erhöhten im Vergleich zur Fütterung von Pflanzenproteinen deutlich die Konzentration der i-Buttersäure sowie i-Valeriansäure in den Fäzes. Ein erhöhter Proteingehalt führte ebenfalls zu einem Anstieg der genannten Parameter, mit Ausnahme der Diäten WEB 1.5 und QEB 1.5, die sowohl für eine niedrigere Konzentration für i-Buttersäure als auch für i-Valeriansäure aufzeigten.

Eine Wechselwirkung zeigte sich hinsichtlich der Faktoren Kohlenhydratquelle und Proteinart in den Diäten für die fäkalen Konzentrationen an Essigsäure ( $p = 0,023$ ), Propionsäure ( $p < 0,001$ ) sowie der gesamten kurzkettigen Fettsäuren ( $p = 0,006$ ). Weizenhaltige Diätvariationen in Kombination mit pflanzlichen Proteinen reduzierten die Konzentration von Essig- und Propionsäure, während Diätphasen mit Quinoa und Erbsen die Konzentration ansteigen ließen. Diätphasen mit Weizen und Erbsen zeigten geringere Werte für die gesamten kurzkettigen Fettsäuren in den Fäzes im Vergleich zur Diät QEB1 mit der höchsten Konzentration.

Für die kurzkettige Fettsäure i-Valeriansäure ergaben sich Interaktionen zwischen der Proteinart und Proteinkonzentration ( $p < 0,001$ ) sowie zwischen den Faktoren Kohlenhydrate, Proteinart und Proteinkonzentration ( $p = 0,042$ ). Die höchste Konzentration war nach Gabe der Diät QG1.5 festzustellen, die niedrigste nach Gabe der Diät WEB1.

Wechselwirkungen zwischen den in den Diäten enthaltenen Faktoren sind in Tabelle 29 dargestellt.

Tabelle 28: Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren ( $\mu\text{mol/g}$  ursprüngliche Substanz) im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

	Diät								SEM	p-Werte		
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5		Koh	Prot	Dos
Essigsäure	149 <sup>a</sup>	123 <sup>abc</sup>	120 <sup>abc</sup>	134 <sup>ab</sup>	92,1 <sup>c</sup>	88,8 <sup>c</sup>	107 <sup>bc</sup>	107 <sup>bc</sup>	3,42	<0,001	0,456	0,494
Propionsäure	80,4 <sup>a</sup>	78,1 <sup>a</sup>	62,1 <sup>ab</sup>	65,4 <sup>ab</sup>	43,0 <sup>b</sup>	48,8 <sup>b</sup>	61,7 <sup>ab</sup>	60,1 <sup>ab</sup>	2,28	<0,001	0,995	0,697
i-Buttersäure	2,62	1,66	3,65	5,69	0,96	1,11	3,25	5,11	0,20	<0,001	<0,001	<0,001
n-Buttersäure	31,4	24,2	25,6	27,5	36,2	25,2	41,0	31,8	1,94	0,108	0,576	0,109
i-Valeriansäure	2,84 <sup>cd</sup>	1,73 <sup>de</sup>	4,12 <sup>b</sup>	6,90 <sup>a</sup>	0,88 <sup>e</sup>	1,22 <sup>e</sup>	3,62 <sup>bc</sup>	6,11 <sup>a</sup>	0,25	<0,001	<0,001	<0,001
n-Valeriansäure	1,27	3,33	0,64	0,69	0,95	3,11	0,88	1,02	0,27	0,983	0,011	0,035
gesamt SCFAs	267 <sup>a</sup>	232 <sup>abc</sup>	216 <sup>abc</sup>	240 <sup>ab</sup>	174 <sup>bc</sup>	168 <sup>c</sup>	217 <sup>abc</sup>	211 <sup>abc</sup>	6,48	<0,001	0,328	0,629

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p < 0,05$

Tabelle 29: Konzentration der mikrobiellen Metabolite kurzkettige Fettsäuren im Hundekot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Essigsäure	0,023	0,673	0,057	0,112
Propionsäure	<0,001	0,786	0,964	0,442
i-Buttersäure	0,065	0,160	0,000	0,054
n-Buttersäure	0,374	0,343	0,494	0,642
i-Valeriansäure	0,114	0,127	<0,001	0,047
n-Valeriansäure	0,588	0,925	0,055	0,999
gesamt SCFAs	0,006	0,978	0,199	0,212

#### 4.5.4 pH-Wert und Trockensubstanz der Fäzes

Bei Betrachtung der in Tabelle 30 dargestellten Ergebnisse war ein Proteineinfluss auf die Parameter pH-Wert ( $p < 0,001$ ) und Trockensubstanz ( $p < 0,001$ ) der Fäzes deutlich erkennbar. Nach Gabe der Diätvariationen mit tierischen Proteinquellen zeigte sich ein Anstieg der genannten Parameter.

Die Verwendung von zwei unterschiedlichen Kohlenhydratquellen wirkte sich ebenfalls auf den pH-Wert ( $p = 0,002$ ) der Fäzes aus, der bei Gabe der Diäten mit Quinoa höher als nach Aufnahme von Weizen lag.

Wechselwirkungen ergaben sich hinsichtlich der im Futter enthaltenen Faktoren Kohlenhydratquelle und Proteinart ( $p = 0,007$ ), Kohlenhydratquelle und Proteindosierung ( $p = 0,006$ ) sowie Proteinart und Proteindosierung ( $p < 0,001$ ) bezüglich des fäkalen pH-Wertes. Diätphasen mit Weizen in Kombination mit Erbsen führten zu einem niedrigeren pH-Wert, während die Diät WG1.5 den höchsten pH-Wert bewirkte.

Für die Trockensubstanzgehalte ergab sich eine Interaktion zwischen der in den Diäten enthaltenen Kohlenhydratquelle und Proteinart ( $p = 0,033$ ). Den geringsten Wert für die Trockensubstanz erreichten die Diätvariationen WEB1.5 und QEB1.5 im Vergleich zu der Diät WG 1.5 mit den höchsten Werten für die Trockensubstanzgehalte der Fäzes.

Die Interaktionen zwischen den in den Diäten enthaltenen Faktoren sind in Tabelle 31 dargestellt.

Tabelle 30: Trockensubstanz (g/kg) und pH-Wert des Hundekots nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

	Diät								SEM	p-Werte		
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5		Koh	Prot	Dos
pH-Wert	6,18 <sup>ab</sup>	5,72 <sup>cd</sup>	6,32 <sup>ab</sup>	6,37 <sup>ab</sup>	5,53 <sup>d</sup>	5,51 <sup>d</sup>	6,10 <sup>bc</sup>	6,58 <sup>a</sup>	0,06	0,002	<0,001	0,983
Trockensubstanz <sup>1</sup>	268 <sup>abc</sup>	254 <sup>c</sup>	275 <sup>abc</sup>	283 <sup>abc</sup>	261 <sup>bc</sup>	249 <sup>c</sup>	295 <sup>ab</sup>	301 <sup>a</sup>	3,45	0,257	<0,001	0,669

<sup>1</sup>Trockensubstanz aus Gefriertrocknung verwendet, Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test, p<0,05

Tabelle 31: Trockensubstanz (g/kg ursprüngliche Substanz) und pH-Wert des Hundekots nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
pH-Wert	0,007	0,006	<0,001	0,841
TS <sup>1</sup>	0,033	0,951	0,084	0,909

## 4.6 Untersuchungen der Zusammensetzung der fäkalen Mikrobiota

### 4.6.1 Untersuchung der bakteriellen Phyla

Dargestellt sind in Tabelle 32 die Ergebnisse für das relative Vorkommen der bakteriellen Phyla sowie in Tabelle 33 die Wechselwirkungen der drei Faktoren Kohlenhydrate, Proteinart und Proteinkonzentration im Futter.

Lediglich der Einfluss der Proteinart zeichnete sich im Hinblick auf das relative Vorkommen von *Fusobacterium* spp. ( $p < 0,001$ ) sowie *Actinobacterium* spp. ( $p = 0,04$ ) ab. Diäten basierend auf tierischen Proteinen erhöhten das relative Vorkommen von *Fusobacterium* spp., wohingegen Diätvariationen mit pflanzlichen Proteinen das relative Vorkommen der *Actinobacterium* spp. begünstigten. Interaktionen zwischen den Hauptfaktoren waren nicht festzustellen.

Tabelle 32: Relatives Vorkommen (%) bakterieller Phyla im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

	Diät								p-Werte			
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5	SEM	Koh	Prot	Dos
Firmicutes	43,2	60,5	52,6	43,4	58,9	67,3	56,8	46,9	1,61	0,482	0,880	0,274
Fusobacteria	10,3	5,4	13,8	25,4	3,04	2,89	5,61	15,9	1,06	0,114	<0,001	0,081
Bacteroidetes	32,5	27,4	28,5	27,0	22,4	18,8	28,2	31,8	1,14	0,871	0,347	0,578
Actinobacteria	11,5	5,43	3,00	1,73	15,2	12,4	8,29	2,81	1,01	0,870	0,004	0,464
Proteobacteria	2,49	1,27	2,15	2,45	0,74	0,80	1,19	2,38	0,16	0,306	0,169	0,346

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p < 0,05$

Tabelle 33: Relatives Vorkommen bakterieller Phyla im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktion, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Firmicutes	0,258	0,651	0,235	0,123
Fusobacteria	0,721	0,571	0,051	0,110
Bacteroidetes	0,272	0,893	0,912	0,526
Actinobacteria	0,440	0,709	0,951	0,687
Proteobacteria	0,670	0,381	0,228	0,443

#### 4.6.2 Untersuchungen der bakteriellen Genera

Bei Betrachtung der in Tabelle 34 dargestellten Ergebnisse zeigte sich, dass das relative Vorkommen der Gattungen *Bacteroides* spp. und *Blautia* spp. unter dem Einfluss der verwendeten Kohlenhydrate in den Diäten anstieg, wobei die mit Quinoa enthaltene Diäten, mit Ausnahme der Diät QEB 1.5, zu einem höheren relativen Vorkommen von *Bacteroides* spp. ( $p=0,046$ ) führten und Diätvariationen mit Weizen weniger einheitlich das Vorkommen von *Blautia* spp. begünstigten ( $p=0,019$ ).

Die tierischen Proteinquellen in den Diätvariationen erhöhten deutlich das relative Vorkommen von *Fusobacterium* spp. ( $p<0,001$ ), *Peptoclostridium* spp. ( $p<0,001$ ) und *Sellimonas* spp. ( $p<0,001$ ). Eine Ausnahme stellte die weizenhaltige Diät in Kombination mit Geflügelmehl dar, hier lag ein relatives Vorkommen von *Fusobacterium* spp. von nur 5,59 % vor. Ein überwiegend höheres Vorkommen der Bakteriengenera *Lactobacillus* spp. ( $p=0,023$ ) und *Prevotella* spp. ( $p=0,002$ ) zeigte sich unter der Verwendung pflanzlicher Proteinquellen. Auszunehmen ist das relative Vorkommen von *Lactobacillus* spp. bei Gabe der Diäten WG1 (10,5 %) sowie für *Prevotella* spp. bei der Diätvariation WG 1.5 (13,5 %).

Dosiseffekte auf das relative Vorkommen der bakteriellen Genera zeigten sich bei *Peptoclostridium* spp. ( $p<0,001$ ) und *Streptococcus* spp. ( $p=0,002$ ). Eine höhere Proteinzufuhr führte zu einem höheren relativen Vorkommen von *Peptoclostridium* spp., wobei die Diäten QEB1.5 mit 1,60 % und WEB 1,5 mit 1,61 % diesem nicht folgten. Nach Gabe der Diäten mit dem geringeren Proteingehalt lag das relative Vorkommen von *Streptococcus* spp. deutlich höher. Eine Ausnahme stellen hier die Diätphasen mit Weizen in Kombination mit einem höheren Erbsen- und Bohnengehalt (23,1 %) bzw. Diäten mit Quinoa und einem höheren Erbsen- und Proteinanteil (12,3 %) dar.

Wechselwirkungen ergaben sich hinsichtlich der Faktoren Proteinart und Proteindosierung im Futter für das relative Vorkommen der bakteriellen Genera *Peptoclostridium* spp. ( $p<,001$ ) und *Sellimonas* spp. ( $p=0,046$ ). Das größte relative Vorkommen zeigte sich für beide Gattungen nach Gabe der Diätvariation mit Quinoa in Kombination mit erhöhtem Erbsen- und Bohnenanteil, bei Fütterung der Diät WEB1 fiel das relative Vorkommen für *Peptoclostridium* und *Sellimonas* spp. am geringsten aus.

Weitere Wechselwirkungen zeigten sich zwischen den in der Diät enthaltenen Kohlenhydraten und Proteinart auf das relative Vorkommen von *Streptococcus* spp. ( $p=0,049$ ). Gruppenunterschiede ergaben sich hinsichtlich der Diätvarianten WG1.5 mit dem niedrigsten Wert und Diät WEB1.5 mit dem höchsten relativen Vorkommen für diese Bakteriengattung.

Für das relative Vorkommen von *Lactobacillus* spp. ergaben sich zum einen eine Interaktion zwischen den im Futter enthaltenen Proteinarten und der Konzentration ( $p=0,036$ ) und zum

anderen zwischen den Faktoren Kohlenhydrate und Proteinart ( $p=0,043$ ). Das höchste relative Vorkommen für diese Bakteriengattung waren nach Gabe der Diät QEB1.5 festzustellen, der niedrigste Wert nach Gabe der Diät WG1.5.

Die Wechselwirkungen zwischen den in den Diäten enthaltenen Faktoren sind in Tabelle 35 dargestellt.

Tabelle 34: Relatives Vorkommen [%] bakterieller Genera im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

	Diät									p-Werte		
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5	SEM	CHO	Prot	Dosage
<i>Allobaculum</i>	5,10	3,54	6,42	3,54	12,5	8,23	15,5	11,3	1,24	0,527	0,734	0,173
<i>Alloprevotella</i>	2,53	1,53	2,55	5,21	0,71	3,94	1,93	3,46	0,49	0,686	0,852	0,283
<i>Bacteroides</i>	11,9	5,84	9,57	12,4	0,65	2,02	4,17	8,66	0,76	0,046	0,227	0,314
<i>Bifidobacterium</i>	12,0	6,56	2,64	0,95	16,1	10,9	7,37	2,07	1,09	0,963	0,005	0,421
<i>Blautia</i>	10,2	13,3	7,17	7,64	7,74	11,6	10,1	9,18	0,92	0,019	0,118	0,688
<i>Collinsella</i>	0,61	0,75	0,46	1,03	0,37	1,21	0,35	0,36	0,08	0,813	0,247	0,849
<i>Faecalibacterium</i>	0,65	0,38	0,73	1,88	0,05	0,05	0,12	0,26	0,11	0,055	0,188	0,944
<i>Fusobacterium</i>	10,3	5,34	13,7	25,3	2,99	2,86	5,59	15,9	1,05	0,116	<0,001	0,079
<i>Lachnoclostridium</i>	1,07	0,85	1,11	1,50	0,59	0,47	0,29	0,47	0,11	0,105	0,608	0,505
<i>Lactobacillus</i>	8,49	19,6	9,15	7,26	13,8	9,94	10,5	4,83	1,75	0,379	0,023	0,357
<i>Parasutterella</i>	1,27	0,62	1,35	0,72	0,28	0,61	0,87	1,43	0,15	0,973	0,323	0,423
<i>Peptoclostridium</i>	1,79 <sup>bc</sup>	1,60 <sup>bc</sup>	3,27 <sup>bc</sup>	9,43 <sup>a</sup>	0,68 <sup>c</sup>	1,61 <sup>bc</sup>	3,41 <sup>bc</sup>	7,38 <sup>ab</sup>	0,39	0,148	<0,001	<0,001
<i>Phascolarctobacterium</i>	0,62	0,28	0,53	0,66	0,08	0,23	0,27	0,77	0,04	0,262	0,332	0,145
<i>Prevotella_9</i>	14,6	21,1	5,78	5,64	21,6	12,3	9,95	13,5	1,24	0,184	0,002	0,929
<i>Romboutsia</i>	1,82	1,00	2,66	2,24	1,80	0,61	3,12	2,82	0,24	0,248	0,070	0,376
<i>Sellimonas</i>	0,17 <sup>c</sup>	0,13 <sup>c</sup>	0,38 <sup>bc</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,07 <sup>c</sup>	0,16 <sup>c</sup>	0,23 <sup>bc</sup>	0,55 <sup>ab</sup>	0,04	0,732	<0,001	0,065
<i>Streptococcus</i>	4,94	12,3	16,2	3,53	17,1	23,1	13,2	2,72	2,14	0,202	0,506	0,002
<i>Turicibacter</i>	4,27	1,93	0,84	0,86	4,83	0,92	3,49	1,51	0,64	0,514	0,307	0,650
unbekannt ( <i>Erysipelotrichaceae</i> )	0,32	0,10	0,20	0,10	0,21	1,13	0,24	0,22	0,09	0,773	0,526	0,438
unbekannt ( <i>Lachnospiraceae</i> )	3,46	3,90	2,74	4,84	2,03	3,03	1,39	1,71	0,25	0,203	0,881	0,292

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test, p<0,05

Tabelle 35: Relatives Vorkommen bakterieller Genera im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
<i>Allobaculum</i>	0,944	0,738	0,200	0,666
<i>Alloprevotella</i>	0,654	0,304	0,971	0,520
<i>Bacteroides</i>	0,877	0,265	0,098	0,448
<i>Bifidobacterium</i>	0,355	0,782	0,954	0,819
<i>Blautia</i>	0,070	0,281	0,274	0,950
<i>Collinsella</i>	0,411	0,260	0,624	0,179
<i>Faecalibacterium</i>	0,328	0,948	0,450	0,425
<i>Fusobacterium</i>	0,730	0,578	0,050	0,107
<i>Lachnospirillum</i>	0,891	0,264	0,131	0,230
<i>Lactobacillus</i>	0,043	0,056	0,036	0,357
<i>Parasutterella</i>	0,205	0,502	0,664	0,542
<i>Peptoclostridium</i>	0,105	0,524	<0,001	0,306
<i>Phascolarctobacterium</i>	0,809	0,241	0,210	0,449
<i>Prevotella_9</i>	0,378	0,055	0,668	0,358
<i>Romboutsia</i>	0,734	0,208	0,164	0,972
<i>Sellimonas</i>	0,601	0,606	0,046	0,285
<i>Streptococcus</i>	0,049	0,592	0,505	0,073
<i>Turicibacter</i>	0,410	0,314	0,401	0,418
unbekannt ( <i>Erysipelotrichaceae</i> )	0,249	0,242	0,744	0,626
unbekannt ( <i>Lachnospiraceae</i> )	0,205	0,775	0,696	0,206

#### 4.6.3 Untersuchungen der bakteriellen Diversität

Bei Betrachtung der in Tabelle 36 dargestellten Ergebnisse zeigte sich, dass die Proteinart in den Diätvarianten die Richness der nachgewiesenen Sequenzen im Kot signifikant ( $p < 0,001$ ) beeinflusste. Die höchsten Werte für die Richness ergaben sich bei Fütterung von Diäten basierend auf tierischen Proteinen.

Eine Wechselwirkung ergab sich hinsichtlich der Faktoren Kohlenhydrate, Proteinart und Proteinkonzentration im Futter für Shannon Index und Evenness. Gruppenunterschiede für den Shannon Index zeigten sich besonders für die Diätvarianten WEB1 und WEB1.5 mit den geringsten Werten und den Diäten QG1.5, WG1.5 und QEB1 mit den höchsten Werten.

Für den Parameter Evenness ergaben sich Unterschiede zwischen der Diät basierend auf Weizen und pflanzlichen Proteinen mit dem geringsten Wert und der Diätvariante Quinoa in Kombination mit Erbsen und Bohnen mit dem höchsten Wert.

Wechselwirkungen der bakteriellen Diversität bezüglich der in den Diäten enthaltenen Faktoren sind in Tabelle 37 abgebildet.

Tabelle 36: Darstellung der bakteriellen Diversität im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

	Diät								SEM	Koh	p-Werte	
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5			Prot	Dos
Richness	97,8	89,2	102	111	69,7	74,6	89,7	106	2,03	0,884	< 0,001	0,644
Shannon Index	3,67 <sup>a</sup>	3,31 <sup>ab</sup>	3,32 <sup>ab</sup>	3,65 <sup>a</sup>	2,89 <sup>b</sup>	3,04 <sup>b</sup>	3,38 <sup>ab</sup>	3,67 <sup>a</sup>	0,05	0,515	0,135	0,495
Evenness	0,80 <sup>a</sup>	0,74 <sup>ab</sup>	0,72 <sup>ab</sup>	0,78 <sup>ab</sup>	0,68 <sup>b</sup>	0,69 <sup>ab</sup>	0,75 <sup>ab</sup>	0,79 <sup>ab</sup>	0,01	0,482	0,361	0,529

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p < 0,05$

Tabelle 37: Darstellung der bakteriellen Diversität im Kot nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Richness	0,884	0,467	0,075	0,202
Shannon Index	0,250	0,677	0,075	0,032
Evenness	0,225	0,751	0,120	0,041

#### 4.7 Visualisierung der fäkalen Metabolite und Mikrobiota mittels Dendrogramm und „Heatmap“

Die Visualisierung des Einflusses der Proteinquellen auf die fäkalen Metaboliten ist mit Hilfe eines Dendrogramms in Abbildung 1 sowie auf die Mikrobiota in Abbildung 2 dargestellt.

In Abbildung 3 und Abbildung 4 ist jeweils der Proteinfluss sowohl auf die Metabolite als auch auf die Mikrobiota mittels einer Heatmap dargestellt. Es konnte kein sichtbarer Einfluss der Proteinkonzentrationen oder der Kohlenhydratquelle auf die in den Fäzes gemessenen Metaboliten und die Mikrobiota festgestellt werden (Abbildung nicht gezeigt). Hingegen zeigte sich eine deutliche Gruppierung der Proben zwischen den Diäten mit pflanzlichen und tierischen Proteinquellen.



Abbildung 1: Ähnlichkeitsdendrogramm über den Einfluss der Proteinquellen auf die fäkalen Metabolite

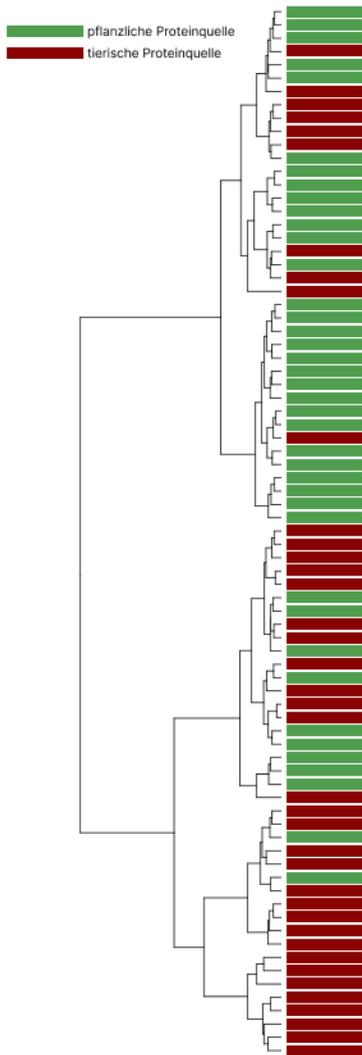


Abbildung 2: Ähnlichkeitsdendrogramm über den Einfluss der Proteinquellen auf die fäkalen Mikrobiota

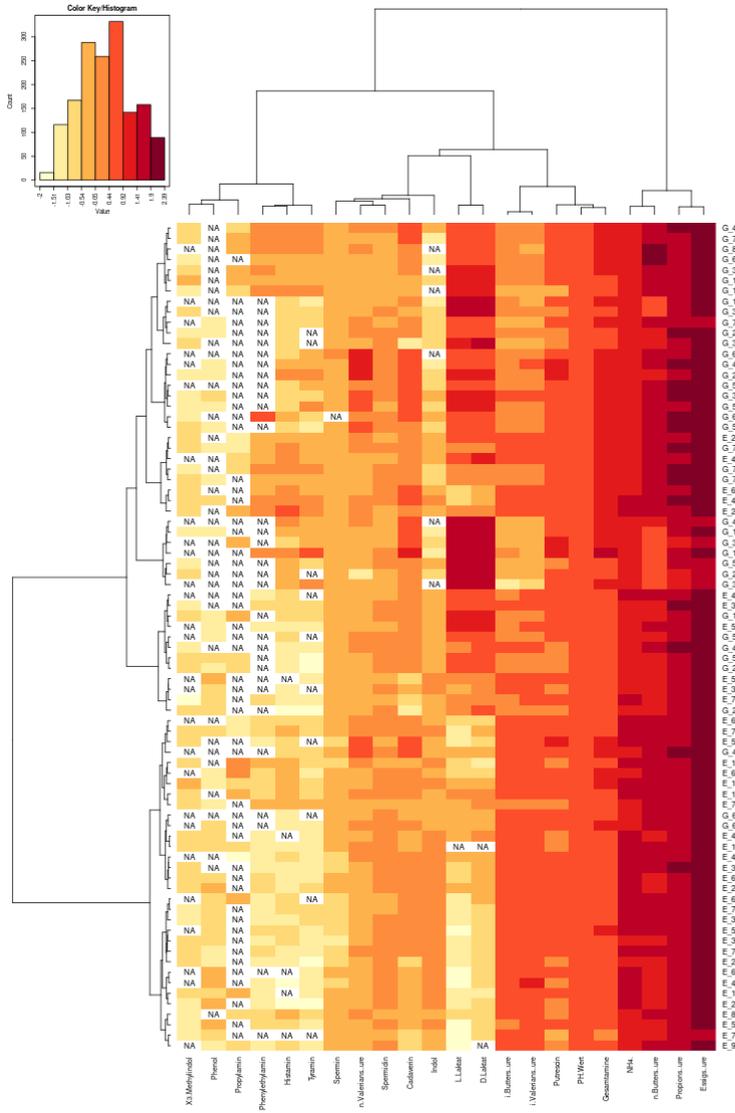


Abbildung 3: Visualisierung des Proteinflusses auf die fäkalen Metabolite mittels „Heatmap“

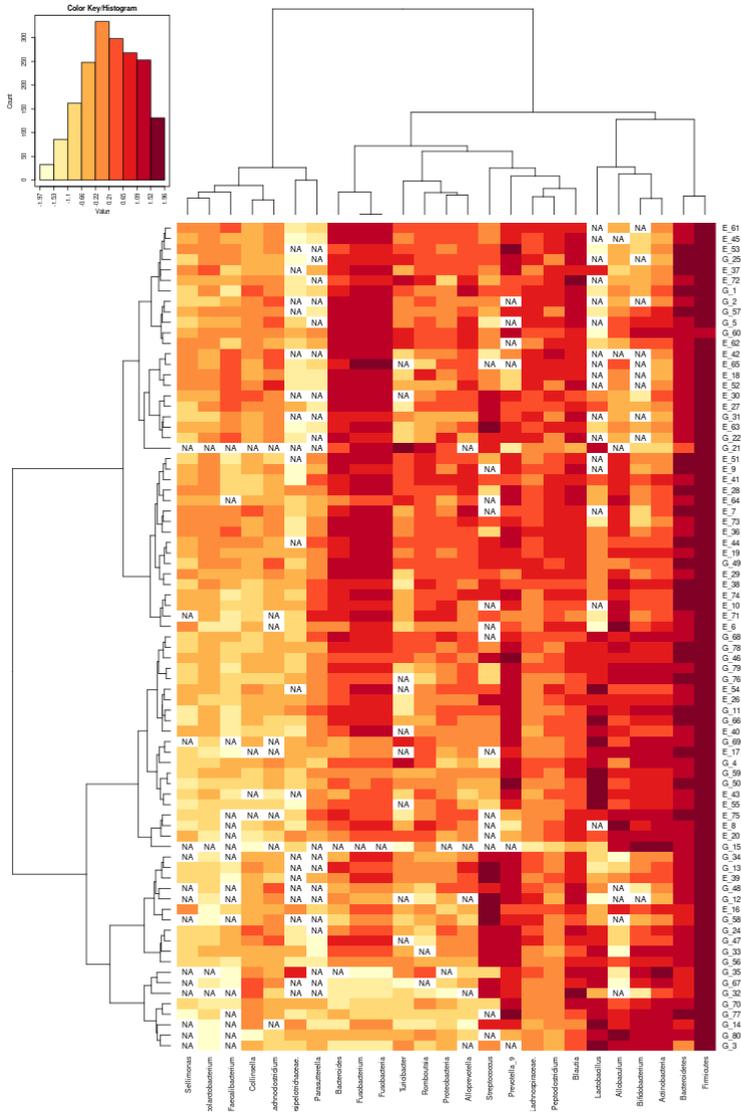


Abbildung 4: Visualisierung des Proteinflusses auf die fäkalen Mikrobiota mittels „Heatmap“

## 4.8 Untersuchungen der Parameter im Harn

### 4.8.1 Untersuchungen zur Harnzusammensetzung

Dargestellt sind in Tabelle 38 die Ergebnisse für pH-Wert, Osmolarität, Stickstoff, Kreatinin und Harnstoff im Urin. In Tabelle 39 sind die Wechselwirkungen der drei Faktoren Kohlenhydrate, Proteinart und Proteinkonzentration im Futter zu finden.

Die Kohlenhydratquellen beeinflussten pH-Wert ( $p=0,005$ ), Osmolarität ( $p=0,008$ ), Stickstoff ( $p=0,041$ ), Kreatinin ( $p=0,018$ ) und Harnsäure ( $p=0,001$ ) im Urin. Der Einfluss der Proteinquelle zeichnete sich mit Blick auf den pH-Wert ( $p=0,007$ ) sowie die Stickstoffkonzentration ( $p=0,029$ ) ab, bei diesen Parametern bestand auch ein deutlicher Dosierungseinfluss ( $p=0,008$  und  $0,025$ ). Interaktionen zwischen den Hauptfaktoren waren nicht festzustellen.

Bei detaillierterer Betrachtung der Ergebnisse zeigte sich, dass die pH-Werte im Harn bei Verfütterung der Diäten mit Weizen und Geflügelprotein (5,73 bis 6,30) überwiegend niedriger waren als bei Verwendung von Quinoa (7,20 bis 7,47). Eine Ausnahme stellt die Kombination von Weizen mit der pflanzlichen Proteinquelle dar. Hier wurde bei Verabreichung der höheren Dosierung im Futter auch ein höherer pH-Wert festgestellt (7,42). Die Stickstoffkonzentrationen im Harn waren mit 0,75 % bei der Diät QG1 am geringsten, während sie bei der Diät QEB1,5 die höchsten Werte erreichten (1,64 %). Bei den übrigen Diäten zeichnete sich ein Konzentrationsbereich ab, der mit 0,81 bis 1,35 % relativ variabel und zwischen den Diätvarianten überlappend waren. Dosierungseffekte ergaben sich im Sinne höherer pH-Werte und für Stickstoffkonzentrationen bei höheren Proteinkonzentrationen in der Diät. Eine Ausnahme stellt die Diät WG1.5 dar, hier lag der pH-Wert mit 6,3 im unteren Bereich des Spektrums. Die Stickstoffkonzentrationen stiegen erwartungsgemäß bei höherer Proteinzufuhr an.

Tabelle 38: pH-Wert, Osmolarität, Stickstoff und Kreatinin und Harnstoff im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

		Diät								SEM	p-Werte		
		QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5		Koh	Prot	Dos
pH-Wert		7,28	7,34	7,21	7,47	6,54	7,42	5,73	6,30	0,11	0,005	0,007	0,008
Osmolarität	mosmol/l	544	923	529	696	602	652	501	722	38,5	0,008	0,078	0,103
Stickstoff	%	0,84	1,64	0,75	1,09	0,97	1,13	0,81	1,35	0,07	0,041	0,029	0,025
Kreatinin	µg/ml	465	607	460	592	497	429	562	615	38,8	0,018	0,732	0,646
Harnsäure	µg/ml	70,4	74,3	61,7	76,1	41,9	47,1	41,2	46,7	4,02	0,001	0,371	0,563

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p < 0,05$

Tabelle 39: pH-Wert, Osmolarität, Stickstoff und Kreatinin und Harnstoff im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
pH-Wert	0,111	0,086	0,777	0,833
Stickstoff	0,667	0,549	0,384	0,404
Kreatinin	0,548	0,577	0,865	0,857
Harnsäure	0,692	0,576	0,913	0,731
Osmolarität	0,977	0,676	0,201	0,449

#### 4.8.2 Anionen und Kationen im Harn sowie relative Übersättigung mit Struvit und Calciumoxalat

Bei Betrachtung der unterschiedlichen Kohlenhydratquellen waren Effekte auf die Konzentrationen des Kaliums ( $p < 0,001$ ), Chlorids ( $p < 0,001$ ), des Sulfats ( $p = 0,010$ ) sowie des Oxalats ( $p < 0,001$ ) und Citrats ( $p = 0,047$ ) festzustellen.

Die geringsten Kaliumkonzentrationen traten bei Gabe der Diäten WG1 und WG1.5 auf, die höchsten nach Aufnahme von QEB1.5. Die Kalium-, Chlorid- und Sulfatkonzentrationen bewegten sich nach Gabe von Quinoa als Kohlenhydratquelle in einem höheren Bereich als bei der Verwendung von Weizen. Ein ähnliches Bild ergab sich bei Oxalat und Citrat, allerdings ergaben sich hier einige Abweichungen. So waren bei Verwendung von Weizen durchweg geringere Oxalatkonzentrationen festzustellen als bei Verwendung von Quinoa. Die Citratkonzentrationen verhielten sich ähnlich, ausgenommen die Diätphase WEB1.5, in der hohe Citratkonzentrationen auftraten. Auch wurde die relative Übersättigung mit Struvit sehr deutlich durch die Kohlenhydratquellen beeinflusst, höhere Werte traten bei den Diätphasen mit Quinoa auf ( $p < 0,001$ ).

Die Konzentrationen des Kaliums ( $p = 0,001$ ) und des Citrats ( $p < 0,001$ ) wurden durch die Proteinart beeinflusst, auch die RSS für Struvit ( $p = 0,023$ ). Allerdings waren bei Kalium die Effekte weniger einheitlich, bei den Citratkonzentrationen zeichneten sich geringere Konzentrationen bei den Diäten mit Geflügelprotein ab. Die RSS-Werte für Struvit waren mit Ausnahme der Diät QG1.5 bei Verwendung von Geflügelprotein niedriger als bei Gabe der pflanzlichen Diät, es gab aber deutliche Überschneidungen.

Sowohl die Phosphat- als auch die Citratkonzentrationen sowie die RSS-Werte für Struvit waren abhängig von dem Proteingehalt in den Diäten. Der höhere Proteinanteil führte zu geringeren Konzentrationen an Phosphat ( $p = 0,004$ ), während sich Citrat ( $p = 0,007$ ) wie auch die RSS-Werte für Struvit ( $p = 0,039$ ) trotz signifikanter Effekte variabel verhielten.

Eine Wechselwirkung trat zwischen Proteinart und Proteinanteil im Futter nur bei der Citratkonzentration ( $p = 0,002$ ) auf. Gruppenunterschiede ergaben sich insbesondere zwischen den Diäten WEB1.5 und QEB1.5 mit der höchsten Konzentration und den Diäten WG1 und WG1.5 mit dem niedrigsten Citratgehalt. Die Citratkonzentration lag in den übrigen Versuchsperioden zwischen diesen beiden Diätphasen, wobei sich auch nach Gabe von QG1.5, WEB1 und QG1 Differenzen zu den beiden höchsten Messwerten darstellten.

In Tabelle 40 sind die Ergebnisse der Anionen und Kationen sowie der relativen Übersättigung für Struvit und Oxalat dargestellt. Die Darstellung der Wechselwirkungen zwischen den drei Faktoren Kohlenhydrate, Proteinart sowie Proteindosierung ist der in Tabelle 41 zu finden.

Tabelle 40: Anionen und Kationen ( $\mu\text{g/ml}$ ) im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen,  $n=10$

	Diät								p-Werte			
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5	SEM	Koh	Prot	Dos
Natrium	1186	981	1082	1746	794	652	916	1256	82,6	0,085	0,182	0,862
Kalium	3977	5582	4082	4407	3147	3697	1452	1633	231	<0,001	0,001	0,841
Ammonium	521	798	575	650	982	658	1231	1316	76,0	0,407	0,285	0,432
Magnesium	76,1	128	83,3	68,9	75,4	84,3	101	100	7,26	0,051	0,318	0,970
Calcium	34,9	46,4	38,1	36,5	37,5	45,3	63,8	74,8	4,63	0,833	0,820	0,808
Chlorid	4985	6904	5222	5987	4520	4904	4180	4822	268	<0,001	0,193	0,514
Sulfat	2068	2327	1977	2738	2009	1697	1620	2866	133	0,010	0,713	0,655
Phosphat	2897	3526	3553	2994	3847	2469	3729	2665	223	0,060	0,814	0,004
Oxalat	64,1	91,5	82,6	88,6	44,5	43,4	69,1	61,1	5,78	<0,001	0,259	0,658
Citrat	65,3	131	40,7	32,1	36,5	132	7,41	7,04	8,31	0,047	<0,001	0,007
Calciumoxalat RSS	4,27	4,98	5,09	5,28	3,32	3,87	9,43	8,52	0,66	0,521	0,218	0,900
Struvit RSS	3,10	4,20	1,34	4,89	0,47	1,25	0,06	0,30	0,39	<0,001	0,023	0,039

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p<0,05$

Tabelle 41: Anionen und Kationen gemessen im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Natrium	0,712	0,685	0,772	0,788
Kalium	0,130	0,519	0,058	0,614
Ammonium	0,889	0,276	0,940	0,982
Magnesium	0,944	0,610	0,057	0,727
Calcium	0,435	0,563	0,092	0,968
Chlorid	0,827	0,942	0,081	0,498
Sulfat	0,624	0,776	0,410	0,462
Phosphat	0,190	0,904	0,353	0,891
Oxalat	0,269	0,956	0,539	0,894
Citrat	0,988	0,857	0,002	0,790
Calciumoxalat				
RSS	0,488	0,535	0,221	0,692
Struvit RSS	0,605	0,283	0,354	0,773

#### 4.8.3 Korrelation zwischen der Futteraufnahme und Harnkonzentrationen der Mineralstoffe

Die Analyse der acht Diäten ergab unterschiedliche Konzentrationen an Mineralstoffen.

Für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Mineralstoffkonzentrationen im Harn wurde die Futteraufnahme pro kg Körpermasse mit der Harnanalyse verglichen (Tabelle 42). Für die Konzentration von Kalium im Harn ( $p < 0,001$ ) ergab sich eine Abhängigkeit von der Aufnahme über das Futter.

Tabelle 42: Regressionsgleichung mit der abhängigen Variablen gemessener Gehalt der Mineralstoffe im Urin ( $\mu\text{g/ml}$ ), unabhängige Variable Mineralstoffaufnahme über das Futter ( $\text{mg/kg}$  Körpermasse)

	Abhängige Variable: Konzentration der Mineralstoffe im Urin		
	p-Werte	Konstante	b1
Calcium	0,200	13,7	0,13
Phosphor	0,714	2740	1,95
Magnesium	0,734	96,9	-0,15
Kalium	<0,001	713	11,9
Natrium	0,054	195	11,8

#### 4.8.4 Konzentration von Phenolen und Indol im Harn

Die Ergebnisse der Indol- und Phenolkonzentrationen im Harn sowie die Interaktionen zwischen den drei Faktoren in den Diäten sind in Tabelle 43 und Tabelle 44 dargestellt.

Die Proteinquelle zeigte einen signifikanten Einfluss ( $p=0,027$ ) auf die gemessene Indolkonzentration. Die Diät WG 1.5 induzierte eine geringfügig höhere Konzentration im Vergleich zu den anderen Diätvariationen, die bei  $0,1 \mu\text{mol/g}$  lagen.

Tabelle 43: Indol und Phenol ( $\mu\text{mol/g}$  ursprüngliche Substanz) im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen,  $n=10$

	Diät								SEM	p-Werte		
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5		Koh	Prot	Dos
Phenol	0,04	0,02	0,04	0,06	0,04	0,04	0,05	0,07	0,00	0,349	0,050	0,509
Indol	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,00	0,253	0,027	0,165

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p<0,05$

Tabelle 44: Indol und Phenol im Urin nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen,  $n=10$

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Phenol	0,774	0,555	0,090	0,606
Indol	0,646	1,000	0,888	0,092

## 4.9 Untersuchungen der Parameter im Blut

### 4.9.1 Blutbild

In Tabelle 45 ist das Blutbild der Hunde dargestellt, die Wechselwirkungen der drei Faktoren Kohlenhydrate, Proteinart und Proteinanteil finden sich in Tabelle 46. Die Proteinquellen führten nur zu geringen Veränderungen der Blutwerte. Es zeigten sich bei weitgehender Konstanz der untersuchten Parameter ein Unterschied hinsichtlich der Proteinart im Futter bei der Thrombozytenverteilungsbreite (PDW) und dem mittleren Thrombozytenvolumen (MPV) ( $p < 0,001$ ). Nach Gabe der Diäten mit den pflanzlichen Proteinquellen waren die höchsten Werte festzustellen. Bei Verabreichung pflanzlicher Proteinquellen wurde ein Anstieg der eosinophilen Granulozyten beobachtet ( $p < 0,001$ ), während die Gabe tierischer Proteine mit geringeren Konzentrationen verbunden war. Eine Wechselwirkung ergab sich hinsichtlich Proteinart und Proteinkonzentration im Futter nur bei den eosinophilen Granulozyten ( $p = 0,025$ ). Gruppenunterschiede ergaben sich insbesondere zwischen den Diätvarianten WEB1.5 mit den höchsten Konzentrationen und den Diätphasen WG1.5 und QG1.5 mit den niedrigsten Werten. Die Konzentrationen eosinophiler Granulozyten lagen in den übrigen Versuchsperioden zwischen diesen beiden Diätphasen.

Tabelle 45: Blutbild der Hunde nach Fütterung mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

		Diät								SEM	p-Werte		
		QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5		Koh	Prot	Dos
WBC <sup>1</sup>	G/l	8,21	8,66	8,91	7,86	8,03	8,88	8,77	8,38	0,21	0,869	0,951	0,759
RBC <sup>2</sup>	T/l	7,27	7,06	7,22	7,42	7,35	7,44	7,32	7,45	0,07	0,161	0,831	0,476
HGB <sup>3</sup>	g/dl	16,8	16,4	16,7	17,4	17,1	17,3	17,2	17,4	0,18	0,095	0,959	0,452
HCT <sup>4</sup>	%	48,0	46,9	47,4	46,2	48,7	49,3	48,2	48,5	0,57	0,106	0,374	0,973
MCV <sup>5</sup>	fl	64,1	66,5	65,8	66,1	66,4	66,2	65,9	65,3	0,33	0,624	0,673	0,608
MCH <sup>6</sup>	pg	23,2	23,5	23,2	23,4	23,3	23,4	23,5	23,3	0,08	0,752	0,990	0,650
MCHC <sup>7</sup>	g/dl	35,1	35,0	35,2	35,5	35,1	33,9	35,6	36,0	0,19	0,877	0,070	0,582
PLT <sup>8</sup>	G/l	257	269	299	279	270	222	306	260	9,60	0,651	0,113	0,086
PDW <sup>9</sup>	fl	12,6	12,8	11,2	11,5	13,1	13,2	11,6	11,3	0,22	0,642	<0,001	0,621
MPV <sup>10</sup>	fl	10,8	10,7	9,94	9,91	11,0	11,0	10,0	9,88	0,11	0,805	<0,001	0,850
PCT <sup>11</sup>	%	0,28	0,28	0,31	0,27	0,28	0,26	0,30	0,25	0,01	0,897	0,973	0,166
Neut <sup>12</sup>	G/l	4,82	4,97	5,55	4,63	4,47	4,92	5,23	5,01	0,15	0,660	0,319	0,474
Lymph <sup>13</sup>	G/l	2,40	2,45	2,58	2,53	2,33	2,40	2,73	2,70	0,07	0,438	0,232	0,883
Mono <sup>14</sup>	G/l	0,35	0,34	0,36	0,36	0,34	0,36	0,39	0,40	0,01	0,510	0,093	0,915
Eo <sup>15</sup>	G/l	0,62 <sup>bcd</sup>	0,99 <sup>ab</sup>	0,40 <sup>cd</sup>	0,33 <sup>d</sup>	0,88 <sup>abc</sup>	1,19 <sup>a</sup>	0,40 <sup>cd</sup>	0,25 <sup>d</sup>	0,05	0,433	<0,001	0,279
Baso <sup>16</sup>	G/l	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,926	0,001	0,030
RET <sup>17</sup>	%	0,72	0,74	0,93	0,79	0,80	0,89	0,84	0,65	0,05	0,917	0,352	0,851
IRF <sup>18</sup>	%	17,4	16,88	20,04	18,93	19,61	19,79	18,33	17,15	0,81	0,787	0,698	0,796
LFR <sup>19</sup>	%	82,6	83,12	79,96	71,37	80,39	80,21	81,67	82,85	1,28	0,470	0,516	0,293
MFR <sup>20</sup>	%	10,4	10,81	12,98	11,74	11,82	12,10	11,22	10,60	0,61	0,828	0,600	0,719
HFR <sup>21</sup>	%	7,04	6,07	7,07	6,17	7,79	7,39	7,11	6,55	0,46	0,728	0,880	0,705

WBC<sup>1</sup>=Weiße Blutzellen, RBC<sup>2</sup>=Rote Blutzellen, HGB<sup>3</sup>=Hämoglobin, HCT<sup>4</sup>=Hämatokrit, MCV<sup>5</sup>=Mittleres Zellvolumen, MCH<sup>6</sup>=Mittlerer korpuskulärer Hämoglobinkoeffizient, MCHC<sup>7</sup>=Mittlere Hämoglobinkonzentration, PLT<sup>8</sup>=Thrombozyten, PDW<sup>9</sup>=Thrombozytenverteilungsbreite, MPV<sup>10</sup>=Mittleres Thrombozytenvolumen, PCT<sup>11</sup>=Procalcitonin, Neut<sup>12</sup>=Neutrophile Granulozyten, Lymph<sup>13</sup>=Lymphozyten, Mono<sup>14</sup>=Monozyten, Eo<sup>15</sup>=eosinophile Granulozyten, Baso<sup>16</sup>=Basophile

Granulozyten, RET<sup>17</sup>=Reticulozyten, IRF<sup>18</sup>=Reticulozytenreifeindex, LFR<sup>19</sup>=Low Fluorescence Ratio, MFR<sup>20</sup>=Medium Fluorescence Ratio, HFR<sup>21</sup>=High Fluorescence Ratio

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p < 0,05$

Tabelle 46: Blutbild der Hunde nach Fütterung mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
WBC <sup>1</sup>	0,966	0,676	0,215	0,559
RBC <sup>2</sup>	0,492	0,675	0,412	0,339
HGB <sup>3</sup>	0,380	0,837	0,404	0,281
HCT <sup>4</sup>	0,868	0,485	0,905	0,795
MCV <sup>5</sup>	0,292	0,189	0,198	0,399
MCH <sup>6</sup>	0,933	0,345	0,613	0,940
MCHC <sup>7</sup>	0,204	0,441	0,108	0,350
PLT <sup>8</sup>	0,846	0,252	0,646	0,417
PDW <sup>9</sup>	0,476	0,908	0,965	0,949
MPV <sup>10</sup>	0,407	0,748	0,931	0,915
PCT <sup>11</sup>	0,367	0,497	0,334	0,637
Neut <sup>12</sup>	0,844	0,513	0,281	0,460
Lymph <sup>13</sup>	0,890	0,955	0,816	0,797
Mono <sup>14</sup>	0,463	0,900	0,868	0,821
Eo <sup>15</sup>	0,270	0,577	0,025	0,946
Baso <sup>16</sup>	0,050	0,502	0,726	0,719
RET <sup>17</sup>	0,118	0,695	0,582	0,701
IRF <sup>18</sup>	0,155	0,809	0,974	0,894
LFR <sup>19</sup>	0,077	0,459	0,362	0,330
MFR <sup>20</sup>	0,173	0,767	0,879	0,972
HFR <sup>21</sup>	0,739	0,845	0,927	0,864

WBC<sup>1</sup>=Weiße Blutzellen, RBC<sup>2</sup>=Rote Blutzellen, HGB<sup>3</sup>=Hämoglobin, HCT<sup>4</sup>=Hämatokrit, MCV<sup>5</sup>=Mittleres Zellvolumen, MCH<sup>6</sup>=Mittlerer korpuskulärer Hämoglobinkoeffizient, MCHC<sup>7</sup>=Mittlere Hämoglobinkonzentration, PLT<sup>8</sup>=Thrombozyten, PDW<sup>9</sup>=Thrombozytenverteilungsbreite, MPV<sup>10</sup>=Mittleres Thrombozytenvolumen, PCT<sup>11</sup>=Procalcitonin, Neut<sup>12</sup>=Neutrophile Granulozyten, Lymph<sup>13</sup>=Lymphozyten, Mono<sup>14</sup>=Monozyten, Eo<sup>15</sup>=eosinophile Granulozyten, Baso<sup>16</sup>=Basophile

Granulozyten, RET<sup>17</sup>=Reticulozyten, IRF<sup>18</sup>=Reticulozytenreifeindex, LFR<sup>19</sup>=Low Fluorescence Ratio, MFR<sup>20</sup>=Medium Fluorescence Ratio, HFR<sup>21</sup>=High Fluorescence Ratio

#### 4.9.2 Klinisch-chemische Parameter

Die Harnstoffkonzentration wurde von dem Gehalt an Protein im Versuchsfutter deutlich ( $p < 0,001$ ) beeinflusst (Tabelle 47). Ebenso, nur in einem geringen Umfang, die Albuminkonzentration ( $p = 0,004$ ). Ein erhöhter Proteingehalt in der Diät führte zu einem geringfügigen Anstieg der Albuminkonzentration im Blut und zu einem deutlich ausgeprägteren Anstieg des Harnstoffgehalts. Ein geringer Anstieg der Albuminkonzentrationen war nach Gabe der weizenhaltigen Diäten zu verzeichnen ( $p = 0,048$ ). Die zwei unterschiedlichen Kohlenhydratquellen wirkten sich signifikant auf die Aktivität der Alanin-Aminotransferase ( $p = 0,017$ ) und auf die Konzentration des Bilirubins ( $p = 0,031$ ) aus. Bei Verwendung von Quinoa stieg die Aktivität der Alanin-Aminotransferase im Vergleich zu den weizenhaltigen Diäten an, weiterhin waren bei Gabe von Quinoa auch höhere Bilirubinkonzentrationen festzustellen. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase erhöhte sich bei Gabe von Quinoa im Vergleich zu den weizenhaltigen Diäten ( $p = 0,030$ ) und bei höherem Proteingehalt im Futter niedriger als bei bedarfsgerechter Versorgung ( $p < 0,001$ ). Eine Wechselwirkung zeigte sich zwischen den in der Diät enthaltenen Kohlenhydraten und der Proteinart ( $p < 0,001$ ).

Die höchsten Aktivitäten der alkalischen Phosphatase waren nach Gabe der Diät QG1 festzustellen, die niedrigsten nach Gabe von WG1.5, WEB1.5 und QEB1.5. In allen Versuchsdurchgängen fielen reduzierte Aktivitäten bei Gabe der Diäten mit den höheren Proteinmengen auf, allerdings war diese Reduktion nicht abzusichern (Tabelle 48).

Tabelle 47: Klinisch-chemische Parameter der Hunde nach Fütterung mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

		Diät										p-Werte	
		QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5	SEM	Koh	Prot	Dos
Harnstoff	mmol/l	3,96	5,63	3,32	4,67	4,14	5,5	4,11	5,27	0,14	0,085	0,057	<0,001
Kreatinin	µmol/l	52,4	50,7	49,7	56,7	56,1	55,1	57,2	54,1	0,88	0,071	0,714	0,909
Protein	g/l	60,8	61,7	60,4	64,0	62,2	61,3	62,0	62,0	0,51	0,419	0,845	0,207
Albumin	g/l	31,5	32,1	31,2	32,7	31,6	32,1	32,6	33,6	0,18	0,048	0,179	<b>0,004</b>
Calcium	mmol/l	2,64	2,59	2,56	2,64	2,61	2,57	2,68	2,65	308	0,251	0,249	0,25
Phosphor	mmol/l	1,24	1,29	1,11	1,23	1,18	1,30	1,16	1,11	0,02	0,368	0,063	0,281
Natrium	mmol/l	147	145	147	147	147	147	148	147	0,30	0,244	0,457	0,439
Kalium	mmol/l	3,95	4,08	3,95	7,36	4,16	4,11	3,92	3,96	0,42	0,4	0,441	0,321
Magne- sium	mmol/l	0,86	0,88	0,83	0,86	0,88	0,90	0,89	0,85	0,01	0,07	0,12	0,503
ALT <sup>1</sup>	U/l	98,9	86,8	110	67,4	78,4	65,7	48,7	55,3	5,77	<b>0,017</b>	0,289	0,126
AP <sup>2</sup>	U/l	148 <sup>ab</sup>	100 <sup>b</sup>	199 <sup>a</sup>	135 <sup>ab</sup>	151 <sup>ab</sup>	96,5 <sup>b</sup>	135 <sup>ab</sup>	90,7 <sup>b</sup>	6,30	<b>0,03</b>	0,176	<0,001
AST <sup>3</sup>	U/l	27,3	31,3	28,7	26,5	25,8	31,3	23,4	24,9	0,85	0,197	<b>0,05</b>	0,194
Bilirubin	µmol/l	1,92	1,68	1,93	1,74	1,56	1,32	1,70	1,70	0,06	<b>0,031</b>	0,155	0,107

ALT<sup>1</sup>=Alanin-Aminotransferase, AP<sup>2</sup>=Alkalische Phosphatase, AST<sup>3</sup>=Aspartat-Aminotransferase

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Reihe unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test, p<0,05

Tabelle 48: Klinisch-chemische Parameter der Hunde nach Fütterung mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Harnstoff	0,203	0,551	0,488	0,926
Kreatinin	0,541	0,172	0,318	0,215
Protein	0,809	0,062	0,221	0,554
Albumin	0,224	0,594	0,144	0,801
Calcium	0,252	0,250	0,252	0,251
Phosphor	0,681	0,451	0,794	0,180
Natrium	0,767	0,568	0,615	0,467
Kalium	0,308	0,333	0,362	0,371
Magnesium	0,395	0,264	0,209	0,414
ALT <sup>1</sup>	0,502	0,262	0,809	0,331
AP <sup>2</sup>	<b>0,001</b>	0,553	0,541	0,371
AST <sup>3</sup>	0,725	0,466	0,297	0,981
Bilirubin	0,334	0,640	0,649	0,662

ALT<sup>1</sup>=Alanin-Aminotransferase, AP<sup>2</sup>=Alkalische Phosphatase, AST<sup>3</sup>=Aspartat-Aminotransferase

### 4.9.3 Aminosäuren

Die unterschiedlichen Kohlenhydrate in den Diäten beeinflussten die Aminosäurenkonzentrationen im Serum nur marginal. Wurden die Diäten mit Weizen gefüttert, zeigten sich im Vergleich zu den Diäten mit Quinoa höhere Serinkonzentrationen ( $p=0,026$ ). Auch bei Betrachtung der unterschiedlichen Proteinquellen waren nur geringfügige Effekte auf die Aminosäurenkonzentrationen im Serum der Hunde festzustellen. Während bei Fütterung der tierischen Proteinquelle die höchsten Konzentrationen an Glycin ( $p<0,004$ ) und Alanin ( $p=0,023$ ) zu verzeichnen waren, traten nach Aufnahme der pflanzlichen Diäten höhere Konzentrationen an Asparagin auf ( $p=0,030$ ). Ein höherer Proteinanteil in der Diät reduzierte die Konzentration von Citrullin ( $p=0,028$ ) und Ornithin ( $p=0,018$ ).

Die vorgestellten Ergebnisse der Aminosäurekonzentrationen im Serum bzw. Plasma sind in Tabelle 49 abgebildet. Die Interaktionen zwischen den Faktoren Kohlenhydratquelle, Proteinart sowie Proteindosierung sind in Tabelle 50 dargestellt.

Tabelle 49: Aminosäurenkonzentrationen (nmol/ml) im Serum nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, n=10

	Diät								SEM	p-Werte		
	QEB1	QEB1.5	QG1	QG1.5	WEB1	WEB1.5	WG1	WG1.5		Koh	Prot	Dos
Alanin	389	361	552	489	517	414	536	475	18,2	0,322	<b>0,023</b>	0,147
Arginin	147	152	170	172	157	147	150	147	5,57	0,429	0,850	0,818
Asparagin	13,6	18,3	14,1	15,5	19,3	17,6	15,2	14,8	0,60	0,297	<b>0,030</b>	0,262
Asparaginsäure	15,9	20,3	20,4	20,9	26,8	20,4	19,2	18,9	1,02	0,321	0,873	0,842
Citrullin	79,0	71,0	88,7	85,1	96,4	70,1	93,0	71,3	3,26	0,560	0,597	<b>0,028</b>
Cystin	0,68	0,36	0,90	0,67	1,22	0,58	0,80	0,20	0,19	0,828	0,805	0,234
Glutamin	195	251	277	287	299	274	334	245	14,6	0,274	0,262	0,832
Glutaminsäure	67,1	85,6	92,2	78,2	108	84,0	86,8	74,9	4,39	0,267	0,841	0,592
Glycin	112	140	155	183	153	141	170	188	5,84	0,149	<b>0,004</b>	0,089
Histidin	64,8	76,8	72,4	70,8	80,1	77,2	74,8	71,3	1,95	0,261	0,555	0,633
Isoleucin	58,3	62,5	67,4	72,4	80,3	70,2	73,4	72,8	2,21	<b>0,059</b>	0,581	0,866
Leucin	107	129	128	137	156	138	137	138	4,27	0,063	0,801	0,635
Lysin	147	171	183	160	187	168	148	149	6,40	0,98	0,479	0,87
Methionin	35,3	38,6	44,2	43,5	44,9	39,8	50,1	43,5	1,53	0,225	0,088	0,622
Ornithin	13,0	11,9	18,1	13,6	17,3	12,2	16,0	11,8	0,70	0,807	0,545	<b>0,018</b>
Phenylalanin	47,9	59,3	56,9	49,6	57,9	54,3	48,2	50,8	1,94	0,949	0,483	0,818
Prolin	86,4	77,1	111	94,6	117	83,0	75,5	92,4	4,83	0,865	0,663	0,162
Serin	77,3	102	92,8	106	110	99,9	112	120	3,86	<b>0,026</b>	0,279	0,12
Taurin	182	240	250	242	256	246	236	230	11,1	0,296	0,842	0,426
Threonin	134	164	153	161	169	166	145	152	6,23	0,701	0,587	0,39
Tryptophan	36,4	56,8	47,3	49,4	56,2	56,5	48,4	39,1	2,52	0,344	0,152	0,417
Tyrosin	33,1	42,5	34,7	34,7	44,4	43,5	36,4	38,1	1,39	0,108	0,114	0,344
Valin	133	161	170	178	187	166	179	183	5,34	0,119	0,156	0,645

Mittelwerte mit unterschiedlichen Indices in einer Zeile unterscheiden sich signifikant, Tukey-Test,  $p < 0,05$

Tabelle 50: Aminosäuren (nmol/ml) gemessen im Serum nach Fütterung der Hunde mit zwei unterschiedlichen Kohlenhydraten sowie tierischen und pflanzlichen Proteinen in unterschiedlichen Dosierungen, Darstellung der Interaktionen, n=10

	p-Werte			
	Koh x Prot	Koh x Dos	Prot x Dos	Koh x Prot x Dos
Alanin	0,089	0,664	0,873	0,438
Arginin	0,216	0,806	0,655	0,828
Asparagin	0,231	0,223	0,684	0,437
Asparaginsäure	0,122	0,147	0,980	0,270
Citrullin	0,240	0,155	0,715	0,980
Cystin	0,372	0,734	0,996	0,946
Glutamin	0,468	0,100	0,436	0,946
Glutaminsäure	0,263	0,191	0,457	0,336
Glycin	0,642	0,292	0,481	0,612
Histidin	0,470	0,327	0,404	0,491
Isoleucin	0,157	0,301	0,457	0,532
Leucin	0,166	0,141	0,714	0,244
Lysin	0,092	0,691	0,643	0,176
Methionin	0,636	0,332	0,619	0,822
Ornithin	0,115	0,519	0,751	0,490
Phenylalanin	0,457	0,598	0,408	0,141
Prolin	0,093	0,974	0,350	0,181
Serin	0,977	0,223	0,825	0,435
Taurin	0,253	0,454	0,362	0,721
Threonin	0,251	0,619	0,805	0,563
Tryptophan	0,085	0,150	0,167	0,759
Tyrosin	0,579	0,360	0,572	0,323
Valin	0,274	0,189	0,815	0,214

## 5 Diskussion

### 5.1 Versuchsdesign

Der Tierversuch wurde nach dem Prinzip des vollständigen lateinischen Quadrats zur Reduktion möglicher Zeit- und Umwelteinflüsse oder Verschleppungseffekte durch sich wiederholende Reihenfolgen von Diäten konzipiert (Kim und Kim 2010). Das Design des lateinischen Quadrats ermöglicht es, Effekte der Diäten zu isolieren und gleichzeitig den Einfluss von Variablen wie der Reihenfolge der Behandlung und anderen systematischen Fehlern zu minimieren (Edwards 2005). Im Hinblick auf die Studie konnten somit die Faktoren Kohlenhydratquelle, Proteinart und Proteindosierung in den acht Versuchsdiäten untersucht werden.

In der Literatur finden sich Angaben zu Adaptionsphasen in Fütterungsstudien mit Hunden von 7 Tagen (Zentek et al. 2004; Banton et al. 2021), 10 Tagen (Zentek et al. 2002; Reilly et al. 2021), 14 Tagen (Eisenhauer et al. 2019; Pezzali et al. 2020) sowie 28 Tagen (Pinna et al. 2018) und 30 Tagen (Kerr et al. 2013; Verde et al. 2023).

Für die Fütterungsphasen ließen sich Angaben von, 21 Tagen (Eisenhauer et al. 2019; Paßlack et al. 2021), 28 Tagen (Pezzali et al. 2020) und 30 Tagen (Bakke et al. 2022; Verde et al. 2023) finden.

In Anlehnung an die Literatur wurde für die vorliegende Studie eine vierwöchige Fütterungsphase mit einer zweiwöchigen Adaptionsphase festgelegt.

### 5.2 Versuchsdiäten

Die Analyse der acht Diäten entsprach weitgehend den der zuvor berechneten Diätzusammensetzungen. Für die Vergleichbarkeit der scheinbaren Verdaulichkeit und der gemessenen Harnkonzentrationen der Mineralstoffe wurde die Korrelation zwischen der Aufnahme der Mineralstoffe pro kg Körpermasse und der scheinbaren Verdaulichkeit bzw. Harnkonzentration untersucht. Hierbei ergaben sich deutliche Effekte der unterschiedlichen Mineralstoffaufnahmen, was in der Darstellung der Ergebnisse zu berücksichtigen ist.

### 5.3 Versuchstiere

Bei den zehn Versuchstieren handelte es sich um intakte weibliche Beagle. Die Hunde waren zum Zeitpunkt des Versuchs fünf Jahre alt und während des Versuchsverlaufs gesund, ausgenommen des gelegentlich vorkommenden Vomitus. Durch Anpassung der Fütterungszeiten wurde diesem entgegengewirkt.

## 5.4 Kotkonsistenz

Die Kotkonsistenz war unabhängig von den Diäten im Mittelwert bei Score 4, somit war der Kot während der Versuchsperiode geformt, trocken und nicht hart. Diese Beobachtung konnte in einer Studie, in der vegetarische Diäten mit oder ohne Federmehl und entweder Maismehl, fermentiertem Roggen oder Roggen verfüttert wurde, ebenfalls festgestellt werden (El-Wahab et al. 2021).

## 5.5 Untersuchung der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit

### 5.5.1 Untersuchungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Rohrnährstoffe

Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass die pflanzlichen Proteine eine höhere scheinbare Verdaulichkeit aufwiesen als das Protein tierischer Herkunft. Bei nahezu gleichem Proteingehalt in den Diäten, mit Ausnahme der Diätvarianten QG1 mit 237 g/kg TS und QG1.5 mit 339 g/kg TS, zeigten die Diäten WG1 und WG1.5 die niedrigste scheinbare Proteinverdaulichkeit im Gegensatz zu den Diätvariationen QEB1 und WEB 1.5 mit der höchsten scheinbaren Verdaulichkeit. Ebenso zeigten Diätvariationen mit Quinoa eine höhere scheinbare Verdaulichkeit der Proteine als weizenhaltige Diäten.

Die niedrigere Verdaulichkeit der Diäten WG1 und WG1.5 könnte auf die Variabilität des Nährstoffgehalts von Geflügelmehl zurückzuführen sein. Geflügelmehl wird durch Kochen, Pressen und Mahlen von Nebenprodukten der Geflügelschlachtung gewonnen. Die Nährstoffzusammensetzung variiert erheblich in Abhängigkeit vom Anteil der verwendeten tierischen Gewebe, der spezifischen Verarbeitungsverfahren (Vanelli et al. 2021) und Verarbeitungstemperatur sowie dem Gehalt an Rohasche (Yamka et al. 2003). Im Gegensatz dazu sind pflanzliche Proteinquellen in ihrer Zusammensetzung weniger variabel (Vanelli et al. 2021). In den Diäten wurden als pflanzliche Proteinquellen geschrotete Futtererbsen und Bohnenkonzentrate verwendet. Hülsenfrüchte enthalten einen hohen Anteil an unlöslichen und löslichen Faserstoffen. Die wichtigsten Ballaststoffbestandteile in Hülsenfrüchten sind Zellulose und Hemizellulose, während Pektin und Lignin in geringerer Konzentration enthalten sind (Khan et al. 2007). Während bei (Erbsen-) Konzentraten durch das Schälen der Gehalt an Rohfaser sowie einiger in der Schale vorhandener antinutritiver Faktoren, wie z. B. Tannine, verringert wird, sind Trypsin-inhibitoren und Lectine jedoch größtenteils in den Proteinkörpern des Keimblatts enthalten und werden daher durch das Schälen nicht entfernt (Frikha et al. 2013). Erbsenkonzentrate, die aus Erbsenmehlen mit hohem Proteingehalt (258 bis 278 g/kg TS) gewonnen wurden, wiesen niedrigere Gehalte an Stärke sowie unlöslichen Faserstoffen auf als Konzentrate aus Erbsen mit niedrigeren Proteingehalten (182 bis 209 g/kg TS) (Fenn et al. 2022).

## **Vergleich mit Studien zu pflanzlicher Ernährung beim Hund**

In einer vergleichbaren Studie von Ingenpass et al. (2021) wurden Diäten mit Geflügelmehl (19,5 %) und Geflügelfett (5,23 %) mit Diäten verglichen, die Reisprotein (8,81 %), Weizenglu-ten (8,81 %) und Sonnenblumenöl (6,84 %) enthielten. Beide Diätvariationen verwendeten dieselben Kohlenhydratquellen: Weizen, Bruchreis, Zuckerrübenschnitzel und Bierhefe. Zu-sätzlich enthielten sie Geschmacksverstärker (3 %), Zuckerrübenschnitzel (2,94 bis 3 %), Bier- hefe (2 %), Leinsamen (2 %) und Dicalciumphosphat (1,01 bis 3,24 %). Die Diät mit tierischen Proteinen wies einen höheren Rohproteingehalt (240 g/kg TS) als die Diät mit pflanzlichen Proteinen (222 g/kg TS) auf. Die Ergebnisse zeigten im Hinblick auf die scheinbare Verdaulichkeit von Rohprotein, Rohfett sowie der organischen Substanz im Gegensatz zu der hier vorgestellten Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den pflanzlichen und tierischen Proteinquellen. Dabei ist zu erwähnen, dass die Stichprobengröße auf n=6 gewählt wurde. In der hier vorgestellten Studie wurde festgestellt, dass die Fütterung mit pflanzlichen Proteinen sowie die Erhöhung des Proteingehalts zu einer verbesserten Verdaulichkeit von Rohfett führten.

Die scheinbare Verdaulichkeit von fünf pflanzlichen Proteinquellen (Kichererbsen, Linsen, Erd- nussmehl und Trockenhefe) wurde in einer weiteren Studie von Reilly et al. (2021) mit einer tierischen Proteinquelle (Geflügelmehl) verglichen. Um einen vergleichbaren Energie- und Nährstoffgehalt der sechs Futtersorten zu erhalten, wurden den pflanzlichen Futtersorten Gef- flügelmehl und Reis zugesetzt. Der Rohproteingehalt der Diätvarianten variierte zwischen 266 bis 312 g/kg TS, womit die Diäten einen höheren Proteingehalt aufwiesen als die vier Diäten mit moderaten Proteingehalt in dieser Studie. Die Diätvariation mit Erdnussmehl und auch die Kontrolldiät mit Geflügelmehl wiesen die höchste scheinbare Proteinverdaulichkeit auf (85,0 % bzw. 86,6 %). Die scheinbare Rohproteinverdaulichkeit der Diäten mit Kichererbsen (83,2 %) war vergleichbar mit derjenigen der Diätphasen mit Erbsen und Bohnen (84,5 % bis 81,7 %) in dieser Fütterungsstudie.

## **Vergleich mit Studien zu getreidefreier Ernährung beim Hund**

Eine Studie Bokshowan et al. (2023) verglich eine kommerziell erhältliche Diät mit einer ge- treidefreien Diät (30 % Erbsen), einer getreidehaltigen Diät (30 % Reis) und einer Diät, die mit Oligosacchariden (1 % Raffinose) ergänzt wurde. Die Diäten enthielten Schweinefleisch- und Knochenmehl (21 bis 30 %), Fischmehl (10 %) sowie Kartoffelmehl (18 bis 28 %), sodass der Nährstoffgehalt vergleichbar war. Der Rohproteingehalt der Futtermischungen lag im Bereich von 304 bis 312 g/kg TS. Die getreidefreie Diät hatte mit 18,9 g/kg TS den höchsten Rohfa- seranteil im Vergleich zur getreidehaltigen Diät mit einem Gehalt von 3,30 g/kg TS. Es waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich der scheinbaren Verdaulichkeit von Rohprotein, Rohfett und Nicht-Faser-Kohlenhydraten feststellbar (Bokshowan et al. 2023). Ein möglicher

Grund für Unterschiede in der scheinbaren Verdaulichkeit von Proteinquellen könnte sein, dass nicht nur die Faserkomponenten, sondern auch die anderen Kohlenhydrate die scheinbare Gesamtverdaulichkeit der Nährstoffe beeinflussen (Zentek 1996). Dies zeigte sich auch in den Ergebnissen der eigenen Studie anhand der Wechselwirkungen der zwei unterschiedlichen Kohlenhydratarten auf die scheinbare Verdaulichkeit von Rohasche, Rohfett und Rohfaser.

Eine Untersuchung zur getreidefreien und getreidehaltigen Ernährung beim Hund kam ebenfalls zu der Schlussfolgerung, dass die Fütterung mit oder ohne Getreide keinen Einfluss auf die scheinbare Verdaulichkeit von Rohprotein hat. Die getreidehaltige Diät basierte auf Sorghum (16,9 %), Hirse (16,9 %) und Dinkel (16,9 %), die getreidefreie Diät auf Kartoffeln (16,9 %), Erbsen (26,4 %) und Tapiokastärke (7,35 %). Beide Diäten enthielten hydrolysiertes Schweineprotein (42,2 %), Geflügelfett (4 %), Fischöl (0,12 %) sowie eine Vormischung mit Mineralstoffen und Vitaminen. Die Diäten wurden mit Taurin (0,12 %) ergänzt. Die Futtermittel wurden so zusammengestellt, dass sie den Proteinbedarf und den Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren erwachsener Hunde abdecken. Die getreidefreie Diät hatte einen Rohprotein Gehalt von 377 g/kg TS und die getreidehaltige Diät einen Gehalt von 373 g/kg TS (Pezzali et al. 2020).

In beiden der vorgestellten Studien zur getreidefreien Ernährung beim Hund lag der Proteingehalt der verwendeten Diäten zwar höher als in der hier vorgestellten Arbeit, die Proteingehalte der Diäten innerhalb der Studien waren dafür vergleichbar. In der hier vorgestellten Studie hatten die Fütterung mit und ohne Getreideanteil einen Einfluss auf die Proteinverdaulichkeit im Gegensatz zu den vorgestellten Studien.

Sechs extrudierte Futtermittel mit unterschiedlichen Kohlenhydratquellen (Cassava-Mehl, Naturreis, Mais, Sorghum, Erbsen und Linsen) basierend auf Geflügelmehl, isoliertem Sojabohnenprotein, Geflügelfett, getrocknetem Vollei, Sojaschalen, Biertrockenhefe und hydrolysiertes Rinderleber wurden im Rahmen einer Fütterungsstudie bei Hunden untersucht (Carciofi et al. 2008). Die scheinbare Verdaulichkeit des Rohproteins ergab bei der Verwendung von Diäten mit Reis oder Mais die höchsten Proteinverdaulichkeiten (89 % und 86 %) im Vergleich zu Diätvarianten mit Erbsen oder Linsen mit der niedrigsten scheinbaren Verdaulichkeit (83,4 % und 79,9 %). Bei den Ergebnissen ist zu beachten, dass die Diäten unterschiedliche Rohprotein Gehalte (283 bis 371 g/kg TS) aufwiesen, die tägliche Proteinzufuhr (4,1 bis 5,9 g/kg Körpermasse pro Tag) über die Diäten allerdings vergleichbar war. Die niedrigere Verdaulichkeit der Erbsenproteine wurde damit begründet, dass der Anteil an löslichen Ballaststoffen bei Erbsen höher ist. Ebenfalls führten Diäten mit Erbsen und Linsen zu einer herabgesetzten Stärkeverdaulichkeit sowie zu einem weniger geformten Kot und einem niedrigeren pH-Wert der Fäzes. Dies führte zur Annahme, dass ein höherer Anteil an Kohlenhydraten in den Dickdarm

gelangte (Carciofi et al. 2008). In der hier vorgestellten Arbeit führten die Diätvariationen mit Erbsen und Bohnen ebenfalls zu einem niedrigeren pH-Wert der Fäzes, die Kotkonsistenz war bei allen Diätvariationen gut geformt und trocken (Twomey et al. 2002; Carciofi et al. 2008).

In einer weiteren Untersuchung der Kohlenhydratquellen zeigten Traughber et al. (2021), dass eine Diätvariation mit Quinoa eine scheinbare Proteinverdaulichkeit von > 80% bei einem Rohproteingehalt von 314 g/kg Trockensubstanz aufwies. Die untersuchten Diäten enthielten 40 % der fünf Kohlenhydratquellen (Reis, Amaranth, weiße Rispenhirse, Quinoa und Haferflocken) auf Basis von Geflügelmehl und Geflügelfett. Zur Vergleichbarkeit der Diäten untereinander wurden die Diätvariationen teilweise mit Reismehl, Zellulose, Mais und Maisklebermehl ergänzt. Der Rohproteingehalt der einzelnen Diäten lag zwischen 313 und 331 g/kg TS. Der Rohproteingehalt der Diät mit Quinoa war höher als in der hier vorgestellten Arbeit (QEB1 248 g/kg TS, QG1 237 g/kg TS), die scheinbare Verdaulichkeit der Diätvariante QEB1 wäre mit 84,5 % vergleichbar. Jedoch wies die Diät QG1 eine niedrigere Verdaulichkeit (79,4 %) auf.

Die hier präsentierten Studien ergaben, dass es nur geringfügige Unterschiede in der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit zwischen einer pflanzenbasierten Ernährung im Vergleich zu einer fleischhaltigen oder zwischen getreidehaltigen und getreidefreien Ernährungsformen gab. Allerdings geben die Gesamtverdaulichkeitswerte keinen Aufschluss über die präzäkale Nährstoffverdaulichkeit. Diese kann erheblich variieren, wird jedoch aus methodischen Gründen kaum noch untersucht (Zentek 2022).

### **Vergleich mit Studien zu höheren Proteinkonzentrationen in der Hundeernährung**

Nach den Ergebnissen dieser Studie führte ein höherer Proteingehalt zu einer höheren scheinbaren Verdaulichkeit des Rohproteins. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch eine Untersuchung, in welcher zwei unterschiedliche Proteinkonzentrationen (20 % und 40 %) in Kombination mit unterschiedlichen Faserquellen gefüttert wurden (Eisenhauer et al. 2019).

Die Begründung könnte unter anderem an der relativ weniger ins Gewicht fallenden endogenen Sekretion liegen (Zentek 2022).

### **Einflüsse auf die Verdaulichkeit pflanzlicher Protein- und Kohlenhydratquellen**

Ein weiterer Faktor, der zur Verdaulichkeit von pflanzlichen Protein- und Kohlenhydratquellen beiträgt, ist der Prozess der Stärkeverkleisterung während der Futterherstellung beispielsweise durch Extrusion (Pacheco et al. 2018) oder sonstige Erhitzung (Ratnayake und Jackson 2008). In der hier vorgestellten Studie wurde das Futter mit einem Dampfgarer für 20 Minuten bei 100 °C behandelt, sodass bei dem Kochvorgang im Dampfgarer auch von einer Verkleisterung der Stärke auszugehen ist, womit die Stärke gut verdaulich war. Das in dieser Studie verwendete Futter wurde bereits 2 bis 3 Tage im Voraus vorbereitet. Dazu wurde es nach dem

Dampfgaren abgekühlt und anschließend für 2 bis 3 Tage bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. Während dieses Abkühlprozesses kann sich die Stärke zu einer geordneten und stabilen Struktur anordnen und es bildet sich retrogradierte Stärke (Wang et al. 2015). Die Verdaulichkeit nimmt mit steigendem Grad der Retrogradation ab. Retrogradierte Stärke enthält einen Teil resistenter Stärke, die vom Dünndarm schlecht absorbiert wird, aber von der Darmmikrobiota im Dickdarm fermentiert werden kann, wodurch kurzkettige Fettsäuren und Milchsäure gebildet werden (Zeng et al. 2017).

Ein weiterer Einfluss auf die Verdaulichkeit könnten auch antinutritive Substanzen haben, die insbesondere in den pflanzlichen Protein- aber auch in Kohlenhydratquellen enthalten sind. In der Literatur ist beschrieben, dass durch die Behandlung mit Wasserdampf hitzeempfindliche antinutritive Faktoren wie Urease, Trypsininhibitoren, Lipoxygenase und Lectine reduziert werden (Van Der Poel et al. 1990; Qin et al. 1996; Khokhar und Apenten 2003; Soetan und Oyewole 2009; Kong et al. 2022; Sharma et al. 2022). Zudem wird der Saponingehalt in Quinoa durch das feuchte Erhitzen reduziert (Sharma et al. 2022). Daher kann davon ausgegangen werden, dass das 20minütige Dampfgaren bei 100 °C den Gehalt an antinutritiven Substanzen so weit verringerte, dass sie die Verdauung nicht beeinträchtigen. Die Diätvariationen mit Weizen und Geflügelmehl zeigten eine scheinbare Proteinverdaulichkeit von 76,6 % bzw. 79,2 %, die pflanzlichen Proteinquellen hatten offenbar nach der thermischen Behandlung eine gute Eignung als Futterkomponente.

### 5.5.2 Untersuchungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Mineralstoffe

Da die acht Versuchsdiäten unterschiedliche Konzentrationen und unterschiedliche scheinbare Verdaulichkeiten an Mineralien aufzeigten, wurde der Einfluss der unterschiedlichen Mineraliengehalte im Futter auf die scheinbare Verdaulichkeit mit Hilfe einer Regressionsanalyse untersucht. Zur genaueren Analyse wurde die tatsächliche Mineralstoffaufnahme über das Futter in mg pro kg Körpermasse berechnet.

Für die scheinbare Verdaulichkeit von Kalium ( $p < 0,001$ ), Magnesium ( $p < 0,001$ ) und Natrium ( $p = 0,003$ ) hatte der unterschiedliche Mineraliengehalte in den acht Diäten einen Einfluss. Die scheinbare Verdaulichkeit der Mengenelemente Calcium, Phosphor, Magnesium und Natrium sowie der Spurenelemente Kupfer und Zink zeigten sich für die acht Diäten uneinheitlich.

Der unterschiedliche Fasergehalt, der auf die zwei Kohlenhydratquellen zurückzuführen ist, könnte für die unterschiedliche Verdaulichkeit von Bedeutung sein (Zentek 1996). Die statistische Untersuchung zeigte für die scheinbare Verdaulichkeit der Mineralien Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Kohlenhydrat, Proteinart und Proteinkonzentration. Bei generauer Untersuchung der Interaktionen viel auf, dass vor allem Diätvariationen mit Quinoa die höhere Verdaulichkeit der Mineralien zeigten.

Des Weiteren können antinutritive Faktoren, die in pflanzlichen Futtermitteln enthalten sind, die Verdaulichkeit der Nährstoffe beeinträchtigen. Die in Getreide und Hülsenfrüchten enthaltene Phytinsäure kann sich negativ auf die Verwertung von Phosphor und Spurenelementen auswirken (Ruales und Nair 1993; Schlemmer et al. 2009). Die vorliegende Studie ergab, dass sowohl Diäten mit Quinoa als auch solche mit Erbsen und Bohnen im Vergleich zu Diätvarianten mit Weizen oder Geflügelmehl sogar eine erhöhte scheinbare Verdaulichkeit der Mineralien aufwiesen. Die Behandlung des Versuchsfutters mit Wasserdampf reduzierte vermutlich den Phytinsäuregehalt, was zumindest eine mögliche Erklärung für den geringen Einfluss auf die Mineralstoffverdaulichkeit wäre (Liu et al. 2019).

## 5.6 Untersuchungen der intestinalen Mikrobiota und Kotbeschaffenheit

### 5.6.1 Ammonium, D/L-Laktat, Phenol und Indol

#### **Ammonium**

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten, dass tierische Proteine im Futter die Ammoniumkonzentration in den Fäzes erhöhen. Darüber hinaus führte eine erhöhte Proteinzufuhr über die Diäten zu einer höheren Ammoniumkonzentration.

In wässriger Lösung liegt Ammoniak basisch vor und bildet zusammen mit einem Ammoniumion die reversible Reaktion  $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{NH}_4^+$ . Liegt der pH-Wert der Lösung  $< 9,3$  werden Wasserstoffionen in Ammoniak eingebaut, wobei Ammonium entsteht. Freie Ammoniumionen entstehen durch den Proteinabbau, unter anderem durch den Abbau von Purin- und Pyrimidinderivaten und durch die Desaminierung von Aminosäuren wie Glutamin, Asparagin, Serin, Threonin, Glycin, Histidin, Homocystein und Cystathion (Adeva et al. 2012). Proteine, die nicht im Dünndarm verdaut werden, werden im Dickdarm mikrobiell fermentiert und es entstehen Ammoniak und biogene Amine als unerwünschte Endprodukte (Zentek 2022).

Eine erhöhte Proteinzufuhr (400 g/kg TS) führte im Vergleich zu einer moderaten Proteinzufuhr (200 g/kg TS) zu einer gesteigerten Ammoniumkonzentration in den Fäzes. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass Ammoniak als Endprodukt des Proteinabbaus durch Fermentationsprozesse im Dickdarm entsteht. Folglich bedeutet dies, dass mit einer höheren Proteinzufuhr über die Nahrung auch eine verstärkte Proteolyse im Darm einhergeht (Eisenhauer 2019).

Eine 2021 durchgeführte Untersuchung bei Hunden zur Fütterung von fünf pflanzlichen Proteinquellen (Kichererbsen, Linsen, Erdnussmehl und Trockenhefe) verglichen mit einer tierischen Proteinquelle (Geflügelmehl) zeigte, wie in der vorliegenden Studie, eine höhere Ammoniumkonzentration bei der Verwendung von Geflügelmehl. Die Ammoniumkonzentration betrug 2,3 mg/g bei Geflügelmehl im Vergleich zu 1,6 mg/g bei Erdnussmehl und 1,9 mg/g bei Kichererbsen (Reilly et al. 2021). Weiterhin diskutierten die Autoren, inwiefern das in den

Hülsenfrüchten enthaltene Enzym Urease, welches die Reaktion von Harnstoff zu Ammoniak und Kohlendioxid katalysiert, die Ammoniumkonzentration bei Verwendung der pflanzlichen Diäten beeinflusste. Urease ist sehr anfällig für Hitzebehandlungen. Aus diesem Grund werden entsprechende Futtermischungen oft extrudiert, sodass das Enzym keinen Einfluss auf die Ammoniakkonzentration hat (Reilly et al. 2021).

Eine weitere Studie untersuchte den Einfluss von getreidefreier Ernährung beim Hund auf die Konzentrationen fermentativer Endprodukte im Kot. Die Hunde erhielten entweder eine getreidefreie Diät auf Basis von Kartoffeln oder eine Kontrolldiät auf Basis von Reis und Mais. Die getreidefreie Diät wies einen höheren Proteingehalt (392 g/kg) auf als die getreidehaltige Diät (244 g/kg). Im Gegensatz zur getreidehaltigen Diät induzierte die getreidefreie Diätvariante eine höhere Konzentration an Ammonium im Kot. Dieses wurde damit begründet, dass ein erhöhter Proteingehalt und der Verzicht auf Getreide in der getreidefreien Diät Veränderungen im mikrobiellen Stoffwechsel ausgelöst haben. Es wird angenommen, dass die Menge an Protein, die für die mikrobielle Fermentation im Darm zur Verfügung steht, mit der Ammoniumkonzentration korreliert (Chiofalo et al. 2019). Dieses bestätigt auch die hier vorgestellte Arbeit. Es zeigte sich eine Wechselwirkung zwischen den in den Diäten enthaltenen Kohlenhydratquelle und Proteinart, sodass Diäten mit Quinoa in Kombination mit Geflügelmehl zu einer höheren Ammoniumkonzentration führten. Ein weiterer Faktor für die erhöhte Ammoniumkonzentration aufgrund der Wechselwirkung zwischen Quinoa und Geflügelmehl liegt darin, dass fermentierbare Kohlenhydrate die Proteinverdaulichkeit durch den Stoffwechsel des Mikrobioms beeinflussen können, was zu einem Anstieg der Ammoniakkonzentration führen kann (Ingenpass et al. 2021). Zudem sind die in Quinoa enthaltenen Fasern zu 22 % lösliche Faserstoffe (Lamothe et al. 2015), was für eine vorteilhafte mikrobielle Fermentierbarkeit spricht.

#### **D-/L-Laktat**

Es wurde nachgewiesen, dass sowohl Laktat als auch kurzkettige Fettsäuren Fermentationsprodukte von Bifidobakterien sind (Jiang und Savaiano 1997), wobei Laktat auch ein wesentliches Endprodukt der Laktobazillen ist (Swanson et al. 2002a). Eine erhöhte Konzentration von Laktat im Darm kann den pH-Wert im Darm senken, was eine antimikrobielle Wirkung hat und daher in der Literatur oft als positiv bewertet wird (Swanson et al. 2002a).

Aus der vorliegenden Studie geht hervor, dass das relative Vorkommen von Bifidobakterien durch Diäten mit Erbsen und Bohnen als Proteinquelle erhöht wurden. Diäten mit Erbsen und Bohnen führten zu einem erhöhten relativen Vorkommen von *Lactobacillus* spp. Es kann daher angenommen werden, dass die höhere Laktatkonzentration auf eine Verschiebung des Mikrobioms zurückzuführen ist.

Eine zuvor veröffentlichte Studie zur Fütterung mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen in Abhängigkeit der Faserquellen Karottentrestler oder Biertreber zeigte, dass eine numerisch höhere fäkale Konzentration von D- und L-Laktat bei der Diät zu beobachten war, welche die Faserquelle Biertreber enthielt. Es wurde auch festgestellt, dass die Rohproteinkonzentration in den Versuchsdiäten einen statistisch signifikanten Einfluss hatte, wobei Diäten mit moderatem Proteingehalt zu einer Erhöhung der Laktatkonzentration im Kot führten (Eisenhauer 2019). In der vorliegenden Studie führte die moderate Proteinzufuhr aus pflanzlichen Proteinquellen sowie der in den Diäten enthaltene Weizen zu einer erhöhten Laktatkonzentration. Zudem zeigte sich eine Wechselwirkung zwischen der moderaten Proteinzufuhr aus pflanzlichen Proteinquellen und Weizen als Kohlenhydratquelle. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Faserquelle den entscheidenden Einfluss auf die Laktatkonzentration hatte. Im Folgenden wird auf diese Zusammenhänge anhand verschiedener Studien detaillierter eingegangen.

Zur Bewertung der potenziellen präbiotischen Wirkungen von Cellobiose wurde in einer Studie mit Hunden ein Alleinfuttermittel mit verschiedenen Dosierungen (0,5 und 1 g Cellobiose/kg Körpermasse/Tag) gefüttert. Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Anstieg der Laktatkonzentration im Kot, was auf eine bakterielle Fermentation im Darm der Hunde hinweist. Gleichzeitig wurde ein dosisabhängiger linearer Anstieg der relativen Häufigkeit von *Lactobacillaceae* ( $p=0,014$ ) im Kot der Hunde beobachtet (Paßlack et al. 2021). Die erhöhte Laktatkonzentration im Kot der Hunde durch die Verabreichung von Cellobiose wurde positiv bewertet, denn sie kann dazu beitragen, den pH-Wert im Dickdarm zu senken und eine Umwandlung von Ammoniak in Ammonium zu bewirken (Beynen et al. 2002). Da Ammonium im Dickdarm weniger gut resorbiert wird und stattdessen fäkal ausgeschieden wird, könnte dieses die hepatische Ammoniakentgiftung und renale Harnstoffausscheidung verringern (Paßlack et al. 2021).

Eine Supplementierung mit 4 g Fructooligosacchariden pro Tag führte beim Hund zu einer Erhöhung der fäkalen Laktatkonzentration bei Hunden. Die Supplementierung von Fructooligosacchariden wirkte sich positiv auf die Mikrobiota des Darms aus, indem sie die Konzentrationen von Mikrobenpopulationen wie Bifidobakterien und Laktobazillen erhöhte und gleichzeitig die Konzentrationen potenzieller Krankheitserreger wie *Clostridium perfringens* verringerte. Darüber hinaus führte die Zugabe von Fructooligosacchariden zu erhöhten Konzentrationen von Butyrat und Laktat im Stuhl und einer Reduktion der Konzentrationen verschiedener Proteinfermentationsprodukte wie verzweigt-kettige Fettsäuren (BCFA) (Swanson et al. 2002a). Im Gegensatz dazu führte eine Supplementierung von 1 g Fructooligosacchariden und/oder 1 g Mannanooligosacchariden pro Tag zu keiner Veränderung der fäkalen Laktatkonzentration in den Fäzes der Hunde. Die Zugabe von Mannanooligosacchariden führte zu einer signifikanten Verringerung der fäkalen aeroben Gesamtkonzentration. Sowohl Fructooligosaccharide als auch Mannanooligosaccharide haben wahrscheinlich einen positiven Einfluss auf

die Darmgesundheit bei Hunden. Mannanoligosaccharide beeinflussen die mikrobiellen Populationen und können auch die Immunfunktion modulieren (Swanson et al. 2002b).

In einer Untersuchung wurden die Auswirkungen von Galacto-Oligosacchariden (GOS) auf die Kotparameter von gesunden Hunden und Katzen untersucht. Dabei wurden Tiere entweder mit einer Diät versorgt, die einen GOS-haltigen Sirup enthielt (1 % Galacto-Oligosaccharide im Futtermittel) oder mit einer Diät ohne GOS. Die Ergebnisse zeigten, dass die Diät mit 1 % GOS zu einer verstärkten Kohlenhydratfermentation führte, was sich in einem Anstieg der Konzentrationen von Essig- und Buttersäure im Kot äußerte. Insbesondere war die Milchsäurekonzentration bei der Diät mit 1 % GOS mit 58 mmol/kg im Vergleich zur Kontrolldiät mit 28 mmol/kg signifikant erhöht (Corbee 2024). Der Anstieg der Milchsäure kann durch eine erhöhte anaerobe Fermentation von Kohlenhydraten erklärt werden, die aufgrund der erhöhten Anzahl von *Bifidobacterium* spp. und *Lactobacillus* spp. erfolgte. Diese Bakterienarten profitieren von den Galacto-Oligosacchariden und nutzen sie als Substrat für die Milchsäureproduktion. Die Tendenz zu einer erhöhten Essigsäureproduktion in der Diät mit 1 % Galacto-Oligosacchariden kann ebenfalls auf die vermehrte Aktivität von Bakterien wie *Bifidobacterium* spp. und *Lactobacillus* spp. zurückgeführt werden, die bekanntermaßen Essigsäure produzieren (Belenguer et al. 2006). Erhöhte Buttersäurekonzentrationen könnten durch die Anwesenheit von Butyratbildenden Bakterien erklärt werden, die Laktat als Substrat nutzen können (Belenguer et al. 2006; Corbee 2024).

### **Phenol und Indol**

Die Ergebnisse, die aus der vorliegenden Arbeit hervorgehen, zeigten eine erhöhte fäkale Konzentration von Phenol und Indol bei Verwendung von Quinoa. Ebenso führte die Fütterung der tierischen Proteinquelle zu einem Anstieg des Indol- und Phenolgehalts, während die unterschiedliche Proteinkonzentration keinen Einfluss zeigte.

Phenole und Indol resultieren aus dem Abbau aromatischer Aminosäuren (Smith und Macfarlane 1997). Tyrosin wird zu Phenol, p-Cresol und 4-Ethylphenol abgebaut (Bone et al. 1976), während Indol und verwandte Verbindungen aus Tryptophan synthetisiert werden (Tennoune et al. 2022). Indol hat positive Effekte auf die Darmschleimhaut. Durch seine Bindung an den Arylkohlenwasserstoffrezeptor (AhR) der Darmepithelzellen unterstützt Indol die Homöostase der Darmschleimhaut sowie die Erneuerung des Darmepithels, seine Barrierefunktion und das Immunsystem. Allerdings kann Indol nach Umwandlung in Indoxylsulfat negative Auswirkungen auf Leber und Nieren haben (Tennoune et al. 2022). Sowohl Indol- als auch Phenolverbindungen können aber auch konzentrationsabhängig die parazelluläre Permeabilität stören und somit die Barrierefunktion von Epithelien beeinträchtigen (Hughes et al. 2008; Tennoune et al. 2022).

Die Untersuchung zum Einfluss einer getreidefreien Ernährung beim Hund auf die Konzentrationen fermentativer Endprodukte im Kot ergab in einer vergleichbaren Studie auch eine erhöhte Phenolkonzentration von 0,125 mg/g bei Fütterung einer getreidefreien Diät. Die Ausgangsdiät enthielt unter anderem Lammfleisch (26 %), dehydriertes Lammfleisch (25 %) sowie Kartoffeln. Als Kontrolldiät wurde ein als "Premiumfutter" deklariertes Produkt verwendet, das unter anderem dehydriertes Lammfleisch (28 %), Reis (28 %) und Mais (23 %) enthielt (Chiofalo et al. 2019).

Eine zuvor veröffentlichte Studie zu verschiedenen Kohlenhydratquellen in der Ernährung des Hundes ergab niedrigere Gesamtkonzentrationen von Phenol und Indol bei der Fütterung von Diätvariationen mit Amaranth (248 µg/g), Rispenhirse (251 µg/g) und Quinoa (233 µg/g) im Vergleich zur Verwendung von Reis (358 µg/g). Besonders die Diätvariation mit Quinoa induzierte die niedrigste fäkale Phenolkonzentration (15,3 µg/g) im Vergleich zur Reis-basierten Diät (96,8 µg/g). Die untersuchten Diäten enthielten jeweils 40 % der fünf untersuchten Kohlenhydratquellen (Reis, Amaranth, weiße Rispenhirse, Quinoa und Haferflocken) auf einer Basis von Geflügelmehl und Geflügelfett. Zur Vergleichbarkeit der Diäten wurden einige Diätvariationen zusätzlich mit Reismehl, Zellulose, Mais und Maisklebermehl ergänzt (Traughber et al. 2021).

Eine weitere Untersuchung zur Fütterung von pflanzlichen Proteinquellen (Kichererbsen, Linsen, Erdnussmehl und Trockenhefe) im Vergleich zu einer tierischen Proteinquelle (Geflügelmehl) beim Hund ergab, dass die Diät auf Basis von Geflügelmehl mit 2,20 µmol/g die höchste Gesamtkonzentration von Phenol und Indol in den Fäzes bewirkte. Im Gegensatz dazu wiesen Kotproben bei Diäten mit Linsen und Kichererbsen die geringsten Gehalte mit jeweils 1,20 und 1,50 µmol/g auf. Diäten mit Kichererbsen wiesen eine fäkale Indolkonzentration von 0,90 µmol/g und einen Phenolgehalt von 0,50 µmol/g auf. Gleiches gilt für Diätvariationen mit Erdnussmehl und Geflügelmehl, was die höchste Phenolkonzentration von 0,50 µmol/g ergab. Diätvariationen mit einem Trockenhefeprodukt oder Geflügelmehl induzierten im Vergleich zu Kichererbsen die höchsten fäkalen Indolkonzentrationen (1,60 µmol/g, 1,70 µmol/g) auf (Reilly et al. 2021).

In einer im Rahmen einer Studie durchgeführten Untersuchung zum Einfluss unterschiedlicher Proteingehalte (200 g/kg TS und 400 g/kg TS) mit Geflügelmehl, Grießenmehl und Knochenmehl als Proteinquellen in Kombination mit verschiedenen Faserquellen (Biertreber und Karottentrester) ergaben die unterschiedlichen Proteingehalte ebenfalls keinen Effekt auf die fäkale Indol- und Phenolkonzentration (Eisenhauer et al. 2019).

### 5.6.2 Biogene Amine

Die Untersuchung von pflanzlichen und tierischen Proteinquellen in Kombination mit und ohne Getreide zeigte eine erhöhte fäkale Konzentration der biogenen Amine Putrescin, Cadaverin, Tyramin, Spermin sowie der gesamten biogenen Amine bei Fütterung der pflanzlichen Proteinquelle. Zusätzlich führten ein erhöhter Proteingehalt sowie weizenhaltige Diäten zu einem Anstieg des fäkalen Gehalts an Putrescin, Histamin, Cadaverin und Spermidin.

Fermentative Mikroorganismen können Aminosäuren mithilfe ihrer Decarboxylase in biogene Amine umwandeln, wobei der Name der Amine von der zugrunde liegenden Aminosäure abgeleitet wird. Störungen der gastrointestinalen Mikrobiota können zu einem Anstieg toxischer Metaboliten, einschließlich biogener Amine, führen (Wójcik et al. 2021).

Die Fütterung einer Diät mit einem hohen Proteingehalt von 400 g/kg TS (Geflügel-, Knochen- und Griebenmehl) führte zu einer signifikant höheren Gesamtkonzentration an biogenen Aminen im Vergleich zu einer Diätvariante mit 200 g/kg TS Proteinanteil ( $p < 0,001$ ) (Eisenhauer et al. 2019). Dies steht im Einklang mit einer früheren Studie, in der ein Proteingehalt von 305 bis 320 g/kg TS keinen Einfluss auf die Konzentration der biogenen Amine zeigte (Barry et al. 2009). Diese Ergebnisse legen nahe, dass eine höhere Proteinmenge in der Ernährung von Hunden erforderlich ist, um einen Anstieg der Konzentration der fäkalen biogenen Amine zu beobachten (Eisenhauer 2019). Auch in der vorliegenden Studie beeinflusste ein Proteingehalt von 237 bis 251 g/kg TS in den Diätvariationen die Konzentration der biogenen Amine nicht, während der 1,5-fache Proteingehalt einen Einfluss zeigte.

Eine weitere Studie über die Auswirkungen einer getreidefreien Ernährung auf die Konzentrationen fermentativer Endprodukte im Kot von Hunden ergab signifikante Unterschiede in der fäkalen Putrescinkonzentration zwischen einer getreidehaltigen und getreidefreien Diät. Die getreidefreie Diät führte zu höheren Putrescinkonzentrationen (0,36 mg/g) im Vergleich zur getreidehaltigen Variante (0,14 mg/g). Ähnliche Trends wurden auch für Cadaverin beobachtet, jedoch waren diese nicht statistisch gesichert. Das Vorkommen von Putrescin wurde als vorteilhaft gewertet, da es die Zellerneuerung stimuliert und somit zur Integrität der Darmschleimhaut im Verdauungstrakt beitragen könnte (Chiofalo et al. 2019). Putrescin, Spermin und Spermidin erfüllen vielfältige Funktionen bei Zellwachstum und -differenzierung, wobei der genaue Mechanismus und praktische Nutzen noch ungeklärt sind (Schipper et al. 2000). Apoptose wird durch biogene Amine beeinflusst (Schipper et al. 2000) und ist ein essenzieller Prozess für den zellulären Stoffwechsel, welcher besonders im Magen-Darm-Trakt eine wichtige Rolle spielt (Ramachandran et al. 2000).

### 5.6.3 Kurzkettige Fettsäuren

Die in Kapitel 4.5.3 präsentierten Studienergebnisse zeigen, dass bei Verwendung der tierischen Proteinquelle und einer erhöhten Proteinkonzentration in den Diäten ein Anstieg der fäkalen i-Buttersäure- und i-Valeriansäurekonzentrationen zu verzeichnen ist. Diäten mit Quinoa hingegen führten zu erhöhten fäkalen Konzentrationen von Essigsäure, Propionsäure, i-Buttersäure, i-Valeriansäure sowie des Gesamtgehalts an kurzkettigen Fettsäuren.

Kurzkettige Fettsäuren (SCFA) spielen eine wichtige Rolle für die Erhaltung der Gesundheit und der Darmintegrität. Sie werden von der Darmmikrobiota insbesondere durch die Fermentation nicht verdaulicher Polysaccharide produziert (Cummings et al. 1987). Kurzkettige Fettsäuren sind besonders im proximalen Dickdarm in hohen Konzentrationen vorhanden, wo sie lokal von Enterozyten genutzt oder durch das Darmepithel in den Blutkreislauf transportiert werden. Diese Fettsäuren tragen wesentlich zur Gesundheit des Wirts und zur Darm- und Immunhomöostase bei und werden als Hauptstoffwechselprodukte betrachtet, die durch die Fermentation von Ballaststoffen und resistenter Stärke durch spezifische anaerobe Kolonbakterien entstehen (Tan et al. 2014).

Eine Untersuchung zur Verwendung verschiedener Faserquellen (Karottenrestler und Biertreber) in der Hundeernährung zeigte einen tendenziellen Einfluss auf den Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Kot (Eisenhauer et al. 2019). Diäten mit einer fermentierbaren Faserquelle wie Karottenrestler induzierten einen höheren Gehalt an fäkalen kurzkettigen Fettsäuren im Vergleich zu Diäten mit Biertreber. Der Gehalt an verzweigten Fettsäuren im Kot erlaubt Rückschlüsse auf die mikrobielle Proteinfermentation durch das Mikrobiom, bestätigt durch eine weitere Studie, in der ein erhöhter Proteingehalt (382 bis 392 g/kg TS) zu einer höheren Konzentration verzweigter Fettsäuren führte, verglichen zu einer Diät mit einem Proteingehalt von 214 bis 216 g/kg TS (Nery et al. 2012). Jedoch bieten die gemessenen Konzentrationen kurzkettiger Fettsäuren in den Fäzes nur einen begrenzten Einblick in den bakteriellen Stoffwechsel, da sie durch die erneute Verwertung und/oder Resorption durch den Wirt beeinflusst werden können (Eisenhauer et al. 2019).

In einer früheren Studie zeigte sich, dass bei der Fütterung einer Diät mit Geflügelmehl die geringste fäkale Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren (381  $\mu\text{mol/g TS}$ ) vorlag. Ebenso wurden niedrige Werte für Butyrat (45,2  $\mu\text{mol/g TS}$ ), Propionat (115  $\mu\text{mol/g TS}$ ) und Acetat (221  $\mu\text{mol/g TS}$ ) gemessen. Im Gegensatz dazu führte die Diät mit Bohnen zu den höchsten fäkalen Gesamtgehalten an kurzkettigen Fettsäuren (711  $\mu\text{mol/g TS}$ ), Acetat (459  $\mu\text{mol/g TS}$ ) und Propionat (207  $\mu\text{mol/g TS}$ ). Es ist jedoch zu beachten, dass auch die pflanzlichen Diäten mit Geflügelmehl ergänzt wurden (Reilly et al. 2021).

Eine Untersuchung zur Auswirkung einer getreidefreien Ernährung auf die Nährstoffverdaulichkeit und fäkale Mikrobiota zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Diätvarianten. Die getreidehaltige Diät führte zu einer höheren Konzentration an Propionat (49,8  $\mu\text{mol/g}$ ) im Vergleich zur getreidefreien Diät (35,6  $\mu\text{mol/g}$ ), ebenso wie beim Butyrat. Auch hier führte die getreidehaltige Diät zu höheren Konzentrationen im Vergleich zur getreidefreien Diät (28,8  $\mu\text{mol/g}$  und 21,2  $\mu\text{mol/g}$ ). Der geringe Gehalt an Propionat und Butyrat, hervorgerufen durch die getreidefreie Diät, ist möglicherweise durch die Zusammensetzung der Diäten bedingt. Während die getreidefreie Diät einen höheren Proteingehalt aufwies, wies die getreidehaltige Diät einen höheren Kohlenhydratanteil auf. Die Bildung von Milchsäure und kurzkettigen Fettsäuren, insbesondere Butyrat, wird als vorteilhaft angesehen und kann zu einem ausgeglichenen Mikrobiom beitragen. Acetat dient zudem als Vorläufer für die Fettsäuresynthese, Propionat hauptsächlich für die Gluconeogenese in der Leber und Butyrat als Energiequelle für Kolonozyten, was zur Energieversorgung beiträgt und eine trophische Wirkung auf das Kolonepithel hat. Andererseits stellt die bakterielle Proteinferrmentation im Dickdarm einen Risikofaktor für eine beschädigte Darmbarriere dar, was zu einer Zunahme von pathogenen Mikroorganismen für Darmerkrankungen führen kann (Chiofalo et al. 2019).

In einer weiteren Untersuchung wurden Diäten mit Reis, Amaranth, weißer Rispenhirse, Quinoa und Haferflocken verglichen, wobei alle Diäten mit Reismehl ergänzt wurden. Dabei führten Diäten mit Amaranth und Haferflocken zu höheren fäkalen Gesamtkonzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren (407 und 363  $\mu\text{mol/g TS}$ ) sowie zu höheren Propionat- (124 und 111  $\mu\text{mol/g TS}$ ) und Butyratkonzentrationen (64,1 und 48,5  $\mu\text{mol/g TS}$ ) im Vergleich zu Diäten mit Reismehl (223, 59,4 und 29,5  $\mu\text{mol/g TS}$ ). Die Acetatkonzentration bei Diäten mit Amaranth war signifikant höher als bei Diäten mit Reismehl (218 und 133  $\mu\text{mol/g TS}$ ). Diäten mit Quinoa führten zu einem Gesamtgehalt an kurzkettigen Fettsäuren von 311  $\mu\text{mol/g TS}$ , einer Acetatkonzentration von 200  $\mu\text{mol/g TS}$ , einem Propionatgehalt von 79,7  $\mu\text{mol/g TS}$  und einer Butyratkonzentration von 31,2  $\mu\text{mol/g TS}$ . Damit lagen die Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren bei der Diät auf Basis von Quinoa, ebenso wie bei der Diätvariation mit weißer Rispenhirse, zwischen den Konzentrationen der Diäten mit Reismehl, Amaranth und Haferflocken. Die höheren Konzentrationen kurzkettiger Fettsäuren in den Diäten auf Basis von Amaranth oder Haferflocken deuten auf einen Anstieg der fermentierbaren Kohlenhydrate hin, die im Rahmen der mikrobiellen Fermentation im Dickdarm zur Verfügung standen. Quinoa zeigte ebenfalls eine gute Fermentierbarkeit, was sich in den Messergebnissen der kurzkettigen Fettsäuren widerspiegelt (Traughber et al. 2021).

#### 5.6.4 pH-Wert und Trockensubstanz der Fäzes

Diäten mit tierischem Protein führten zu einer Erhöhung der fäkalen Trockensubstanz und des pH-Werts. Diätvariationen mit Quinoa erhöhten den pH-Wert im Vergleich zu weizenhaltigen

Diäten, während die Kohlenhydratquellen keinen direkten Einfluss auf den fäkalen Trockensubstanzgehalt hatten. Bezüglich des fäkalen Trockensubstanzgehalts wurden Interaktionen zwischen der Kohlenhydratquelle und der Proteinquelle festgestellt. Die Fütterung der Diät WG1.5 führte sowohl für den pH-Wert als auch für die Trockensubstanz zu den höchsten Werten auf.

Ein Vergleich von vier verschiedenen pflanzlichen Proteinquellen (Kichererbsen, grüne Linsen, Erdnussmehl und Trockenhefeprodukt) mit einer Kontrolldiät bestehend aus Geflügelmehl in der Ernährung von Hunden ergab, dass bei Fütterung mit Geflügelmehl ein fäkaler pH-Wert von 6,57 resultierte, während die Diätvarianten mit Bohnen bzw. Linsen zu den niedrigsten fäkalen pH-Wert (6,05 und 6,03) führten. Die anderen Diätvarianten induzierten intermediäre pH-Werte (Reilly et al. 2021). Dieses Ergebnis ähnelt dem der hier vorgestellten Studie, bei der die Diätvariation mit Geflügelmehl fäkale pH-Werte von 6,10 bis 6,58 zeigte, während eine Diät auf Basis von Leguminosen als Eiweißquelle mit fäkalen pH-Werten von 5,51 bis 6,18 einherging.

Eine andere Studie ergab, dass der fäkale pH-Wert weder von der variierenden Proteinkonzentration (200 bis 400 g/kg TS) des Futters noch von unterschiedlichen Faserquellen (Biertreber und Karottentrester) beeinflusst wurde (Eisenhauer et al. 2019).

Die Fütterung von 1,5 g/kg Fructooligosacchariden in Kombination mit einer proteinreichen Diät (304 g/kg TS) führte bei Hunden zu einem geringeren pH-Wert der Fäzes (Pinna et al. 2018). Diese Beobachtung wurde auch in einer anderen Studie bestätigt, bei der der fäkale pH-Wert bei Gabe von Diäten mit löslichen Faserkomponenten wie Zuckerrübenschnitzeln und Guarkernmehl signifikant niedriger war als bei der Fütterung von Zellulose als Faserquelle. Eine mögliche Erklärung wäre eine vermehrte Milchsäureproduktion durch Darmbakterien (Wambacq et al. 2016). In dieser Studie konnte dieser Zusammenhang nicht bestätigt werden. Der pH-Wert wurde von den tierischen Proteinen und der Kohlenhydratquelle Quinoa beeinflusst, während die Laktatkonzentration durch die pflanzlichen Proteine erhöht wurde.

## 5.7 Untersuchungen der Zusammensetzung der fäkalen Mikrobiota

Die Illumina 16S rRNA-Sequenzierung ist eine kostengünstige und effiziente Methode zur Untersuchung der bakteriellen Zusammensetzung von Kotproben (Schloss et al. 2016). Diese Methode ermöglicht die Identifizierung und den Vergleich von Bakterien auf Genusebene. Die Analyse der 16S rRNA-Sequenz ist besonders nützlich, da dieses Gen in allen Bakterien vorkommt. Dadurch können Bakterien auf Genusebene identifiziert und bakterielle Gemeinschaften miteinander verglichen werden (Clarridge Iii 2004).

In der vorgestellten Studie wurden 80 Kotproben analysiert. Es ist anzumerken, dass Taxa, die weniger als zwanzigmal identifiziert wurden, nicht in der Auswertung berücksichtigt wurden.

Dieser Ansatz sollte dazu beitragen, die Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu gewährleisten und eine genauere Interpretation der Daten zu ermöglichen.

#### 5.7.1 Untersuchungen der bakteriellen Phyla

*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* und *Actinobacteria* bilden zusammen mehr als 99 % der gesamten Darmmikrobiota des Hundes. Die Stoffwechselprodukte dieser Mikroben spielen eine wichtige Rolle als Abwehrbarriere gegen eindringende Krankheitserreger, unterstützen die Verdauung, versorgen die Enterozyten mit Nährstoffen und tragen wesentlich zur Entwicklung des Immunsystems bei. Besonders bedeutend für die Gesundheit des Magen-Darm-Trakts ist ihre Fähigkeit, Nahrungssubstrate zu kurzkettigen Fettsäuren zu fermentieren, insbesondere zu Acetat, Propionat und Butyrat (Suchodolski 2011). Darüber hinaus spielen auch individuelle Unterschiede eines Lebewesens bei der Bestimmung des Mikrobioms eine Rolle. Faktoren wie Lebensalter, Umwelt, Ernährung und Gesundheitszustand können das Mikrobiom ebenfalls beeinflussen (Cresci und Bawden 2015).

Aus der hier vorgestellten Studie geht hervor, dass Diäten, die auf einer tierischen Proteinquelle basieren, zu einem erhöhten relativen Vorkommen von Fusobakterien in den Fäzes führen, während pflanzliche Proteine das höchste relative Vorkommen von Actinobakterien bewirkten.

Eine vergangene Studie zur pflanzenbasierten Ernährung von Hunden ergab, dass *Firmicutes* einen hohen Anteil der Bakterienpopulation ausmachten, variierend zwischen 47 % der Sequenzen bei Diäten mit Erdnussmehl und 62 % bei Diäten mit Kichererbsen. Darüber hinaus könnte das vermehrte Auftreten von *Firmicutes* ursächlich für eine höhere Butyratkonzentration sein (Reilly et al. 2021). Dies hat sich in dieser Studie allerdings nicht bestätigt. *Fusobacteria* waren ebenfalls prominent vertreten, wobei ihr Anteil 13 % der Sequenzen bei der Diätvariante mit Kichererbsen und 21 % bei Geflügelmehl betrug. *Proteobacteria* und *Actinobacteria* machten jeweils etwa 1 % der Sequenzen aus. Die  $\alpha$ -Diversität, gemessen anhand der phylogenetischen Diversität nach Faith, zeigte eine höhere bakterielle Vielfalt bei der Fütterung von Diäten mit Geflügelmehl im Vergleich zu Linsen (Reilly et al. 2021). Dies bestätigt sich in dieser Studie ebenfalls. Die Abundanz der *Fusobacteria* wurde signifikant durch die tierischen Proteine erhöht. Zudem zeigte sich eine größere bakterielle Vielfalt unter Fütterung mit Geflügelmehl im Vergleich zur Fütterung pflanzlicher Proteinquellen.

Eine Untersuchung verschiedener Getreidesorten als Kohlenhydratquellen für die Ernährung von Hunden zeigte keine Unterschiede in der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Diversität zwischen den Diäten. Vorherrschend waren *Bacteroidetes*, *Firmicutes* und *Fusobacteria*, die zusammen 90 % der Phyla ausmachten. Die Fütterung von Diäten mit Haferflocken führte zu einem geringeren Vorkommen von *Bacteroides* im Vergleich zur Fütterung von Diäten mit Quinoa ( $p < 0,05$ ). Abgesehen

davon hatten die untersuchten Getreidesorten in den Diäten keinen signifikanten Einfluss auf die bakteriellen Phyla in den Fäzes von Hunden (Traugher et al. 2021). In der hier vorgestellten Studie zeigte sich ebenfalls kein Einfluss der Kohlenhydratquelle auf die Zusammensetzung der bakteriellen Phyla.

### 5.7.2 Untersuchungen der bakteriellen Genera

Die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen, dass Diäten mit Quinoa das relative Vorkommen von *Bacteroides* in den Fäzes der Hunde erhöhten, während weizenhaltige Diäten zu einem Anstieg des relativen Vorkommens von *Blautia* führten. Die Zugabe von Geflügelmehl zu den Diäten führte zu einem Anstieg des relativen Vorkommens von *Fusobacterium*, *Peptoclostridium* und *Sellimonas*. Diäten, die Erbsen und Bohnen enthielten, zogen ein erhöhtes relatives Vorkommen von *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* und *Prevotella* nach sich. Eine erhöhte Proteinzufuhr über die Diät führte zu einem Anstieg des relativen Vorkommens der Genera *Peptoclostridium* und *Streptococcus*.

Eine ähnliche Studie dazu zeigte, dass die Verwendung von Cellulose in den Diäten für Hunde zu einem höheren Nachweis der Bakteriengattungen *Alloprevotella*, *Bacteroides* und *Prevotella* führte, deren relative Häufigkeit jedoch weniger als 1 % betrug (Paßlack et al. 2021). In der hier vorgestellten Studie führte die Fütterung von Erbsen und Bohnen im Vergleich zu tierischen Proteinen ebenfalls zu einem Anstieg des relativen Vorkommens von *Bacteroides* und *Prevotella*.

Eine weitere Fütterungsstudie zeigte, dass die Zugabe von 1 % Galacto-Oligosacchariden zu einem erhöhten Vorkommen von *Lachnospiraceae* und *Bifidobacterium* spp. führte. Auch das Auftreten von *Lactobacillus* spp. und *Enterobacteriaceae* nahm zu. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Galacto-Oligosaccharide die fäkale Mikrobiota beeinflussen und zur Produktion spezifischer Metaboliten beitragen können, die die Darmgesundheit fördern (Corbee 2024). In der vorliegenden Studie wurden ähnliche Effekte beobachtet, wobei das relative Vorkommen von *Bifidobacterium* und *Lactobacillus* spp. möglicherweise durch die in Hülsenfrüchten enthaltenen Galacto-Oligosaccharide erhöht wurde. Die Präsenz von *Enterobacteriaceae* war so gering, dass sie nicht für die Analyse berücksichtigt wurde.

Eine Untersuchung verschiedener Kohlenhydratquellen wie Amaranth, Quinoa und Haferflocken zeigte bei erwachsenen Hunden im Vergleich zu einer reisbasierten Diät Veränderungen in der fäkalen Mikrobiota. *Fusobacterium*, *Bacteroides* und *Lachnospiraceae* machten etwa 55 % aller Sequenzen aus. Diäten mit Quinoa oder Amaranth zeigten eine erhöhte relative Häufigkeit von *Bacteroides*, was möglicherweise ebenso wie das Vorkommen von *Prevotella* auf den geringen Zellulosegehalt zurückzuführen war (Traugher et al. 2021). Ähnliche Ergebnisse wurden auch in der vorliegenden Studie beobachtet, wobei *Fusobacterium* und

*Bacteroides* dominant vertreten waren und das Vorkommen von *Lachnospiraceae* moderat war. Ein erhöhtes Vorkommen von *Bacteroides* wurde ebenfalls bei der Fütterung von Quinoa beobachtet. Die Verwendung von Erbsen und Bohnen führte allerdings zu einem Anstieg des Vorkommens von *Prevotella* im Vergleich zur tierischen Proteinquelle, was der Annahme widerspricht, dass ein niedriger Zellulosegehalt das Vorkommen erhöht. Die Anwesenheit von *Lachnospiraceae*, einer Bakterienfamilie, die viele butyrogene Bakterien umfasst, korrelierte mit erhöhten Butyratkonzentrationen (Traughber et al. 2021). Dies wird durch die eigenen Forschungsergebnisse unterstützt, in denen die Diät QG 1.5 sowohl die höchste Butyratkonzentration (5,96 µmol/g) als auch das höchste relative Vorkommen an *Lachnospiraceae* (4,84 %) aufwies.

In einer Studie, die die Fütterung von Leguminosen bei Hunden untersuchte, zählten *Fusobacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Bacteroidaceae*, *Erysipelotrichaceae* und *Veillonellaceae* zu den häufigsten vorkommenden Bakteriengattungen. Bei der Fütterung der Diäten mit Kichererbsen oder Linsen zeigte sich im Vergleich zu den anderen Diätvarianten ein erhöhtes Vorkommen von *Megamonas*. Taxonomische Unterschiede wurden mithilfe der linearen Diskriminanzanalyse der Effektgröße (LEfSe) für spezifische Ernährungsbehandlungen und Proteinquellen analysiert. Dabei war das Vorkommen von *Actinobacteria* und *Megamonas* im fäkalen Mikrobiom besonders stark vertreten, wenn die Diäten Kichererbsen enthielten (Reilly et al. 2021). Das vermehrte Vorkommen von *Megamonas* im Darm bei Fütterung der Diätvarianten mit Kichererbsen oder grünen Linsen, die reich an Galacto-Oligosacchariden sind, deutet darauf hin, dass diese Bakterien eine wichtige Rolle beim Abbau dieser Verbindungen spielen. Hülsenfrüchte und Ölsaaten enthalten Galacto-Oligosacchariden wie Raffinose und Stachyose, die von *Megamonas* durch das Enzym  $\alpha$ -Galactosidase zu D-Galactose und Saccharose abgebaut werden können. Da Hunde dieses Enzym nicht selbst produzieren, deutet die vermehrte Anwesenheit von *Megamonas* darauf hin, dass sich die Darmmikrobiota an den Verzehr von Hülsenfrüchten anpasst (Reilly et al. 2021). Das relative Vorkommen von *Megamonas* in der vorliegenden Studie war so niedrig, dass es für die Analyse nicht berücksichtigt wurde. Daher war der potenzielle Einfluss von *Megamonas* auf die Hydrolyse von Galacto-Oligosacchariden vernachlässigbar.

Eine Fütterungsstudie ergab erhöhte Laktatkonzentrationen im Kot von Hunden, die Cellobiose erhielten, was auf eine Förderung der Milchsäurebakterien im Darm hinweist. Die Analyse der fäkalen Mikrobiota unterstützte diese Schlussfolgerung durch die Beobachtung einer Zunahme der *Lactobacillaceae* bei steigender Dosierung von Cellobiose (0, 0,5 und 1 g Cellobiose/kg Körpermasse/Tag) (Paßlack et al. 2021). In dieser Studie führte die Fütterung von Erbsen und Bohnen im Vergleich zu tierischen Proteinen ebenfalls zu einem Anstieg des relativen Vorkommens von *Lactobacillaceae* sowie der Laktatkonzentration. Dies könnte auf die

pflanzlichen Fasern zurückzuführen sein, was auch erklären könnte, warum die Interaktion zwischen Proteinart und Kohlenhydratquelle sowohl die Laktatkonzentration als auch das Vorkommen von *Lactobacillaceae* erhöhte. Des Weiteren wurde festgestellt, dass die Verwendung von Erbsen und Bohnen als Proteinquelle in Verbindung mit einer erhöhten Konzentration, die einen größeren Anteil pflanzlicher Faser impliziert, das Vorkommen von *Lactobacillaceae* erhöhte. In dieser Studie wurde eine verstärkte Interaktion zwischen der Proteinart (Erbsen und Bohnen) und der Kohlenhydratquelle (Quinoa) mit einem erhöhten Vorkommen von *Lactobacillus* spp. beobachtet.

Ein erhöhtes Vorkommen von *Lactobacillus* spp. wird als vorteilhaft angesehen, da diese das Wachstum von *Clostridioides difficile* hemmen können (Traughber et al. 2021). Die in Quinoa enthaltenen löslichen Ballaststoffe wirken sich positiv auf das Vorkommen des probiotischen *Lactobacillus plantarum* im Darm sowie auf die Bürstengrenzmembran im Darm aus, insbesondere auf die Anzahl der Becher- und Paneth-Zellen (Agarwal et al. 2022).

In der hier vorgestellten Studie führte die Fütterung von tierischen Proteinen in den Diätvariationen zu einem erhöhten Vorkommen von *Peptoclostridium*, das zum Phylum *Firmicutes* gehört (Yutin und Galperin 2013) und in der Fäzes bei Hunden nachzuweisen ist (Suchodolski et al. 2008; Honneffer et al. 2017). Es ist bekannt, dass es asymptomatische Träger von *Clostridium difficile* gibt (Zhang et al. 2015). Tiermodelle zeigten, dass die Fähigkeit der Darmmikrobiota, eine Resistenz gegen die Kolonisierung durch *Clostridium difficile*; das zu den Peptoclostridien gehört, von gesundheitlicher Bedeutung ist (Britton und Young 2014; Seekatz und Young 2014). Die Verwendung von Antibiotika birgt das Risiko einer Dysbiose der Darmmikrobiota, was zu einer Verringerung der Resistenz gegenüber der Kolonisierung mit Peptoclostridien führen kann und letztlich die Entstehung chronischer Darmerkrankungen begünstigt (Seekatz und Young 2014). Die in dieser Studie verwendeten Hündinnen waren gesund und zeigten keine Anzeichen einer Erkrankung.

Die Gabe der Diäten mit einer 1,5-fachen höheren Proteinkonzentration führte zu einer erhöhten Prävalenz von *Streptococcus* spp. Diese sind opportunistische Krankheitserreger, die normalerweise in den oberen Atemwegen, im Darm, in den unteren Harnwegen und im Genitalbereich vorkommen und bei Hunden jeden Alters lokale Infektionen oder Septikämien verursachen können. In einer retrospektiven Studie über Infektionen bei Hunden wurden die isolierten Streptokokkenarten identifiziert, darunter vertreten waren *Streptococcus canis* (88 Fälle, 22,4 %), *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* (13 Fälle, 3,3 %) und *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* (4 Fälle, 1 %) (Lamm et al. 2010).

*Fusobacterium varium* produziert Butyrat aus Proteinen (Potrykus et al. 2008). Darüberhinaus wurde festgestellt, dass das relative Vorkommen für *Fusobacteriaceae* bei Hunden, die roh gefüttert wurden, sowie bei Fleischfresserarten wie Katzen und Wölfen ebenfalls erhöht war

(Pilla und Suchodolski 2019). In dieser Studie bestätigte sich dies. Diätvariationen mit Geflügelmehl begünstigten das relative Vorkommen von *Fusobacterium* spp. Zusätzlich erhöhte die Fütterung tierischer Proteinquellen und eine höhere Proteinkonzentration in der Diät die fäkalen Butyratkonzentrationen.

### 5.7.3 Untersuchungen der bakteriellen Diversität

Diäten mit Geflügelmehl begünstigten die Diversität der fäkalen Mikrobiota. Für die Parameter Shannon Index und Evenness zeigten sich Wechselwirkungen zwischen Kohlenhydrat- und Proteinquelle sowie der Proteinkonzentration.

Im Rahmen einer Fütterungsstudie führte die Diät mit 1 % Galacto-Oligosacchariden zu einer Reduzierung der  $\alpha$ -Diversität der fäkalen Mikrobiota bei Hunden, wie durch den Shannon-Index gezeigt wurde (Corbee 2024). Im Gegensatz dazu zeigte eine Studie, die fünf verschiedene Diäten mit Reis, Amaranth, weißer Rispenhirse, Quinoa oder Hafer verglich, keinen Einfluss der Kohlenhydratquellen auf die bakterielle Diversität in den Fäzes (Traughber et al. 2021). Die Ergebnisse dieser Studie bestätigen, dass Kohlenhydratquellen keinen direkten Einfluss auf die Richness haben, sondern indirekt über die Interaktionen zwischen Kohlenhydrat- und Proteinquelle sowie Proteinkonzentration. Hülsenfrüchte hatten im Vergleich zu tierischen Proteinquellen keinen entscheidenden Einfluss auf den Shannon-Index.

### 5.8 Visualisierung der fäkalen Metabolite und Mikrobiota mittels Dendrogramm und „Heatmap“

Die Analyse der Ähnlichkeit aller Proben zueinander über ein hierarchisches Dendrogramm bietet eine visuelle Darstellung in Form eines „Fingerabdrucks“ jeder Probe. Es ist wichtig zu betonen, dass solche Visualisierungen einer besseren Differenzierung der Versuchsgruppen dienen und keine statistische Aussage darstellen.

Die Fütterung pflanzlicher Proteinquellen ist möglich und zeigt einen Einfluss auf die Mikrobiota und Metaboliten, wie sich auch in einer weiteren Studie zu pflanzlichen Proteinquellen beim Hund (Reilly et al. 2021) festgestellt wurde. Es ist jedoch zu betonen, dass nicht nur der Proteingehalt, sondern vor allem der höhere Fasergehalt der pflanzlichen Diäten einen signifikanten Einfluss auf die Mikrobiota hat.

Dies wird beispielsweise statistisch durch die relative Häufigkeit von *Lactobacillus* und *Bifidobacterium* spp. belegt, die in weiteren Studien ebenfalls eine erhöhte Abundanz unter Fütterung pflanzlicher Faserstoffe (wie Cellulose und Galacto-Oligosacchariden) zeigten (Paßlack et al. 2021; Corbee 2024). Für die Abundanz von *Lactobacillus* spp. wurde in dieser Studie eine schwache Wechselwirkung zwischen den in den Diäten enthaltenen Kohlenhydratquellen und der Proteinart festgestellt, was unterstreicht, dass die Faserquelle den größeren Einfluss

hat. Eine Interaktion zwischen Proteinquelle und Konzentrationen zeigte sich ebenfalls, wobei der Fasergehalt mit einer erhöhten Zufuhr von Erbsen und Bohnen ebenso ansteigt wie die Proteinkonzentration.

Bakteriengattungen, die Proteine fermentieren, wie *Peptoclostridium* (Jain und Zeikus 1988) und *Fusobacterium* (Loesche und Gibbons 1968), zeigten hingegen ein erhöhtes Vorkommen bei der Fütterung tierischer Proteinquellen. *Fusobacterium* ist bekannt für die Produktion von Butyrat als Endprodukt der Proteinverwertung (Loesche und Gibbons 1968). Es zeigten sich erhöhte Butyratkonzentrationen unter der Fütterung von Geflügelmehl. *Peptoclostridium* produziert sowohl Butyrat als auch i-Valeriansäure als Endprodukte des Proteinstoffwechsels (Jain und Zeikus 1988). Die fäkale Konzentration von i-Valeriansäure zeigte als einzige SCFA eine deutliche Interaktion zwischen Proteinart und Proteinkonzentration, Diätvariationen mit Quinoa und Geflügelmehl führten zu den höchsten Konzentrationen.

Zusätzlich zeigte die statistische Auswertung, dass das in den Diäten enthaltene Geflügelmehl einen deutlichen Einfluss auf die Diversität (Richness) der Mikrobiota hatte.

Die Fütterung tierischer Proteinquellen sowie die Erhöhung der Proteinkonzentration führte zu einer Erhöhung der Ammoniumkonzentration. Ammonium ist ein Metabolit, der durch Proteinfermentation entsteht (Zentek 2022). Diese Ergebnisse unterstreichen die Wechselwirkung zwischen Proteinart und Proteindosierung. Es zeigte sich auch eine Interaktion zwischen den in den Diätvarianten enthaltenen Kohlenhydrat- und Proteinquellen. Die fäkalen Phenol- und Indolkonzentrationen, die aus dem mikrobiellen Proteinabbau resultieren (Smith und Macfarlane 1997), waren ebenfalls bei der Fütterung von Geflügelmehl höher, wobei auch hier Interaktionen zwischen der Kohlenhydrat- und der Proteinquelle bzw. der Proteinkonzentration beobachtet wurden. Dabei traten die Wechselwirkungen zwischen Proteinart und -konzentration deutlicher hervor, was auf einen höheren Einfluss der Proteinquelle hinweist.

Metabolite, die Endprodukte der Kohlenhydratverwertung darstellen, wie D- und L-Laktat (Paßlack et al. 2021), zeigten sowohl bei pflanzlichen Proteinquellen als auch bei Kohlenhydratquellen eine erhöhte Konzentration. Die zusätzliche Interaktion zwischen Kohlenhydratquelle und Proteinart stärkt die These, dass die Faserquelle der pflanzlichen Proteinquelle entscheidender war als das Protein selbst.

Die Konzentration biogener Amine stieg unter der Fütterung mit pflanzlichen Diätvariationen an. Biogene Amine, ebenfalls Endprodukte des mikrobiellen Proteinabbaus (Wojcik et al. 2021), zeigten eine erhöhte Konzentration unter der Fütterung mit pflanzlichen Diätvariationen. Insbesondere für Putrescin, Histamin, Cadaverin und Spermidin zeigte sich eine erhöhte Konzentration bei einer gesteigerten Proteinzufuhr über die Diäten. Für Spermidin wurde eine moderate Wechselwirkung zwischen Kohlenhydratquelle und Proteinart sowie zwischen

Kohlenhydratquelle und Proteinzufuhr beobachtet, was darauf hinweist, dass die Faserquelle auch einen Einfluss hatte. Spermin hingegen zeigte eine deutliche Wechselwirkung zwischen Proteinart und Proteinkonzentration. Der Fasergehalt stieg mit einer erhöhten Zufuhr von Erbsen und Bohnen ebenso an wie die Proteinkonzentration, was die Bedeutung der Faserquelle unterstreicht.

Die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren (SCFAs) war stark von der Fütterung der Kohlenhydrate abhängig, insbesondere von Diätvariationen mit Quinoa. Die Fermentation nicht verdaulicher Polysaccharide führte zur Produktion von SCFAs (Cummings et al. 1987). Essigsäure, Propionsäure und die Gesamtmenge an kurzkettigen Fettsäuren zeigten eine deutliche Interaktion zwischen Kohlenhydratquelle und Proteinkonzentration, wobei Diätphasen mit Quinoa und Erbsen zu einem Anstieg der Konzentrationen führten. Dies unterstreicht erneut den Einfluss des Fasergehalts in Erbsen und Bohnen.

## 5.9 Untersuchungen der Parameter im Harn

### 5.9.1 Untersuchungen der Harnzusammensetzung

Die Harnsäurekonzentration und der Urin-pH-Wert standen in einem linearen Verhältnis zueinander. Der Urin-pH-Wert wird durch Protonen beeinflusst, die beim metabolischen Abbau von Nahrungsmitteln entstehen (Kanbara et al. 2012). Eine alkalisierende Ernährung, charakterisiert durch höheren Verzehr von Obst und Gemüse sowie geringeren Fleischkonsum, steht beim Menschen im Zusammenhang mit einem höheren Urin-pH-Wert (Welch et al. 2008). Dies bestätigt sich in der vorliegenden Studie mit Hunden. Die Zugabe von Erbsen und Bohnen sowie eine erhöhte Proteinzufuhr führte zu einem Anstieg des Urin-pH-Werts. Umgekehrt zeigten Diäten mit Weizen- und Geflügelprotein niedrigere Urin-pH-Werte (5,73 bis 6,30) im Vergleich zu Diäten mit Quinoa (7,20 bis 7,47). Eine Ausnahme bildete die Kombination von Weizen mit der pflanzlichen Proteinquelle, bei der eine höhere Dosierung im Futter auch einen höheren pH-Wert (7,42) ergab.

Die Osmolalität resultiert aus der Summe der gelösten Teilchen pro kg Lösungsmittel (Shah und Mandiga 2023). Natrium, Kalium, einwertige Anionen sowie Harnstoff sind die quantitativ bedeutendsten gelösten Stoffe im Urin (Sands und Layton 2009). In der vorliegenden Studie führten die Diätvarianten mit Quinoa zu den höchsten Werten für die Osmolalität. Bei der Betrachtung der Kalium- und Chloridwerte fällt auf, dass die Fütterung von Quinoa zu den höchsten Konzentrationen dieser Elektrolyte führte. Die Regressionsanalyse ergab, dass die Kaliumaufnahme über das Futter einen signifikanten Einfluss auf die Kaliumkonzentration im Harn hatte. Folglich könnte der höhere Kaliumgehalt in Quinoa zu einer höheren Osmolalität des Urins geführt haben. Die Osmolalität des Urins kann nach mehreren Stunden ohne Wasseraufnahme steigen und nach der Aufnahme großer Wassermengen rasch abnehmen (Sands und Layton 2009). Die tagesbedingten Schwankungen aufgrund der Wasseraufnahme müssen bei den Ergebnissen berücksichtigt werden, da nicht durchgehend 24 Stunden Urinproben gesammelt wurden, sondern nur beim täglichen Spaziergang.

Stickstoff ist als essenzielles Element in allen Aminosäuren enthalten. Er wird über die in der Nahrung enthaltenen Proteine aufgenommen und ist für die Proteinsynthese sowie den Erhalt der Muskelmasse erforderlich. Überschüssiger Stickstoff wird über die Nieren hauptsächlich in Form von Harnstoff und Ammonium ausgeschieden, wobei andere Stickstoffverbindungen (z. B. Stickstoffmonoxid-Metaboliten und Nitrat) und stickstoffhaltige Verbindungen (z. B. Harnsäure, Urinprotein usw.) weniger als 1 % der Gesamtausscheidung ausmachen (Weiner et al. 2015). Im Vergleich zu Hunden haben Katzen höhere endogene Stickstoffverluste (Hendriks et al. 1997; Weiner et al. 2015).

Die Bildung von Stickstoff im Körperkreislauf ist abhängig vom Abbau von Nahrungs- und körpereigenen Proteinen (Weiner et al. 2015). Diese Studie bestätigt, dass eine erhöhte Stickstoffkonzentration mit der Verwendung der höher verdaulichen Proteinquellen und einer Erhöhung des Proteingehalts in den Diäten korreliert. Diäten, die Quinoa in Kombination mit Erbsen und Bohnen enthalten, zeigten eine höhere Proteinverdaulichkeit und höhere Stickstoffkonzentration im Vergleich zu weizenhaltigen Diätvariationen mit Geflügelmehl.

Die renale Kreatininausscheidung ist unabhängig von der Muskelmasse des Tieres im Gegensatz zur Konzentration im Plasma (Braun et al. 2003). In Studien ist es umstritten, dass die renale Kreatininausscheidung beim Hund nach einer proteinhaltigen Mahlzeit ansteigt (O'Connor und Summerill 1976) bzw. nicht davon beeinflusst wird (Polzin et al. 1991). In dieser Studie wurde keine Zunahme der Kreatininkonzentration mit der Fütterung einer höheren Proteinkonzentration beobachtet.

#### 5.9.2 Anionen und Kationen sowie relative Übersättigung für Struvit und Calciumoxalat

Ein hoher Verzehr von tierischem Eiweiß erhöht nachweislich den Calcium- und Oxalatgehalt im Urin, was entscheidende Risikofaktoren für die Entstehung von Urolithiasis sind. Zudem führt dieses Ernährungsmuster zu einem signifikanten Anstieg der Harnsäureausscheidung, was die Wahrscheinlichkeit der Uratsteinbildung insgesamt erhöht (Swaminathan et al. 1979; Pak et al. 2005). In der hier vorgestellten Studie erhöhte das in den Diäten verwendete Quinoa nicht nur die Harnsäurekonzentration, sondern auch die relative Übersättigung mit Struvit und Calciumoxalat. In dieser Studie führten die pflanzlichen Proteinquellen und eine erhöhte Proteinzufuhr über die Diäten zu einer relativen Übersättigung von Struvit und Citrat. Im Gegensatz dazu wurde bei tierischen Proteinen, wie in der Literatur beschrieben, keine solche Übersättigung festgestellt (Swaminathan et al. 1979; Pak et al. 2005).

Der in Quinoa enthaltene antinutritive Faktor Oxalat verursacht eine Hyperoxalurie, die zu einer Übersättigung von Calciumoxalat führen kann (Siener et al. 2006). In der Literatur wird beschrieben, dass Kochen den löslichen Oxalatgehalt signifikant um 30 – 87 % reduziert (Chai und Liebman 2005). Demnach ist davon auszugehen, dass das Dampfgaren der Diäten in dieser Studie den Oxalatgehalt reduzierte.

### 5.10 Untersuchungen der Parameter im Blut

#### 5.10.1 Blutbild

In der vorliegenden Studie war es relevant, ob die in den pflanzlichen Protein- und Kohlehydratquellen enthaltenen antinutritiven Faktoren einen Einfluss auf hämatologische Parameter haben könnten. Phytinsäure bindet Kationen wie Eisen und verringert dadurch dessen Bioverfügbarkeit, was zu einem reduzierten Hämoglobingehalt im Blut führen kann (Marie Minihane und Rimbach 2002). Saponine sind dafür bekannt, Hämolyse durch Störung der

Zellmembranen zu verursachen (Segal et al. 1974), während Lectine die Eigenschaft besitzen, Blutzellen zu agglutinieren (Schnebli und Bächli 1975). In dieser Studie wurde jedoch keine Veränderung der hämatologischen Parameter festgestellt.

Die Fütterung pflanzlicher Proteinquellen hatte allerdings im Vergleich zu den Diäten mit der tierischen Proteinquelle einen Anstieg der eosinophilen Granulozyten zufolge ( $p < 0,001$ ). Eosinophile Granulozyten spielen eine Rolle im Rahmen allergischer Reaktionen (Zustakova et al. 2020). Zu den häufigsten im Futter identifizierten Allergenen bei Hunden zählen unter anderem tierische Proteinquellen wie Rind, Huhn, Milch, Eier, aber auch pflanzliche Protein- und Kohlenhydratquellen wie Mais, Weizen und Sojabohnen (Day 2005). Eine Zunahme der eosinophilen Granulozyten wurden im Blut auch bei gesunden jungen Hunden mit einer intestinalen Endoparasitose beobachtet (Guija-De-Arespacochaga et al. 2022). Eine parasitäre Infektion kann in der eigenen Studie insofern als unwahrscheinlich betrachtet werden, da die Hunde während des Versuchs alle drei Monate entwurmt wurden.

#### 5.10.2 Klinisch-chemische Parameter

Die Fütterung der höheren diätetischen Konzentration an Proteinen führte wie erwartet zu einem höheren Harnstoffgehalt im Blutplasma. Harnstoff stellt den größten zirkulierenden Stickstoffpool dar, abgesehen von dem proteingebundenen Stickstoff. Seine Produktion korreliert mit dem Abbau von Proteinen und Aminosäuren (Weiner et al. 2015). Eine Studie, die zwei unterschiedliche Proteinkonzentrationen (20 % und 40 %) in Kombination mit verschiedenen Faserquellen untersuchte, kam ebenfalls zu diesem Ergebnis, dass eine höhere Proteinkonzentration in der Diät zu einem erhöhten Harnstoffgehalt im Urin führte (Eisenhauer et al. 2019).

Aus den Ergebnissen ergibt sich, dass Diäten mit einem höheren Proteingehalt die Albuminkonzentration im Blut erhöhten. Eine proteinreiche Ernährung stimuliert die Albumin-Synthese direkt an der Stelle der Albumin-mRNA-Transkription. Ein erhöhter Proteingehalt in der Nahrung führt zu höheren hepatischen Albumin-mRNA-Konzentrationen im Steady-State und zu erhöhter Transkription von Albumin-mRNA (Kaysen et al. 1989a; Kaysen et al. 1989b). Im Gegensatz dazu führt eine Proteinrestriktion zu einer spezifischen Verringerung der Albumin-mRNA-Häufigkeit in der Leber, was darauf hinweist, dass die Eiweißzufuhr über die Nahrung die Synthese und Stabilität der Albumin-mRNA beeinflusst (Kaysen et al. 1989a).

Eine höhere Proteinzufuhr über die Diäten erhöhte auch die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Blutserum. In einer Versuchsstudie mit Ratten, die mit proteinreicher Nahrung gefüttert wurden, war die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Blut und in der Leber geringer, während die Aktivität der sauren Phosphatase unverändert blieb (Raju et al. 1993). Im Gegensatz dazu zeigte eine andere Studie, dass die Aktivität der alkalischen Phosphatase bei Personen

mit eiweißreicher Ernährung höher ist als bei Personen mit eiweißarmer Ernährung (Štěpán et al. 1976).

In einer Studie zur Untersuchung des Einflusses einer getreidefreien Ernährung auf die Gesundheit von Hunden wurden fünf Hunde über einen Zeitraum von 30 Tagen entweder mit einer herkömmlichen Kontrolldiät oder einer getreidefreien Diät gefüttert. Die Ergebnisse zeigten, dass Gesamtprotein, Albumin und Globulin durch die Verwendung von Getreide nicht beeinflusst wurden (Bakke et al. 2022). Die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase waren bei der getreidefreien Diät zu allen Probenentnahmezeitpunkten im Vergleich zum Ausgangswert erhöht, lagen jedoch bei allen Hunden innerhalb des Referenzbereichs. Es ist zu beachten, dass diese Studie eine kleine Stichprobengröße (n=5) hatte und keine genauen Angaben zum Inhalt des Futters gemacht wurden. Der Rohproteingehalt beider Diäten lag zwischen 261 – 278 g/kg TS und beinhaltete eine vergleichbare Konzentration an Aminosäuren (Bakke et al. 2022). In der hier vorgestellten Studie zeigten die Kohlenhydratquellen ebenfalls Einflüsse auf die klinisch-chemischen Parameter im Blut. Weizenhaltige Diäten erhöhten die Albuminkonzentration, während die Fütterung von Quinoa zu einer erhöhten Aktivität der alkalischen Phosphatase führte.

#### 5.10.3 Aminosäuren

Die Fütterung von pflanzlichen oder tierischen Proteinen sowie die Verwendung der zwei unterschiedlichen Kohlenhydratquellen in dieser Studie hatten keinen Einfluss auf die Taurin-, Methionin- und Cystinkonzentration im Plasma. Die Diäten wurden mit Cystin und Methionin ergänzt, um sicherzustellen, dass der Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren gedeckt war (NRC 2006).

Die Studie von Banton et al. (2021) untersuchte die Auswirkungen der Ergänzung eines getreidefreien Hundetrockenfutters mit Methionin, Taurin oder Methyl-Donatoren (Cholin) und Methyl-Empfängern (Kreatin und Carnitin) auf die postprandiale Aminosäurenkonzentration. Die Zugabe von Methionin erhöhte die Methionin- und Homocysteinkonzentrationen im Plasma und Vollblut, beeinflusste jedoch nicht die Plasmataurinkonzentration. Die Ergänzung mit Taurin erhöhte nur die Plasmataurinkonzentrationen, während die Gabe von Methylspendern und -empfängern keine Veränderungen bei den untersuchten Aminosäuren zeigte. In der hier vorgestellten Studie führte die Ergänzung von Cystin und Methionin ebenfalls zu keiner Erhöhung der Taurinkonzentration im Plasma.

Eine weitere Studie kam zu dem Ergebnis, dass ein vollständiges und ausgewogenes getreidefreies Hundefutter mit Taurinzusatz nicht zu niedrigeren Taurinkonzentrationen im Vollblut und Plasma im Vergleich zu einer getreidebasierten Diät führte. Die getreidehaltige Diät enthielt Sorghum, Hirse und Dinkel, während für das getreidefreie Futter Kartoffeln, Erbsen und

Tapiokastärke verwendet wurden. Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Konzentrationen an Rohprotein und schwefelhaltigen Aminosäuren der Basis- und Versuchsdiäten die für erwachsene Hunde empfohlene Erhaltungsmenge nach den Richtlinien der (NRC 2006) überstiegen. Die Taurinkonzentrationen der Versuchsfuttermittel waren im Vergleich zur Basisdiät etwas höher, da beide Diäten mit Taurin ergänzt wurden. Während des Versuchszeitraums war die Nahrungsaufnahme zwischen der getreidehaltigen und der getreidefreien Diät vergleichbar (143 g/d bzw. 146 g/d) (Pezzali et al. 2020).

Die Fütterung mit handelsüblichem Futter und drei Testdiäten, die entweder 30 % Reis, 30 % Erbsen (getreidefrei) oder 30 % Reis mit einem Zusatz von 1 % Raffinose (das in Erbsen vorherrschende Oligosaccharid) enthielten, führte ebenfalls zu unveränderten Plasmataurinspiegeln bei Hunden. Die konventionelle Diät wies einen Tauringehalt von 0,70 g/kg TS sowie einen Proteingehalt von 287 g/kg TS auf, während die Testdiäten vergleichbare Taurinkonzentrationen (1,30 bis 1,90 g/kg TS) und Proteingehalte (302 bis 312 g/kg TS) enthielten (Bokshowan et al. 2023).

Weitere Studien haben gezeigt, dass eine getreidefreie Ernährung bei Hunden möglicherweise zu einer unzureichenden Taurinversorgung führen kann (Kaplan et al. 2018; Freid et al. 2021; Bakke et al. 2022; Owens et al. 2023; Mccauley et al. 2024).

In einer Fütterungsstudie wurden verschiedene Diäten untersucht, die entweder einen hohen oder niedrigen Anteil an tierischem Protein enthielten und entweder mit oder ohne Getreide formuliert waren. Das Ergebnis dieser Studie zeigt, dass keine direkte Verbindung zwischen der Taurinkonzentration im Plasma oder Vollblut und der Gesundheit der Skelett- und Herzmuskulatur festgestellt wurde. Allerdings wurde festgestellt, dass die Dauer der Ernährung, die Hunderasse und die spezifische Zusammensetzung der Diät einen Einfluss hatten und miteinander korrelierten. Mischlingshunde wiesen im Vergleich zu Beagles höhere Taurinkonzentrationen im Vollblut auf. Diäten mit einem niedrigeren Proteinanteil und ohne Getreide führten zu niedrigeren Plasmataurinkonzentrationen im Vergleich zu den anderen Diäten, wobei die Taurinkonzentrationen dennoch innerhalb des Referenzbereichs lagen. Am Tag 180 wiesen Mischlingshunde im Vergleich zu allen anderen Zeitpunkten und Rassen einen signifikant erhöhten Gesamtcarnitingehalt in der Skelettmuskulatur auf ( $p < 0,001$ ) (Mccauley et al. 2024). Diese Ergebnisse widersprechen denen in der hier vorgestellten Studie. So hatte weder die Proteinzufuhr noch die Gabe einer getreidehaltigen und getreidefreien Diät einen signifikanten Einfluss auf die Taurinkonzentration im Plasma bzw. Serum.

Die Ergebnisse einer 30-tägigen Studie deuten laut den Autoren darauf hin, dass eine getreidefreie Diät basierend auf den Proteinquellen Kängurufleisch sowie Erbsen und Linsen möglicherweise zu einer Störung des Taurinstoffwechsels führen könnte. Obwohl im Vollblut keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diätgruppen festgestellt wurden, deuten die

verringerten Taurinkonzentrationen im Urin darauf hin, dass die Biosynthese den Taurinbedarf bei Fütterung mit der getreidefreien Testdiät nicht vollständig decken konnte, was durch den nur geringfügig unter den empfohlenen Werten liegenden Methionin- und Cysteingehalten in der Diät verstärkt worden sein könnte (Bakke et al. 2022). Demnach ist die Aussagekraft der hier vorgestellten Studie nur bedingt vollständig, da die Analyse der Taurinkonzentration im Urin nicht berücksichtigt wurde.

Getreidefreie Diäten in Kombination mit Hülsenfrüchten wurden in einigen Studien mit ernährungsbedingter dilatativer Kardiomyopathie bei Hunden in Verbindung gebracht (Kaplan et al. 2018; Freid et al. 2021; Owens et al. 2023). Innerhalb der Studien wurde teilweise zwischen traditioneller und nicht-traditioneller Diät unterschieden (Smith et al. 2022), jedoch wurde häufig nicht spezifiziert, welche Diäten verwendet wurden. Oftmals wurden unterschiedliche Diäten nur kategorisch eingeordnet, ohne den genauen Anteil an Hülsenfrüchten oder getreidefreien Komponenten anzugeben (Kaplan et al. 2018; Freid et al. 2021; Owens et al. 2023).

Eine Studie verglich drei Diäten, die mit Reismehl (Getreide), Linsen (ohne Getreide) oder Erbsen (ohne Getreide) formuliert waren, mit einer kommerziellen Diät auf Getreidebasis. Die Diäten enthielten einen vergleichbaren Protein- (309 bis 335 g/kg TS) und Tauringehalt (0,80 bis 1,00 g/kg TS). Nach einer 28-tägigen Fütterungsperiode zeigte die erbsenbasierte Diät negative Auswirkungen auf die Herzgesundheit, einschließlich einer Beeinträchtigung des Schlagvolumens und der Herzleistung, einer Vergrößerung des endsystolischen Ventrikeldurchmessers sowie erhöhter Plasmawerte des N-terminalen Pro-B-Natriuretischen Peptids (NT-ProBNP). Der Taurinspiegel im Plasma blieb unverändert, jedoch war die Methioninkonzentration im Plasma nach der Fütterung aller Testdiäten im Vergleich zur kommerziellen Diät deutlich niedriger. Diese DCM-ähnlichen Veränderungen, die nach nur vier Wochen bei einer nicht als anfällig bekannten Hunderasse beobachtet wurden, weisen auf einen Zusammenhang zwischen erbsenbasierter Ernährung und ernährungsbedingter DCM bei Hunden hin (Quilliam et al. 2023). Dieses bedarf jedoch weiterer Aufklärung. Um in der hier vorgestellten Studie einen Zusammenhang zwischen einer getreidefreien Diät basierend auf Hülsenfrüchten und möglichen kardiologischen Effekten festzustellen, wären weiterführende kardiologische Untersuchungen sowie die Messung des herzspezifischen N-terminalen Pro-B-Natriuretischen Peptids im Blut erforderlich gewesen.

Ein Einflussfaktor auf die Aminosäurekonzentration im Plasma ist der zeitliche Abstand zwischen Fütterung und Blutentnahme. Um potenziell falsch erhöhte Taurinkonzentrationen zu vermeiden, sollte bei der Blutentnahme zur Bestimmung der Taurinkonzentration in Plasma und Vollblut ein Mindestabstand von 2 Stunden nach dem Verzehr einer Mahlzeit eingehalten werden (Banton et al. 2021) und bis zu 48 Stunden nach der Nahrungsaufnahme entnommen

werden (Gray et al. 2016). Zur Vermeidung einer falsch hohen Taurinkonzentration erfolgte in der vorliegenden Studie die Blutentnahme 12 Stunden nach der letzten Fütterung.

Zusammenfassend wird die Aussagekraft der Plasmataurinkonzentration zur Beurteilung einer ausgewogenen Taurinkonzentration in der hier vorgestellten Literatur in Frage gestellt. Die Genauigkeit der Beurteilung der Taurinkonzentrationen im Vollblut gilt als höher als die der Plasmakonzentrationen. Daher sollte bei der Untersuchung des Taurinstatus bei Hunden nicht ausschließlich auf die Plasmakonzentrationen vertraut werden (Pezzali et al. 2020). Vollblut- und Urinausscheidung von Taurin, gemessen durch das Verhältnis von Taurin zu Kreatinin, scheinen empfindlichere Indikatoren für den Taurinstatus bei Hunden zu sein als Plasmataurin und sind daher für die Bewertung des Taurinstatus relevanter (Bakke et al. 2022). Taurinkonzentrationen wurden in der Vergangenheit als Biomarker für Myokardverletzungen bei Menschen verwendet, wobei Vollblutkonzentrationen in einigen Fällen enger mit Verletzungen verbunden zu sein scheinen als Plasmakonzentrationen. Ein Anstieg des Troponins I und des Plasmataurins kann auf geschädigte Kardiomyozyten hinweisen (Adin et al. 2021). Dabei spielen Rassenunterschiede eine Rolle. Eine Studie zu dieser Thematik ergab, dass Beagle im Vergleich zu größeren Mischlingshunden weniger anfällig für Taurinmangel sind. Diese Studie legt ebenfalls nahe, dass Plasmataurin ein weniger empfindlicher Indikator für den Taurinspiegel ist (Tórrés et al. 2022).

Plasmakonzentrationen von Aminosäuren können durch andere Faktoren beeinflusst werden. Bei Taurin hängt die Konzentration im Plasma auch vom eingesetzten Gerinnungshemmer ab, wobei Unterschiede je nach verwendetem Antikoagulans (Lithiumheparin oder Natrium citrat) bestanden (Kramer et al. 1995). Hämolyse sowie Kontamination mit Thrombo- oder Leukozyten können zu einem Anstieg der Taurinkonzentration führen (Sanderson 2006). Für die Cystinkonzentration ist es entscheidend, dass proteingebundenes Cystin verloren geht, wenn Plasmaproteine vor der Aminosäureanalyse entfernt werden, es sei denn, die Probe wird mit Sulfosalicylsäure deproteinisiert (Tórrés et al. 2004). In dieser Studie wurden das Serum mit 10 %iger Sulfosalicylsäure ausgefällt, bevor die Cystinkonzentration gemessen wurde.

#### 5.11 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Studie zeigte, dass Diäten auf pflanzlicher oder tierischer Proteinbasis, kombiniert mit Quinoa oder Weizen, die scheinbare Verdaulichkeit, mikrobielle Metaboliten, die Zusammensetzung der fäkalen Mikrobiota sowie Parameter im Urin und Blut bei Hunden beeinflussten. Sowohl die Protein- als auch die Kohlenhydratquellen erwiesen sich als entscheidend. Der Einsatz pflanzlicher Proteinquellen und des Pseudogetreides Quinoa zeigte keine Hinweise auf Unverträglichkeiten oder Mangelversorgungen. Die Wechselwirkungen zwischen Getreide, Pseudogetreide und pflanzlichen Proteinquellen sind bislang nicht gründlich untersucht worden, sodass diese Studie eine gute Grundlage für weitere Arbeiten auf diesem Gebiet darstellt.

## 6 Zusammenfassung

Litzenburger, Jennifer

Ernährungsbiologische Untersuchungen zum Einsatz "neuer" pflanzlicher Proteinquellen sowie zu der Relevanz des Getreideanteils in der Ernährung von Hunden

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Effekte pflanzlicher Proteinquellen in Futtermischungen mit und ohne Getreideanteile auf die scheinbare Verdaulichkeit der Nährstoffe, die fäkalen mikrobiellen Metabolite, die Mikrobiota sowie Harn- und Blutparameter bei Hunden zu untersuchen. In dieser Studie wurden 10 Beagles mit Diäten gefüttert, die entweder Geflügel- oder Leguminosenprotein (Erbsen- und Bohnenkonzentrat) sowie alternativ Weizen oder Quinoa enthielten. Das Studiendesign folgte einem Cross-Over-Design mit einem drei-faktoriellen Aufbau (Kohlenhydratquelle, Proteinquelle und -konzentration). Die Proteinkonzentrationen waren bedarfsdeckend oder auf das 1,5-fache erhöht. Nach einer dreiwöchigen Anpassungsphase wurden Kot-, Urin- und Blutproben entnommen und analysiert, um die Verdaulichkeit der Nährstoffe sowie die Konzentration von Mengen- und Spurenelementen zu bestimmen. Zusätzlich wurden in den Kotproben bakterielle Metabolite und die Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota analysiert. Das Blut wurde auf hämatologische und klinische Parameter sowie Aminosäurekonzentrationen untersucht. Der Urin wurde auf Anionen, Kationen und die Zusammensetzung analysiert.

Die Ergebnisse zeigten, dass pflanzliche Proteine eine höhere scheinbare Verdaulichkeit aufwiesen als tierische Proteine. Die Diäten mit Weizen und Geflügelmehl hatten die niedrigste scheinbare Proteinverdaulichkeit, während die Diätvarianten Quinoa in Kombination mit Erbsen und Bohnen und sowie Weizen mit dem 1,5-fachen Gehalt an pflanzlichen Proteinquellen die höchste scheinbare Verdaulichkeit aufwiesen. Für die Verdaulichkeit von Kalium, Magnesium und Natrium hatte der unterschiedliche Mineralstoffgehalt in den acht Diäten einen Einfluss. Die Verdaulichkeit der Mengenelemente Calcium, Phosphor, Magnesium und Natrium sowie der Spurenelemente Kupfer und Zink war nicht eindeutig durch die Diäten beeinflusst.

Diäten mit tierischen Proteinen sowie die proteinreichen Rationsvarianten erhöhten die Ammoniumkonzentration in den Fäzes. Weizenhaltige Diäten erhöhten die fäkalen D- und L-Laktat-Konzentrationen, mit Ausnahme der weizenhaltigen Diäten in Kombination mit Geflügelmehl. Diäten mit Quinoa führten zu erhöhten Konzentrationen von Phenol und Indol im Kot. Der Einsatz tierischer Proteine und eine erhöhte Proteinkonzentration führten zu höheren fäkalen Konzentrationen von i-Buttersäure und i-Valeriansäure. Diätvariationen mit Quinoa erhöhten hingegen die Konzentrationen von Essigsäure, Propionsäure, i-Buttersäure, i-Valeriansäure sowie den Gesamtgehalt an kurzkettigen Fettsäuren.

Die Proteinquellen beeinflussten die bakterielle Diversität im Hundekot, wobei tierische Proteine die höchste Diversität der fäkalen Mikrobiota und einen Anstieg der Fusobakterien verursachten. Pflanzliche Proteine begünstigten hingegen das relative Vorkommen von *Actinobacterium* spp. Diäten auf Basis von Geflügelmehl führten zu einem Anstieg des Vorkommens von *Fusobacterium*, *Peptoclostridium* und *Sellimonas* spp., während Diäten, die pflanzliche Proteine enthielten, ein erhöhtes relatives Vorkommen von *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* und *Prevotella* spp. bewirkten. Ein Anstieg des relativen Vorkommens der Genera *Peptoclostridium* und *Streptococcus* wurde durch eine erhöhte Proteinzufuhr beobachtet. Die pH-Werte im Urin waren bei Hunden, die mit Weizen und Geflügelprotein gefüttert wurden, niedriger (5,73 bis 6,30) als bei Hunden, die mit Quinoa gefüttert wurden (7,20 bis 7,47). Die Konzentrationen von Phosphat, Citrat und Struvit im Urin waren von dem Proteingehalt und der Proteinquelle der Diäten abhängig. Ein höherer Proteingehalt führte zu geringeren Phosphatkonzentrationen, während Citrat und die RSS-Werte für Struvit trotz signifikanter Effekte variabel blieben. Die in den Diäten enthaltenen Erbsen und Bohnen bewirkten eine relative Übersättigung mit Struvit.

Die Proteinquellen führten nur zu geringfügigen Veränderungen der hämatologischen Parameter, während die Serumharnstoff- und Albuminkonzentrationen signifikant durch den Proteingehalt in den Diäten beeinflusst wurden. Bei der Verwendung von Quinoa in den Diäten stieg die Aktivität der Alanin-Aminotransferase im Serum der Hunde im Vergleich zur Fütterung einer weizenhaltigen Diät signifikant an. Zudem wurden höhere Bilirubinkonzentrationen im Serum beobachtet. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum erhöhte sich bei der Fütterung von Quinoa im Vergleich zu den weizenhaltigen Diätvariationen ( $p=0,030$ ). Die Aktivität der alkalischen Phosphatase war niedriger, wenn proteinreichere Diäten verfüttert wurden.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass sowohl pflanzliche Proteinquellen als auch Quinoa als sogenanntes Pseudogetreide in der Hundeernährung verwendet werden können. Nach den vorliegenden Untersuchungen hat sich ein moderater Proteingehalt als günstig für Hunde erwiesen, da dies zu weniger Proteinabbauprodukten führt, die potenziell nachteilige Auswirkungen auf den Organismus haben können.

## 7 Summary

Litzenburger, Jennifer

Nutritional Studies on the Use of "New" Plant Protein Sources and the Relevance of Grain Content in Dog Nutrition

The aim of this study was to investigate the effects of plant protein sources, with and without grain inclusion, on the apparent digestibility, faecal metabolites, microbiota, as well as urinary and blood parameters in dogs. In this study, 10 Beagles were fed diets containing either poultry or legume protein (pea and bean concentrate) and alternatively wheat or quinoa. The study design followed a crossover model with a three-factorial design, where the first factor represented the carbohydrate, the second the protein component and the third the dietary protein concentration. The dietary protein levels were adjusted to fulfil the needs of dogs for essential amino acids or to 1.5 times the amount of protein and amino acids compared to the maintenance requirement. After a three-week adaptation phase, faecal, urine, and blood samples were collected and analysed to determine the nutrient digestibility and the concentrations of macro- and trace elements. Additionally, bacterial metabolites and the composition of the intestinal microbiota were analysed in the faecal samples. The blood samples were analysed for haematological and clinical parameters as well as amino acid concentrations, while the urine samples were examined for anions, cations, and overall composition.

The results showed that plant proteins had a higher apparent digestibility compared to animal proteins. The diets with wheat and poultry meal had the lowest apparent protein digestibility, while the diet variants of quinoa in combination with peas and beans, as well as wheat with 1.5 times the content of plant protein sources, had the highest apparent digestibility. The digestibility of potassium, magnesium, and sodium was influenced by the varying mineral content in the eight diets. The digestibility of macro elements (calcium, phosphorus, magnesium, and sodium) and trace elements (copper and zinc) was not consistently affected by the diets.

Diets with animal proteins and high-protein rations increased the ammonium concentration in the faeces. Wheat-based diets increased faecal D-lactate and L-lactate concentrations, except for wheat-based diets combined with poultry meal. Quinoa diets led to higher concentrations of phenol and indole in the faeces. The use of animal proteins and increased protein concentration resulted in higher faecal concentrations of isobutyric acid and isovaleric acid. Conversely, quinoa diet variations increased the concentrations of acetic acid, propionic acid, isobutyric acid, isovaleric acid, and the total content of short-chain fatty acids.

Protein sources affected the bacterial diversity in dog faeces, with animal proteins causing the highest diversity of faecal microbiota and an increase in *Fusobacterium* spp. Plant proteins

favoured the relative occurrence of *Actinobacterium* spp. Diets based on poultry meal led to an increase in *Fusobacterium* spp., *Peptoclostridium* spp., and *Sellimonas* spp., while diets containing plant proteins resulted in a higher relative occurrence of *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., and *Prevotella* spp. An increase in the relative occurrence of the genera *Peptoclostridium* spp. and *Streptococcus* spp. was observed with higher protein intake from the diet. The pH values in the urine were lower in dogs fed wheat and poultry protein (5.73 - 6.30) compared to those fed quinoa (7.20 - 7.47). The concentrations of phosphate, citrate, and struvite in the urine were dependent on the protein content and protein source in the diets. Higher protein content led to lower phosphate concentrations, while citrate and RSS values for struvite remained variable despite significant effects. The peas and beans in the diets caused a relative supersaturation with struvite.

The protein sources led to minor changes in haematological parameters, while serum urea and albumin concentrations were significantly influenced by the protein content in the diets. When quinoa was used in the diet, the activity of alanine aminotransferase in the serum of the dogs increased compared to feeding a wheat-containing diet ( $p=0.017$ ), and higher serum bilirubin concentrations were also observed ( $p=0.031$ ). Serum alkaline phosphatase activity increased when quinoa was fed instead of wheat-containing feed ( $p=0.030$ ) and was lower when the protein content of the feed was higher than when the dogs were fed a diet that met their maintenance protein requirements.

In summary, the results of this study indicate that both plant protein sources and quinoa can be used in dog nutrition. A moderate protein content has been shown to be beneficial for dogs, as it results in fewer protein breakdown products that could potentially have adverse effects on the organism.

## 8 Literaturverzeichnis

AAFCO. (2019).

Association of American feed control officials.

Abgerufen am: 27.06.2024 um 12:30 Uhr, <https://www.aaeco.org/resources/official-publication/>.

Abdel-Gawad, A. (1993):

Effect of domestic processing on oligosaccharide content of some dry legume seeds.

Food chemistry 46: 25-31. DOI: 10.1016/0308-8146(93)90070-V.

Adamcová, A., K. H. Laursen and N. Z. Ballin (2021):

Lectin activity in commonly consumed plant-based foods: calling for method harmonization and risk assessment.

Foods 10: 2796. DOI: 10.3390/foods10112796.

Adeva, M. M., G. Souto, N. Blanco and C. Donapetry (2012):

Ammonium metabolism in humans.

Metabolism 61: 1495-1511. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.07.007.

Adibah, K. Z. M. and M. A. Azzreena (2019):

Plant toxins: alkaloids and their toxicities.

GSC Biological and Pharmaceutical Sciences 6. DOI: 10.30574/gscbps.2019.6.2.0003.

Adin, D., T. C. De Francesco, B. Keene, S. Tou, K. Meurs, C. Atkins, B. Aona, K. Kurtz, L. Barron and K. Saker (2019):

Echocardiographic phenotype of canine dilated cardiomyopathy differs based on diet type.

Journal of Veterinary Cardiology 21: 1-9. DOI: 10.1016/j.jvc.2018.11.002.

Adin, D., L. Freeman, R. Stepien, J. E. Rush, S. Tjostheim, H. Kellihan, M. Aherne, M. Vereb and R. Goldberg (2021):

Effect of type of diet on blood and plasma taurine concentrations, cardiac biomarkers, and echocardiograms in 4 dog breeds.

Journal of Veterinary Internal Medicine 35: 771-779. DOI: 10.1111/jvim.16075.

Agarwal, N., N. Kolba, N. Khen, C. Even, S. Turjeman, O. Koren and E. Tako (2022):

Quinoa Soluble Fiber and Quercetin Alter the Composition of the Gut Microbiome and Improve Brush Border Membrane Morphology In Vivo (Gallus gallus).

Nutrients 14. DOI: 10.3390/nu14030448.

- Agungpriyono, D., K. Uchida, H. Tabaru, R. Yamaguchi and S. Tateyama (1999):  
Subacute massive necrotizing myocarditis by canine parvovirus type 2 infection with diffuse leukoencephalomalacia in a puppy.  
Veterinary pathology 36: 77-80. DOI: 10.1354/vp.36-1-77.
- Ahmed, A., N. Khalid, A. Ahmad, N. Abbasi, M. Latif and M. Randhawa (2014):  
Phytochemicals and biofunctional properties of buckwheat: a review.  
Journal of Agricultural Science 152: 349-369. DOI: 10.1017/S0021859613000166.
- Albizuri, S., A. Grandal-d'Anglade, J. Maroto, M. Oliva, A. Rodríguez, N. Terrats, A. Palomo and F. J. López-Cachero (2021):  
Dogs that Ate Plants: Changes in the Canine Diet During the Late Bronze Age and the First Iron Age in the Northeast Iberian Peninsula.  
Journal of World Prehistory 34: 75-119. DOI: 10.1007/s10963-021-09153-9.
- Alessandri, G., C. Milani, L. Mancabelli, M. Mangifesta, G. A. Lugli, A. Viappiani, S. Duranti, F. Turroni, M. C. Ossiprandi, D. van Sinderen and M. Ventura (2019):  
Metagenomic dissection of the canine gut microbiota: insights into taxonomic, metabolic and nutritional features.  
Environ Microbiol 21: 1331-1343. DOI: 10.1111/1462-2920.14540.
- Alonso, R., E. Orue and F. Marzo (1998):  
Effects of extrusion and conventional processing methods on protein and antinutritional factor contents in pea seeds.  
Food chemistry 63: 505-512. DOI: 10.1016/S0308-8146(98)00037-5.
- Alvarenga, I. C., C. G. Aldrich and Y.-C. Shi (2021):  
Factors affecting digestibility of starches and their implications on adult dog health.  
Animal Feed Science and Technology 282: 115134. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2021.115134.
- Amornwatcharapong, W., S. Maenpuen, P. Chitnumsub, U. Leartsakulpanich and P. Chaiyen (2017):  
Human and Plasmodium serine hydroxymethyltransferases differ in rate-limiting steps and pH-dependent substrate inhibition behavior.  
Archives of biochemistry and biophysics 630: 91-100. DOI: 10.1016/j.abb.2017.07.017.
- Arendt, M., K. M. Cairns, J. W. Ballard, P. Savolainen and E. Axelsson (2016):  
Diet adaptation in dog reflects spread of prehistoric agriculture.  
Heredity (Edinb) 117: 301-306. DOI: 10.1038/hdy.2016.48.

Arendt, M., T. Fall, K. Lindblad-Toh and E. Axelsson (2014):

Amylase activity is associated with AMY2B copy numbers in dog: implications for dog domestication, diet and diabetes.

Anim Genet 45: 716-722. DOI: 10.1111/age.12179.

Asp, N.-G. (1996):

Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology.

Food chemistry 57: 9-14. DOI: 10.1016/0308-8146(96)00055-6.

Assad, R., Z. A. Reshi, S. Jan and I. Rashid (2017):

Biology of amaranths.

The botanical review 83: 382-436. DOI: 10.1007/s12229-017-9194-1.

Axelsson, E., A. Ratnakumar, M. L. Arendt, K. Maqbool, M. T. Webster, M. Perloski, O. Liberg, J. M. Arnemo, A. Hedhammar and K. Lindblad-Toh (2013):

The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet.

Nature 495: 360-364. DOI: 10.1038/nature11837.

Backus, R. C., G. Cohen, P. D. Pion, K. L. Good, Q. R. Rogers and A. J. Fascetti (2003):

Taurine deficiency in Newfoundlands fed commercially available complete and balanced diets.

Journal of the American Veterinary Medical Association 223: 1130-1136. DOI: 10.2460/javma.2003.223.1130.

Baker, E. and G. Mustakas (1973):

Heat inactivation of trypsin inhibitor, lipoxigenase and urease in soybeans: effect of acid and base additives.

Journal of the American Oil Chemists' Society 50: 137-141. DOI: 10.1007/BF02640466.

Bakke, A. M., J. Wood, C. Salt, D. Allaway, M. Gilham, G. Kuhlman, T. Bierer, R. Butterwick and C. O'Flynn (2022):

Responses in randomised groups of healthy, adult Labrador retrievers fed grain-free diets with high legume inclusion for 30 days display commonalities with dogs with suspected dilated cardiomyopathy.

BMC Veterinary Research 18: 157. DOI: 10.1186/s12917-022-03264-x.

Banton, S., J. G. Pezzali, A. Verbrugge, M. Bakovic, K. M. Wood and A. K. Shoveller (2021):

Addition of dietary methionine but not dietary taurine or methyl donors/receivers to a grain-free diet increases postprandial homocysteine concentrations in adult dogs.

Journal of Animal Science 99. DOI: 10.1093/jas/skab223.

Barry, K. A., D. C. Hernot, I. S. Middelbos, C. Francis, B. Dunsford, K. S. Swanson and G. C. Fahey, Jr. (2009):

Low-level fructan supplementation of dogs enhances nutrient digestion and modifies stool metabolite concentrations, but does not alter fecal microbiota populations.

Journal of Animal Science 87: 3244-3252. DOI: 10.2527/jas.2008-1659.

Beaumier, L., L. Castillo, A. M. Ajami and V. R. Young (1995):

Urea cycle intermediate kinetics and nitrate excretion at normal and "therapeutic" intakes of arginine in humans.

American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 269: E884-E896. DOI: 10.1152/ajpendo.1995.269.5.E884.

Becker, R., E. Wheeler, K. Lorenz, A. Stafford, O. Grosjean, A. Betschart and R. Saunders (1981):

A compositional study of amaranth grain.

Journal of food science 46: 1175-1180. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1981.tb03018.x.

Belenguer, A., S. H. Duncan, A. G. Calder, G. Holtrop, P. Louis, G. E. Lobley and H. J. Flint (2006):

Two routes of metabolic cross-feeding between *Bifidobacterium adolescentis* and butyrate-producing anaerobes from the human gut.

Applied and environmental microbiology 72: 3593-3599. DOI: 10.1128/AEM.72.5.3593-3599.2006.

Belitz, H.-D., W. Grosch and P. Schieberle (2004):

Amino acids, peptides, proteins.

In: Food chemistry. Berlin; Heidelberg, Springer Spektrum. 3. Auflage.

Bender, D. and R. Schönlechner (2021):

Recent developments and knowledge in pseudocereals including technological aspects.

Acta Alimentaria 50: 583-609. DOI: 10.1556/066.2021.00136.

Berg, J. M., J. L. Tymoczko and L. Stryer (2013):

Zusammensetzung und Struktur der Proteine.

In: Stryer Biochemie. Berlin; Heidelberg, Springer Spektrum. 7. Auflage: S. 25-65.

10.1007/978-3-8274-2989-6\_3

978-3-8274-2989-6

Beynen, A., J. Baas, P. Hoekemeijer, H. Kappert, M. Bakker, J. Koopman and A. Lemmens (2002):

Faecal bacterial profile, nitrogen excretion and mineral absorption in healthy dogs fed supplemental oligofructose.

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 86: 298-305. DOI: 10.1046/j.1439-0396.2002.00386.x.

Birukou, I., R. L. Schweers and J. S. Olson (2010):

Distal histidine stabilizes bound O<sub>2</sub> and acts as a gate for ligand entry in both subunits of adult human hemoglobin.

Journal of Biological Chemistry 285: 8840-8854. DOI: 10.1074/jbc.M109.053934.

Blachier, F., M. Andriamihaja and X.-F. Kong (2022):

Fate of undigested proteins in the pig large intestine: What impact on the colon epithelium?

Animal Nutrition 9: 110-118. DOI: 10.1016/j.aninu.2021.08.001.

Blaza, S. E., I. H. Burger, D. W. Holme and P. T. Kendall (1982):

Sulfur-containing amino acid requirements of growing dogs.

The Journal of nutrition 112: 2033-2042. DOI: 10.1093/jn/112.11.2033.

Bokshowan, E., T. D. Olver, M. O. Costa and L. P. Weber (2023):

Oligosaccharides and diet-related dilated cardiomyopathy in beagles.

Frontiers in Veterinary Science 10: 1183301. DOI: 10.3389/fvets.2023.1183301.

Bompard-Gilles, C., P. Rousseau, P. Rougé and F. Payan (1996):

Substrate mimicry in the active center of a mammalian  $\alpha$  amylase: Structural analysis of an enzyme-inhibitor complex.

Structure 4: 1441-1452. DOI: 10.1016/S0969-2126(96)00151-7.

Bone, E., A. Tamm and M. Hill (1976):

The production of urinary phenols by gut bacteria and their possible ce: role in the causation of large bowel cancer.

The American Journal of Clinical Nutrition 29: 1448-1454.

Bora, P. (2014):

Anti-nutritional factors in foods and their effects.

Journal of Academia and Industrial Research 3: 285-290.

Boulter, D., I. Evans and A. Thompson (1976):

Screening for protein quality in legumes.

Qualitas Plantarum 26: 107-119. DOI: 10.1007/BF01268197.

Boye, J., F. Zare and A. Pletch (2010):

Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed.

Food Research International 43: 414-431. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.09.003.

Bradford, N. and J. McGivan (1980):

Evidence for the existence of an ornithine/citrulline antiporter in rat liver mitochondria.

FEBS letters 113: 294-298. DOI: 10.1016/0014-5793(80)80612-0.

Braun, J., H. Lefebvre and A. Watson (2003):

Creatinine in the dog: a review.

Veterinary Clinical Pathology 32: 162-179. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2003.tb00332.x.

Britton, R. A. and V. B. Young (2014):

Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by *Clostridium difficile*.

Gastroenterology 146: 1547-1553. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.059.

Brown, W. Y., B. A. Vanselow, A. J. Redman and J. R. Pluske (2009):

An experimental meat-free diet maintained haematological characteristics in sprint-racing sled dogs.

British journal of nutrition 102: 1318-1323. DOI: 10.1017/S0007114509389254.

Burns, R., J. Milner and J. Corbin (1981):

Arginine: an indispensable amino acid for mature dogs.

The Journal of nutrition 111: 1020-1024. DOI: 10.1093/jn/111.6.1020.

Carciofi, A. C., F. S. Takakura, L. D. de-Oliveira, E. Teshima, J. T. Jeremias, M. A. Brunetto and F. Prada (2008):

Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response.

J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 92: 326-336. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2007.00794.x.

Cavanaugh, S. M., R. P. Cavanaugh, G. E. Gilbert, E. L. Leavitt, J. K. Ketzis and A. B. Vieira (2021):

Short-term amino acid, clinicopathologic, and echocardiographic findings in healthy dogs fed a commercial plant-based diet.

Public Library of Science 16: e0258044. DOI: 10.1371/journal.pone.0258044.

Cedar, H. and J. Schwartz (1969):

The asparagine synthetase of *Escherichia coli*: II. Studies on mechanism.  
Journal of Biological Chemistry 244: 4122-4127. DOI: 10.1016/S0021-9258(17)36392-5.

Chai, W. and M. Liebman (2005):  
Effect of different cooking methods on vegetable oxalate content.  
Journal of agricultural and food chemistry 53: 3027-3030. DOI: 10.1021/jf048128d.

Chakrabarti, P. (1989):  
Geometry of interaction of metal ions with sulfur-containing ligands in protein structures.  
Biochemistry 28: 6081-6085.

Chiofalo, B., G. De Vita, V. L. Presti, S. Cucinotta, G. Gaglio, F. Leone and A. R. Di Rosa (2019):

Grain free diets for utility dogs during training work: Evaluation of the nutrient digestibility and faecal characteristics.

Animal Nutrition 5: 297-306. DOI: 10.1016/j.aninu.2019.05.001.

Churchward-Venne, T. A., L. Breen, D. M. Di Donato, A. J. Hector, C. J. Mitchell, D. R. Moore, T. Stellingwerff, D. Breuille, E. A. Offord and S. K. Baker (2014):

Leucine supplementation of a low-protein mixed macronutrient beverage enhances myofibrillar protein synthesis in young men: a double-blind, randomized trial.

The American journal of clinical nutrition 99: 276-286. DOI: 10.3945/ajcn.113.068775.

Cianciaruso, B., M. R. Jones and J. D. Kopple (1981):

Histidine, an essential amino acid for adult dogs.

The Journal of nutrition 111: 1074-1084. DOI: 10.1093/jn/111.6.1074.

Clarke, J. T. and D. M. Bier (1982):

The conversion of phenylalanine to tyrosine in man. Direct measurement by continuous intravenous tracer infusions of L-[ring-2H5] phenylalanine and L-[1-13C] tyrosine in the postabsorptive state.

Metabolism 31: 999-1005. DOI: 10.1016/0026-0495(82)90142-1.

Clarridge III, J. E. (2004):

Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases.

Clinical microbiology reviews 17: 840-862. DOI: 10.1128/cmr.17.4.840-862.2004.

Coëffier, M., S. Claeysens, B. Hecketsweiler, A. Lavoinne, P. Ducrotté and P. Déchelotte (2003):

Enteral glutamine stimulates protein synthesis and decreases ubiquitin mRNA level in human gut mucosa.

American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology 285: G266-G273. DOI: 10.1152/ajpgi.00385.2002.

Corbee, R. J. (2024):

The effects of galacto-oligosaccharides on faecal parameters in healthy dogs and cats. Research in Veterinary Science 167: 105116. DOI: 10.1016/j.rvsc.2023.105116.

Cresci, G. A. and E. Bawden (2015):

Gut Microbiome.

Nutrition in Clinical Practice 30: 734-746. DOI: 10.1177/0884533615609899.

Crews, C., W. Anderson, G. Rees and R. Krska (2009):

Ergot alkaloids in some rye-based UK cereal products.

Food Additives and Contaminants: Part B 2: 79-85. DOI: 10.1080/02652030903042509.

Cummings, J. H., E. Pomare, W. Branch, C. Naylor and G. MacFarlane (1987):

Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood.

Gut 28: 1221-1227. DOI: 10.1136/gut.28.10.1221.

D'silva, C., H. Bae, L. Yanke, K.-J. Cheng and L. Selinger (2000):

Localization of phytase in *Selenomonas ruminantium* and *Mitsuokella multiacidus* by transmission electron microscopy.

Canadian journal of microbiology 46: 391-395. DOI: 10.1139/w00-001.

Day, M. J. (2005):

The canine model of dietary hypersensitivity.

Proceedings of the nutrition society 64: 458-464. DOI: 10.1079/PNS2005455.

De la Rosa, A. B., I. S. Fomsgaard, B. Laursen, A. G. Mortensen, L. Olvera-Martínez, C. Silva-Sánchez, A. Mendoza-Herrera, J. González-Castañeda and A. De León-Rodríguez (2009):

Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality.

Journal of Cereal Science 49: 117-121. DOI: 10.1016/j.jcs.2008.07.012.

Dearman, R. and I. Kimber (2009):

Animal models of protein allergenicity: potential benefits, pitfalls and challenges.

Clinical & Experimental Allergy 39: 458-468.

Deleve, L. D. and N. Kaplowitz (1990):

Importance and regulation of hepatic glutathione.

Seminars in liver disease, © 1990 by Thieme Medical Publishers, Inc.

Delzenne, N. M. (2003):

Oligosaccharides: state of the art.

Proceedings of the nutrition Society 62: 177-182. DOI: 10.1079/PNS2002225.

Dieterle, P., F. Brawand, U. K. Moser and P. Walter (1978):

Alanine metabolism in rat liver mitochondria.

European Journal of Biochemistry 88: 467-473. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1978.tb12471.x.

Domínguez-Oliva, A., D. Mota-Rojas, I. Semendric and A. L. Whittaker (2023):

The impact of vegan diets on indicators of health in dogs and cats: a systematic review.

Veterinary Sciences 10: 52. DOI: 10.3390/vetsci10010052.

Donadelli, R. A., C. G. Aldrich, C. K. Jones and R. S. Beyer (2019):

The amino acid composition and protein quality of various egg, poultry meal by-products, and vegetable proteins used in the production of dog and cat diets.

Poult Sci 98: 1371-1378. DOI: 10.3382/ps/pey462.

Donadelli, R. A., J. G. Pezzali, P. M. Oba, K. S. Swanson, C. Coon, J. Varney, C. Pendlebury and A. K. Shoveller (2020):

A commercial grain-free diet does not decrease plasma amino acids and taurine status but increases bile acid excretion when fed to Labrador Retrievers.

Translational Animal Science 4: txa141. DOI: 10.1093/tas/txaa141.

Dukes-McEwan, J., M. Borgarelli, A. Tidholm, A. C. Vollmar, J. Häggström and E. T. f. C. D. Cardiomyopathy (2003):

Proposed guidelines for the diagnosis of canine idiopathic dilated cardiomyopathy.

Journal of veterinary cardiology 5: 7-19. DOI: 10.1016/S1760-2734(06)70047-9.

Ebere, U. and A. C. Godswill (2016):

Effect of some processing methods on hemagglutinin activity of lectin extracts from selected grains (cereals and legumes).

Journal of Advanced Academic Research 2: 24-59.

Edwards, A. W. (2005):

RA Fischer, statistical methods for research workers, (1925).

In: Landmark writings in western mathematics 1640-1940, Elsevier: 856-870.

Eggum, B. O., I. Kreft and B. Javornik (1980):

Chemical composition and protein quality of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench).  
Plant Foods for Human Nutrition 30: 175-179. DOI: 10.1007/BF01094020.

Eisenhauer, A. L. (2019):

Effekte von Diäten mit unterschiedlichen Proteingehalten und Faserstoffen auf verdauungsphysiologische Parameter beim Hund / vorgelegt von Anne Laura Eisenhauer, Tierärztin. Mensch und Buch Verlag.

Eisenhauer, L., W. Vahjen, T. Dadi, B. Kohn and J. Zentek (2019):

Effects of Brewer's spent grain and carrot pomace on digestibility, fecal microbiota, and fecal and urinary metabolites in dogs fed low- or high-protein diets.

Journal of Animal Science 97: S. 4124-4133. DOI: 10.1093/jas/skz264.

EI-Wahab, A. A., V. Wilke, R. Grone and C. Visscher (2021):

Nutrient digestibility of a vegetarian diet with or without the supplementation of feather meal and either corn meal, fermented rye or rye and its effect on fecal quality in dogs.

Animals 11: 496.

FDA. (2018).

FDA Investigating Potential Connection Between Diet and Cases of Canine Heart Disease.

abgerufen am: 01.07.2023 um 16:02, <https://wayback.archive-it.org/7993/20201222194256/https://www.fda.gov/animal-veterinary/cvm-updates/fda-investigating-potential-connection-between-diet-and-cases-canine-heart-disease>.

FEDIAF. (2023).

Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs.

Abgerufen am 01.07.2024 um 12:51, <https://europeanpetfood.org/self-regulation/nutritional-guidelines/>.

Fenn, D., N. Wang and L. Maximiuk (2022):

Physicochemical, anti-nutritional, and functional properties of air-classified protein concentrates from commercially grown Canadian yellow pea (*Pisum sativum*) varieties with variable protein levels.

Cereal Chemistry 99: 157-168. DOI: 10.1002/cche.10506.

Fentzke, R. C., C. E. Korcarz, R. M. Lang, H. Lin and J. M. Leiden (1998):

Dilated cardiomyopathy in transgenic mice expressing a dominant-negative CREB transcription factor in the heart.

The Journal of clinical investigation 101: 2415-2426. DOI: 10.1172/JCI2950.

Finkelstein, J. D. (1990):

Methionine metabolism in mammals.

The Journal of nutritional biochemistry 1: 228-237. DOI: 10.1016/0955-2863(90)90070-2.

Fossati, L. A., J. A. Larsen, C. Villaverde and A. J. Fascetti (2019):

Determination of mammalian DNA in commercial canine diets with uncommon and limited ingredients.

Veterinary medicine and science 5: 30-38. DOI: 10.1002/vms3.125.

Freid, K. J., L. M. Freeman, J. E. Rush, S. M. Cunningham, M. S. Davis, E. T. Karlin and V. K. Yang (2021):

Retrospective study of dilated cardiomyopathy in dogs.

Journal of Veterinary Internal Medicine 35: 58-67. DOI: 10.1111/jvim.15972.

Friedman, M. (1996):

Nutritional value of proteins from different food sources. A review.

Journal of agricultural and food chemistry 44: 6-29. DOI: 10.1021/jf9400167.

Frikha, M., D. G. Valencia, A. de Coca-Sinova, R. Lázaro and G. G. Mateos (2013):

Ileal digestibility of amino acids of unheated and autoclaved pea protein concentrate in broilers 1. Funds from Project AGL2011-03506. Ministerio de Ciencia e Innovación, C.P. 28040 Madrid, Spain.

Poultry Science 92: 1848-1857. DOI: 10.3382/ps.2013-03007.

Galler, S., C. Hutzler and T. Haller (1990):

Effects of taurine on Ca<sup>2+</sup>-dependent force development of skinned muscle fibre preparations.

Journal of experimental biology 152: 255-264. DOI: 10.1242/jeb.152.1.255.

Gaschen, F. P. and S. R. Merchant (2011):

Adverse food reactions in dogs and cats.

Veterinary Clinics: Small Animal Practice 41: 361-379. DOI: 10.1016/j.cvsm.2011.02.005.

Gessert, C. and P. Phillips (1956):

Adverse effects of some amino acid supplements in low-protein diets for growing dogs.

The Journal of nutrition 58: 423-431. DOI: 10.1093/jn/58.3.423.

Goldstein, L. and E. Newsholme (1976):

The formation of alanine from amino acids in diaphragm muscle of the rat.

Biochemical Journal 154: 555. DOI: 10.1042/bj1540555.

Gray, K., L. G. Alexander, R. Staunton, A. Colyer, A. Watson and A. J. Fascetti (2016):

The effect of 48-hour fasting on taurine status in healthy adult dogs.

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 100: 532-536. DOI: 10.1111/jpn.12378.

Güçlü-Üstündağ, Ö. and G. Mazza (2007):

Saponins: properties, applications and processing.

Critical reviews in food science and nutrition 47: 231-258.

Guija-de-Arespacochaga, A., L. Kremer, F. Künzel and I. Schwendenwein (2022):

Peripheral blood eosinophilia in dogs: Prevalence and associated diseases.

Veterinary Medicine and Science 8: 1458-1465. DOI: 10.1002/vms3.832.

Ha, Y. H., J. A. Milner and J. E. Corbin (1978):

Arginine requirements in immature dogs.

The Journal of nutrition 108: 203-210. DOI: 10.1093/jn/108.2.203.

Hakvoort, T. B., Y. He, W. Kulik, J. L. Vermeulen, S. Duijst, J. M. Ruijter, J. H. Runge, N. E. Deutz, S. E. Koehler and W. H. Lamers (2017):

Pivotal role of glutamine synthetase in ammonia detoxification.

Hepatology 65: 281-293. DOI: 10.1002/hep.28852.

Hayes, K. C. (1988):

Taurine nutrition.

Nutrition Research Reviews 1: 99-113. DOI: 10.1079/NRR19880009.

Hayes, K. C., R. E. Carey and S. Y. Schmidt (1975):

Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat.

Science 188: 949-951. DOI: 10.1126/science.1138364.

Hendriks, W., D. Thomas, G. Bosch and G. Fahey Jr (2013):

Comparison of ileal and total tract nutrient digestibility of dry dog foods.

Journal of Animal Science 91: 3807-3814. DOI: 10.2527/jas.2012-5864.

Hendriks, W. H., E. J. Bakker and G. Bosch (2015):

Protein and amino acid bioavailability estimates for canine foods.

J Anim Sci 93: 4788-4795. DOI: 10.2527/jas.2015-9231.

Hendriks, W. H., P. J. Moughan and M. F. Tarttelin (1997):

Urinary excretion of endogenous nitrogen metabolites in adult domestic cats using a protein-free diet and the regression technique.

The Journal of nutrition 127: 623-629. DOI: 10.1093/jn/127.4.623.

Honneffer, J. B., J. M. Steiner, J. A. Lidbury and J. S. Suchodolski (2017):

Variation of the microbiota and metabolome along the canine gastrointestinal tract.

Metabolomics 13: 1-20.

Hughes, R., M. J. Kurth, V. McGilligan, H. McGlynn and I. Rowland (2008):

Effect of colonic bacterial metabolites on Caco-2 cell paracellular permeability in vitro.

Nutrition and cancer 60: 259-266.

Humbert, B., P. Bleis, L. Martin, H. Dumon, D. Darmaun and P. Nguyen (2001):

Effects of dietary protein restriction and amino acids deficiency on protein metabolism in dogs.

Journal of animal physiology and animal nutrition 85: 255-262. DOI: 10.1046/j.1439-0396.2001.00324.x.

Huynh, N. K., D. H. Nguyen and H. V. Nguyen (2022):

Effects of processing on oxalate contents in plant foods: A review.

Journal of Food Composition and Analysis: 104685. DOI: 10.1016/j.jfca.2022.104685.

Ikeda, K. (2002):

Buckwheat composition, chemistry, and processing. DOI: 10.1016/S1043-4526(02)44008-9.

Ingenpass, L., A. Abd El-Wahab, C. Ullrich, M. Kolln, M. F. E. Ahmed, C. Visscher and J. Kamphues (2021):

Nitrogen output in the urban environment using a vegetarian canine diet.

Public Library of Science 16: e0257364. DOI: 10.1371/journal.pone.0257364.

Jain, M. and J. Zeikus (1988):

Taxonomic distinction of two new protein specific, hydrolytic anaerobes: Isolation and characterization of *Clostridium proteolyticum* sp. nov. and *Clostridium collagenovorans* sp. nov.

Systematic and applied microbiology 10: 134-141. DOI: 10.1016/S0723-2020(88)80027-4.

Janssen, F., A. Pauly, I. Rombouts, K. J. Jansens, L. J. Deleu and J. A. Delcour (2017):

Proteins of amaranth (*Amaranthus* spp.), buckwheat (*Fagopyrum* spp.), and quinoa (*Chenopodium* spp.): A food science and technology perspective.

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 16: 39-58. DOI: 10.1111/1541-4337.12240.

Jiang, T. and D. A. Savaiano (1997):

Modification of colonic fermentation by bifidobacteria and pH in vitro (Impact on lactose metabolism, short-chain fatty acid, and lactate production).

Digestive diseases and sciences 42: 2370-2377. DOI: 10.1023/A:1018895524114.

Joh, T. H., T. Shikimi, V. M. Pickel and D. J. Reis (1975):

Brain tryptophan hydroxylase: purification of, production of antibodies to, and cellular and ultrastructural localization in serotonergic neurons of rat midbrain.

Proceedings of the National Academy of Sciences 72: 3575-3579. DOI: 10.1073/pnas.72.9.3575.

Jursky, F. and N. Nelson (1995):

Localization of glycine neurotransmitter transporter (GLYT2) reveals correlation with the distribution of glycine receptor.

Journal of neurochemistry 64: 1026-1033. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1995.64031026.x.

Kanakubo, K., A. J. Fascetti and J. A. Larsen (2015):

Assessment of protein and amino acid concentrations and labeling adequacy of commercial vegetarian diets formulated for dogs and cats.

Journal of the American Veterinary Medical Association 247: 385-392. DOI: 10.2460/javma.247.4.385.

Kanbara, A., Y. Miura, H. Hyogo, K. Chayama and I. Seyama (2012):

Effect of urine pH changed by dietary intervention on uric acid clearance mechanism of pH-dependent excretion of urinary uric acid.

Nutrition journal 11: 1-7. DOI: 10.1186/1475-2891-11-39.

Kandler, O. and H. Hopf (1980):

Occurrence, metabolism, and function of oligosaccharides.

In: Carbohydrates: structure and function, Elsevier. 3: 221-270.

Kaplan, J. L., J. A. Stern, A. J. Fascetti, J. A. Larsen, H. Skolnik, G. D. Peddle, R. D. Kienle, A. Waxman, M. Cocchiario, C. T. Gunther-Harrington, T. Klose, K. LaFauci, B. Lefbom, M. Machen Lamy, R. Malakoff, S. Nishimura, M. Oldach, S. Rosenthal, C. Stauthammer, L. O'Sullivan, L. C. Visser, R. Williams and E. Ontiveros (2018):

Taurine deficiency and dilated cardiomyopathy in golden retrievers fed commercial diets.

Public Library of Science 13: e0209112. DOI: 10.1371/journal.pone.0209112.

Kasper, H. (2014):

Energiebedarf, Nährstoffe, Nahrungsbestandteile, Verdauung, Resorption und Stoffwechsel.  
In: Ernährungsmedizin und Diätetik. München, Elsevier. 12. Auflage.

Kaysen, G. A., H. Jones, V. Martin and F. N. Hutchison (1989a):

A low-protein diet restricts albumin synthesis in nephrotic rats.

The Journal of clinical investigation 83: 1623-1629. DOI: 10.1172/JCI114060.

Kaysen, G. A., H. Jones Jr and F. N. Hutchinson (1989b):

High protein diets stimulate albumin synthesis at the site of albumin mRNA transcription.

Kidney international Supplement.

Keene, B. W. (1991):

L-Carnitine supplementation in the therapy of canine dilated cardiomyopathy.

Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 21: 1005-1009. DOI: 10.1016/S0195-5616(91)50108-X.

Keene, B. W., D. P. Panciera, C. E. Atkins, V. Regitz, M. J. Schmidt and A. L. Shug (1991):

Myocardial L-carnitine deficiency in a family of dogs with dilated cardiomyopathy.

Journal of the American Veterinary Medical Association 198: 647-650.

Kerr, K. R., G. Forster, S. E. Dowd, E. P. Ryan and K. S. Swanson (2013):

Effects of dietary cooked navy bean on the fecal microbiome of healthy companion dogs.

PloS one 8: e74998.

Khairallah, E. A. and G. E. Mortimore (1976):

Assessment of protein turnover in perfused rat liver. Evidence for amino acid compartmentation from differential labeling of free and tRNA-bound valine.

Journal of Biological Chemistry 251: 1375-1384. DOI: 10.1016/S0021-9258(17)33750-X.

Khan, A. R., S. Alam, S. Ali, S. Bibi and I. A. Khalil (2007):

Dietary fiber profile of food legumes.

Sarhad Journal of Agriculture 23: 763.

Khokhar, S. and R. K. O. Apenten (2003):

Antinutritional factors in food legumes and effects of processing.

The role of food, agriculture, forestry and fisheries in human nutrition 4: 82-116.

Kik, M., J. Rojer, J. Mouwen, J. Koninkx, J. Van Dijk and M. Van der Hage (1989):

The interaction between plant lectins and the small intestinal epithelium: a primary cause of intestinal disturbance.

Veterinary Quarterly 11: 108-115. DOI: 10.1080/01652176.1989.9694207.

Kim, B. G. and T. Kim (2010):

A program for making completely balanced Latin Square designs employing a systemic method.

Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 23: 277-282.

King, M. R., B. A. White, H. P. Blaschek, B. M. Chassy, R. I. Mackie and I. K. Cann (2002):

Purification and characterization of a thermostable  $\alpha$ -galactosidase from *Thermoanaerobacterium polysaccharolyticum*.

Journal of agricultural and food chemistry 50: 5676-5682. DOI: 10.1021/jf0202281.

Knopf, K., J. Sturman, M. Armstrong and K. Hayes (1978):

Taurine: an essential nutrient for the cat.

The Journal of nutrition 108: 773-778. DOI: 10.1093/jn/108.5.773.

Ko, K. S., R. C. Backus, J. R. Berg, M. W. Lamé and Q. R. Rogers (2007):

Differences in taurine synthesis rate among dogs relate to differences in their maintenance energy requirement.

The Journal of nutrition 137: 1171-1175. DOI: 10.1093/jn/137.5.1171.

Kong, X., Y. Li and X. Liu (2022):

A review of thermosensitive antinutritional factors in plant-based foods.

J Food Biochem 46: e14199. DOI: 10.1111/jfbc.14199.

Kozioł, M. J. (1992):

Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.).

Journal of food composition and analysis 5: 35-68. DOI: 10.1016/0889-1575(92)90006-6.

Krall, A. S., S. Xu, T. G. Graeber, D. Braas and H. R. Christofk (2016):

Asparagine promotes cancer cell proliferation through use as an amino acid exchange factor.

Nature communications 7: 1-13. DOI: 10.1038/ncomms11457.

Kramer, G. A., M. D. Kittleson, P. R. Fox, J. Lewis and P. D. Pion (1995):

Plasma taurine concentrations in normal dogs and in dogs with heart disease.

Journal of veterinary internal medicine 9: 253-258. DOI: 10.1111/j.1939-1676.1995.tb01076.x.

Kranich, O., R. Dringen, M. Sandberg and B. Hamprecht (1998):

Utilization of cysteine and cysteine precursors for the synthesis of glutathione in astroglial cultures: preference for cystine.

Glia 22: 11-18. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1136(199801)22:1%3C11::AID-GLIA2%3E3.0.CO;2-B.

Kresken, J.-G., R. T. Wendt and P. Modler (2019):

Erworbene Erkrankungen des Myokards In: Praxis der Kardiologie Hund und Katze. Stuttgart, Georg Thieme Verlag. 2. Auflage.

Laflamme, D., O. Izquierdo, L. Eirmann and S. Binder (2014):

Myths and misperceptions about ingredients used in commercial pet foods.

Veterinary Clinics: Small Animal Practice 44: 689-698. DOI: 10.1016/j.cvsm.2014.03.002.

Lamm, C. G., A. C. Ferguson, T. W. Lehenbauer and B. C. Love (2010):

Streptococcal Infection in Dogs:A Retrospective Study of 393 Cases.

Veterinary Pathology 47: 387-395. DOI: 10.1177/0300985809359601.

Lamothe, L. M., S. Srichuwong, B. L. Reuhs and B. R. Hamaker (2015):

Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans.

Food Chemistry 167: 490-496. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.07.022.

Leach, S. B., S. D. Clark, R. D. Baumwart, S. R. McCauley, J. D. Thomason, R. M. Streeter, C. A. Zumbaugh, K. Lamb and B. W. Quest (2023):

Prospective evaluation of echocardiographic parameters and cardiac biomarkers in healthy dogs eating four custom-formulated diets.

Frontiers in Animal Science 4: 1271202. DOI: 10.3389/fanim.2023.1271202.

Legrand-Defretin, V. (1994):

Differences between cats and dogs: a nutritional view.

Proceedings of the Nutrition Society 53: 15-24. DOI: 10.1079/PNS19940004.

Liaw, S. H. and D. Eisenberg (1994):

Structural model for the reaction mechanism of glutamine synthetase, based on five crystal structures of enzyme-substrate complexes.

Biochemistry 33: 675-681. DOI: 10.1021/bi00169a007.

Linde, A., M. Lahiff, A. Krantz, N. Sharp, T. T. Ng and T. Melgarejo (2023):

Domestic dogs maintain positive clinical, nutritional, and hematological health outcomes when fed a commercial plant-based diet for a year.

bioRxiv: 2023.2002. 2018.525405. DOI: 10.1101/2023.02.18.525405.

Lineva, A., E. Tavčar Benković, S. Kreft and E. Kienzle (2019):

Remarkable frequency of a history of liver disease in dogs fed homemade diets with buckwheat.

Tierärztliche Praxis : mit ATF-anerkannter Fortbildung. 47: 242-246. DOI: 10.1055/a-0894-8141.

Liu, K., J. Zheng, X. Wang and F. Chen (2019):

Effects of household cooking processes on mineral, vitamin B, and phytic acid contents and mineral bioaccessibility in rice.

Food Chemistry 280: 59-64.

Liu, S., Y. Sun, R. Zhao, Y. Wang, W. Zhang and W. Pang (2021):

Isoleucine increases muscle mass through promoting myogenesis and intramyocellular fat deposition.

Food & function 12: 144-153. DOI: 10.1039/D0FO02156C.

Loesche, W. and R. Gibbons (1968):

Amino acid fermentation by *Fusobacterium nucleatum*.

Archives of Oral Biology 13: 191-IN111. DOI: 10.1016/0003-9969(68)90051-4.

Loris, R., T. Hamelryck, J. Bouckaert and L. Wyns (1998):

Legume lectin structure.

Biochimica et biophysica acta (BBA)-Protein structure and molecular enzymology 1383: 9-36. DOI: 10.1016/S0167-4838(97)00182-9.

Marie Minihane, A. and G. Rimbach (2002):

Iron absorption and the iron binding and anti-oxidant properties of phytic acid.

International journal of food science & technology 37: 741-748. DOI: 10.1046/j.1365-2621.2002.00619.x.

Martin, M., M. Stafford Johnson and B. Celona (2009):

Canine dilated cardiomyopathy: a retrospective study of signalment, presentation and clinical findings in 369 cases.

Journal of Small Animal Practice 50: 23-29. DOI: 10.1111/j.1748-5827.2008.00659.x.

Martínez Noguera, P., J. Lantoine, E. L. Roux, S. Yang, R. Jakobi, S. Krause, A. Saint-Eve, C. Bonazzi and B. Rega (2022):

Saponins from pea ingredients to innovative sponge cakes and their association with perceived bitterness.

Foods 11: 2919. DOI: 10.3390/foods11182919.

McCauley, S. R., S. D. Clark, S. B. Leach, B. W. Quest and R. M. Streeter (2024):

Evaluation of taurine and carnitine concentrations in whole blood, plasma, skeletal muscle and cardiac muscle in dogs.

Journal of animal physiology and animal nutrition. DOI: 10.1111/jpn.13946.

McCauley, S. R., S. D. Clark, B. W. Quest, R. M. Streeter and E. M. Oxford (2020):

Review of canine dilated cardiomyopathy in the wake of diet-associated concerns.

Journal of Animal Science 98. DOI: 10.1093/jas/skaa155.

Menkovska, M. (2014):

Cereal alkaloids.

Food Health and Technology Innovations 2: 134-153. DOI: 10.1007/978-94-007-6728-7\_2-1.

Meyer, F., D. Paarmann, M. D'Souza, R. Olson, E. M. Glass, M. Kubal, T. Paczian, A. Rodriguez, R. Stevens and A. Wilke (2008):

The metagenomics RAST server—a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes.

BMC bioinformatics 9: 1-8. DOI: 10.1186/1471-2105-9-386.

Müller, M., E. E. Canfora and E. E. Blaak (2018):

Gastrointestinal transit time, glucose homeostasis and metabolic health: modulation by dietary fibers.

Nutrients 10: 275. DOI: 10.3390/nu10030275.

Najarian, J. S. and H. A. Harper (1956):

A clinical study of the effect of arginine on blood ammonia.

The American Journal of Medicine 21: 832-842. DOI: 10.1016/0002-9343(56)90097-3.

Neis, E. P., C. H. Dejong and S. S. Rensen (2015):

The role of microbial amino acid metabolism in host metabolism.

Nutrients 7: 2930-2946. DOI: 10.3390/nu7042930.

Nery, J., R. Goudez, V. Biourge, C. Tournier, V. Leray, L. Martin, C. Thorin, P. Nguyen and H. Dumon (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. DOI: 10.2527/jas.2011-4112.

Nowak, V., J. Du and U. R. Charrondière (2016):

Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.).

Food chemistry 193: 47-54. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.02.111.

NRC, N. R. C. (2006):

Nutrient Requirements of Dogs and Cats.

Washington, DC, National Academies Press.

O'Connor, W. and R. Summerill (1976):

The effect of a meal of meat on glomerular filtration rate in dogs at normal urine flows.

The Journal of Physiology 256: 81-91.

Oberbauer, A. M. and J. A. Larsen (2021):

Amino Acids in Dog Nutrition and Health.

In: Wu, G. (eds) Amino Acids in Nutrition and Health. Advances in Experimental Medicine and Biology, Springer, Cham. 1285.

Odani, S., T. Koide and T. Ono (1986):

Wheat germ trypsin inhibitors. Isolation and structural characterization of single-headed and double-headed inhibitors of the Bowman-Birk type.

The Journal of Biochemistry 100: 975-983. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a121810.

Odyssey, R., E. A. Khairallah and A. L. Goldberg (1974):

Origin and possible significance of alanine production by skeletal muscle.

Journal of Biological Chemistry 249: 7623-7629. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)81283-8.

Ollivier, M., A. Tresset, F. Bastian, L. Lagoutte, E. Axelsson, M. L. Arendt, A. Balasescu, M. Marshour, M. V. Sablin, L. Salanova, J. D. Vigne, C. Hitte and C. Hanni (2016):

Amy2B copy number variation reveals starch diet adaptations in ancient European dogs.

Royal Society Open Science 3: 160449. DOI: 10.1098/rsos.160449.

Owens, E. J., N. L. LeBlanc, L. M. Freeman and K. F. Scollan (2023):

Comparison of echocardiographic measurements and cardiac biomarkers in healthy dogs eating nontraditional or traditional diets.

Journal of Veterinary Internal Medicine 37: 37-46. DOI: 10.1111/jvim.16606.

Pacheco, P. D., T. C. Putarov, M. A. Baller, F. M. Peres, B. A. Loureiro and A. C. Carciofi (2018):

Thermal energy application on extrusion and nutritional characteristics of dog foods.  
Animal Feed Science and Technology 243: 52-63.

Pak, C. Y., C. V. Odvina, M. S. Pearle, K. Sakhaee, R. D. Peterson, J. R. Poindexter and L. J. Brinkley (2005):

Effect of dietary modification on urinary stone risk factors.

Kidney international 68: 2264-2273. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00685.x.

Palmer, R. M., D. D. Rees, D. S. Ashton and S. Moncada (1988):

L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation.

Biochemical and biophysical research communications 153: 1251-1256. DOI: 10.1016/S0006-291X(88)81362-7.

Paßlack, N., B. Kohn, W. Vahjen and J. Zentek (2021):

Effects of dietary cellobiose on the intestinal microbiota and excretion of nitrogen metabolites in healthy adult dogs.

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 105: 569-578. DOI: 10.1111/jpn.13485.

Pereira, E., C. Encina-Zelada, L. Barros, U. Gonzales-Barron, V. Cadavez and I. C. Ferreira (2019):

Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food.

Food chemistry 280: 110-114. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.12.068.

Pezzali, J. G., H. L. Acuff, W. Henry, C. Alexander, K. S. Swanson and C. G. Aldrich (2020):

Effects of different carbohydrate sources on taurine status in healthy Beagle dogs.

Journal of Animal Science 98. DOI: 10.1093/jas/skaa010.

Pezzali, J. G. and C. G. Aldrich (2019):

Effect of ancient grains and grain-free carbohydrate sources on extrusion parameters and nutrient utilization by dogs.

Journal of Animal Science 97: 3758-3767. DOI: 10.1093/jas/skz237.

Philipp, P. I. (2013):

Der Effekt einer unterschiedlichen Proteinversorgung auf immunologische und verdauungsphysiologische Parameter während der postnatalen Entwicklung von Beaglewelpen.

Picco, F., E. Zini, C. Nett, C. Naegeli, B. Bigler, S. Rufenacht, P. Roosje, M. E. Gutzwiller, S. Wilhelm, J. Pfister, E. Meng and C. Favrot (2008):

A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland.

Vet Dermatol 19: 150-155. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2008.00669.x.

Pilla, R. and J. S. Suchodolski (2019):

The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease.

Front Vet Sci 6: 498. DOI: 10.3389/fvets.2019.00498.

Pinna, C., C. G. Vecchiato, C. Bolduan, M. Grandi, C. Stefanelli, W. Windisch, G. Zaghini and G. Biagi (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. DOI: 10.1186/s12917-018-1436-x.

Polzin, D., C. A. Osborne and J. Lulich (1991):

Effects of dietary protein/phosphate restriction in normal dogs and dogs with chronic renal failure.

Journal of Small Animal Practice 32: 289-295. DOI: 10.1111/j.1748-5827.1991.tb00933.x.

Potrykus, J., R. L. White and S. L. Bearne (2008):

Proteomic investigation of amino acid catabolism in the indigenous gut anaerobe *Fusobacterium varium*.

Proteomics 8: 2691-2703. DOI: 10.1002/pmic.200700437.

Powers, J. R. and J. R. Whitaker (1978):

Effect of several experimental parameters on combination of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) A-amylase inhibitor with porcine pancreatic A-amylase.

Journal of Food Biochemistry 1: 239-260. DOI: 10.1111/j.1745-4514.1978.tb00184.x.

Qin, G., E. Ter Elst, M. Bosch and A. Van der Poel (1996):

Thermal processing of whole soya beans: Studies on the inactivation of antinutritional factors and effects on ileal digestibility in piglets.

Animal Feed Science and Technology 57: 313-324. DOI: 10.1016/0377-8401(95)00863-2.

Quilliam, C., L. G. Reis, Y. Ren, Y. Ai and L. P. Weber (2023):

Effects of a 28-day feeding trial of grain-containing versus pulse-based diets on cardiac function, taurine levels and digestibility in domestic dogs.

Public Library of Science 18: e0285381. DOI: 10.1371/journal.pone.0285381.

Quiroga, C., R. Escalera, G. Aroni, A. Bonifacio, J. A. González, M. Villca, R. Saravia and A. Ruiz (2015):

Traditional processes and technological innovations in quinoa harvesting, processing and industrialization. Chapter 3.1. *In* FAO & CIRAD. .

State of the art report on quinoa around the world in 2013, Rom, FAO & CIRAD.

Rajagopalan, G. and C. Krishnan (2019):

Functional oligosaccharides: production and action.

In: Next generation biomanufacturing technologies, ACS Publications: 155-180.

Raju, M., K. Vijayalakshmi and M. Kumar (1993):

Influence of dietary protein on aminotransferases and phosphatases in rat tissues.

Journal of Food Science and Technology (Mysore) 30: 183–186. DOI: 10.5555/19941402001.

Ramachandran, A., M. Madesh and K. A. Balasubramanian (2000):

Apoptosis in the intestinal epithelium: Its relevance in normal and pathophysiological conditions.

Journal of Gastroenterology and Hepatology 15: 109-120. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1746.2000.02059.x>.

Rathod, R. P. and U. S. Annapure (2016):

Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits.

LWT-Food Science and Technology 66: 114-123. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.10.028.

Ratnayake, W. S. and D. S. Jackson (2008):

Starch gelatinization.

Advances in food and nutrition research 55: 221-268. DOI: 10.1016/S1043-4526(08)00405-1.

Reddy, N., M. Pierson, S. Sathe and D. Salunkhe (1985):

Dry bean tannins: a review of nutritional implications.

Journal of the American Oil Chemists Society 62: 541-549. DOI: 10.1007/BF02542329.

Reilly, L. M., F. He, S. L. Rodriguez-Zas, B. R. Southey, J. M. Hoke, G. M. Davenport and M. R. C. de Godoy (2021):

Use of Legumes and Yeast as Novel Dietary Protein Sources in Extruded Canine Diets.

Front Vet Sci 8: 667642. DOI: 10.3389/fvets.2021.667642.

Reilly, L. M., P. C. von Schaumburg, J. M. Hoke, G. M. Davenport, P. L. Utterback, C. M. Parsons and M. R. C. de Godoy (2020a):

Macronutrient composition, true metabolizable energy and amino acid digestibility, and indispensable amino acid scoring of pulse ingredients for use in canine and feline diets.

J Anim Sci 98. DOI: 10.1093/jas/skaa149.

Reilly, L. M., P. C. von Schaumburg, J. M. Hoke, G. M. Davenport, P. L. Utterback, C. M. Parsons and M. R. C. de Godoy (2020b):

Use of precision-fed cecectomized rooster assay and digestible indispensable amino acid scores to characterize plant- and yeast-concentrated proteins for inclusion in canine and feline diets().

Transl Anim Sci 4: txaa133. DOI: 10.1093/tas/txaa133.

Rios, M., B. Habecker, T. Sasaoka, G. Eisenhofer, H. Tian, S. Landis, D. Chikaraishi and S. Roffler-Tarlov (1999):

Catecholamine synthesis is mediated by tyrosinase in the absence of tyrosine hydroxylase.

Journal of Neuroscience 19: 3519-3526. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-09-03519.1999.

Roy, A. (2017):

A review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants.

IJPB 3: 1-9.

Ruales, J. and B. M. Nair (1993):

Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds.

Food Chemistry 48: 137-143. DOI: 10.1016/0308-8146(93)90048-K.

Sanderson, S. L. (2006):

Taurine and carnitine in canine cardiomyopathy.

Veterinary Clinics: Small Animal Practice 36: 1325-1343. DOI: 10.1016/j.cvsm.2006.08.010.

Sands, J. M. and H. E. Layton (2009):

The Physiology of Urinary Concentration: An Update.

Seminars in Nephrology 29: 178-195. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2009.03.008.

Santini, E., E. Jarek, F. Ravera, L. Liggieri, P. Warszynski and M. Krzan (2019):

Surface properties and foamability of saponin and saponin-chitosan systems.

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 181: 198-206. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.05.035.

Sato, T., Y. Ito and T. Nagasawa (2015):

Dietary L-lysine suppresses autophagic proteolysis and stimulates Akt/mTOR signaling in the skeletal muscle of rats fed a low-protein diet.

Journal of agricultural and food chemistry 63: 8192-8198. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b03811.

Schipper, R. G., L. C. Penning and A. A. Verhofstad (2000):

Involvement of polyamines in apoptosis. Facts and controversies: effectors or protectors?

Seminars in Cancer Biology 10: 55-68. DOI: 10.1006/scbi.2000.0308.

Schlemmer, U., W. Frolich, R. M. Prieto and F. Grases (2009):

Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis.

Molecular Nutrition & Food Research 53 Suppl 2: S330-375. DOI: 10.1002/mnfr.200900099.

Schloss, P. D., M. L. Jenior, C. C. Koumpouras, S. L. Westcott and S. K. Highlander (2016):

Sequencing 16S rRNA gene fragments using the PacBio SMRT DNA sequencing system.

PeerJ 4: e1869. DOI: 10.7717/peerj.1869.

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. DOI: 10.22028/D291-21850.

Schnebli, H. and T. Bächli (1975):

Reaction of lectins with human erythrocytes: I. Factors governing the agglutination reaction.

Experimental Cell Research 91: 175-183. DOI: 10.1016/0014-4827(75)90155-X.

Seekatz, A. M. and V. B. Young (2014):

Clostridium difficile and the microbiota.

The Journal of clinical investigation 124: 4182-4189. DOI: 10.1172/JCI72336.

Segal, R., P. Shatkovsky and I. Milo-Goldzweig (1974):

On the mechanism of saponin hemolysis—I: hydrolysis of the glycosidic bond.

Biochemical Pharmacology 23: 973-981. DOI: 10.1016/0006-2952(74)90027-6.

Semp, P. G. (2014):

Vegan nutrition of dog and cat.

Diplomarbeit.

Shah, M. M. and P. Mandiga (2023):

Physiology, Plasma Osmolality and Oncotic Pressure. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

Sharma, S., A. Kataria and B. Singh (2022):

Effect of thermal processing on the bioactive compounds, antioxidative, antinutritional and functional characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa*).

LWT - Food Science and Technology 160. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113256.

Siener, R., R. Hönow, A. Seidler, S. Voss and A. Hesse (2006):

Oxalate contents of species of the Polygonaceae, Amaranthaceae and Chenopodiaceae families.

Food Chemistry 98: 220-224. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.05.059.

Sigel, H. and R. B. Martin (1982):

Coordinating properties of the amide bond. Stability and structure of metal ion complexes of peptides and related ligands.

Chemical Reviews 82: 385-426. DOI: 10.1021/cr00050a003.

Smith, C. E., L. D. Parnell, C.-Q. Lai, J. E. Rush, D. B. Adin, J. M. Ordovás and L. M. Freeman (2022):

Metabolomic profiling in dogs with dilated cardiomyopathy eating non-traditional or traditional diets and in healthy controls.

Scientific Reports 12: 22585. DOI: 10.1038/s41598-022-26322-8.

Smith, E. A. and G. T. Macfarlane (1997):

Formation of phenolic and indolic compounds by anaerobic bacteria in the human large intestine.

Microbial ecology 33: 180-188. DOI: 10.1007/s002489900020.

Soetan, K. and O. Oyewole (2009):

The need for adequate processing to reduce the anti-nutritional factors in plants used as human foods and animal feeds: A review.

African Journal of food science 3: 223-232.

Soliman, G. A. (2019):

Dietary fiber, atherosclerosis, and cardiovascular disease.

Nutrients 11: 1155. DOI: 10.3390/nu11051155.

Starzonek, J., L. von Lindeiner and I. Vervuert (2021):

[Assessment of vegan complete diets for dogs and cats available in Germany].

Tierärztliche Praxis Ausgabe: K Kleintiere/Heimtiere 49: 262-271. DOI: 10.1055/a-1552-2220.

Steele, D., G. Smith and D. Miller (1990):

The effects of taurine on Ca<sup>2+</sup> uptake by the sarcoplasmic reticulum and Ca<sup>2+</sup> sensitivity of chemically skinned rat heart.

The Journal of Physiology 422: 499-511. DOI: 10.1113/jphysiol.1990.sp017997.

Štěpán, J., H.-J. Graubaum, W. Meurer and C. Wagenknecht (1976):

Isoenzymes of alkaline phosphatase-reference values in young people and effects of protein diet.

Experientia 32: 832-834. DOI: 10.1007/BF02003712.

Stetter, M. G., L. Zeitler, A. Steinhaus, K. Kroener, M. Biljecki and K. J. Schmid (2016):

Crossing methods and cultivation conditions for rapid production of segregating populations in three grain amaranth species.

Frontiers in plant science 7: 816. DOI: 10.3389/fpls.2016.00816.

Suchodolski, J. S. (2011):

Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats.

Journal of animal science 89: 1520-1530. DOI: 10.2527/jas.2010-3377.

Suchodolski, J. S., J. Camacho and J. M. Steiner (2008):

Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis.

FEMS Microbiology Ecology 66: 567-578. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x.

Sujoy, B. and A. Aparna (2013):

Potential clinical significance of urease enzyme.

European Scientific Journal 9.

Sun, K., Z. Wu, Y. Ji and G. Wu (2016):

Glycine regulates protein turnover by activating protein kinase B/mammalian target of rapamycin and by inhibiting MuRF1 and atrogin-1 gene expression in C2C12 myoblasts.

The Journal of nutrition 146: 2461-2467. DOI: 10.3945/jn.116.231266a.

Swaminathan, R., W. G. Robertsin, P. J. Heybrun, M. Peacock and F. A. Hanes (1979):

The effect of high animal protein intake on the risk of calcium stone-formation in the urinary tract Clinical Science 51: 288.

Swanson, K. S., C. M. Grieshop, E. A. Flickinger, L. L. Bauer, J. Chow, B. W. Wolf, K. A. Garleb and G. C. Fahey Jr (2002a):

Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. *The Journal of nutrition* 132: 3721-3731. DOI: 10.1093/jn/132.12.3721.

Swanson, K. S., C. M. Grieshop, E. A. Flickinger, L. L. Bauer, H.-P. Healy, K. A. Dawson, N. R. Merchen and G. C. Fahey 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.

*The Journal of nutrition* 132: 980-989. DOI: 10.1093/jn/132.5.980.

Tan, J., C. McKenzie, M. Potamitis, A. N. Thorburn, C. R. Mackay and L. Macia (2014):  
The role of short-chain fatty acids in health and disease.

*Advances in immunology* 121: 91-119. DOI: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9.

Tennoune, N., M. Andriamihaja and F. Blachier (2022):

Production of Indole and Indole-Related Compounds by the Intestinal Microbiota and Consequences for the Host: The Good, the Bad, and the Ugly.

*Microorganisms* 10. DOI: 10.3390/microorganisms10050930.

Tôrres, C. L., V. C. Biourge and R. C. Backus (2022):

Plasma and whole blood taurine concentrations in dogs may not be sensitive indicators of taurine deficiency when dietary sulfur amino acid content is reduced.

*Frontiers in Veterinary Science* 9: 873460. DOI: 10.3389/fvets.2022.873460.

Tôrres, C. L., J. W. Miller and Q. R. Rogers (2004):

Determination of free and total cyst(e)ine in plasma of dogs and cats.

*Veterinary Clinical Pathology* 33: 228-233. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2004.tb00378.x.

Traughber, Z. T., F. He, J. M. Hoke, G. M. Davenport, S. L. Rodriguez-Zas, B. R. Southey and M. R. C. de Godoy (2021):

Ancient grains as novel dietary carbohydrate sources in canine diets.

*Journal of Animal Science* 99. DOI: 10.1093/jas/skab080.

Twomey, L. N., D. W. Pethick, J. B. Rowe, M. Choct, J. R. Pluske, W. Brown and M. C. Laviste (2002):

The use of sorghum and corn as alternatives to rice in dog foods.

*J Nutr* 132: 1704S-1705S. DOI: 10.1093/jn/132.6.1704S.

Van Der Poel, T. F., J. Blonk, D. J. Van Zuilichem and M. G. Van Oort (1990):

Thermal inactivation of lectins and trypsin inhibitor activity during steam processing of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and effects on protein quality.

Journal of the Science of Food and Agriculture 53: 215-228.

Vanelli, K., A. C. F. de Oliveira, C. S. Sotomaior, S. H. Weber and L. B. Costa (2021):

Soybean meal and poultry offal meal effects on digestibility of adult dogs diets: Systematic review.

Plos one 16: e0249321.

Vega-Galvez, A., M. Miranda, J. Vergara, E. Uribe, L. Puente and E. A. Martinez (2010):

Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: a review.

J Sci Food Agric 90: 2541-2547. DOI: 10.1002/jsfa.4158.

Verde, M. T., S. Villanueva-Saz, L. Navarro, A. Loste, D. Marteles, A. Fernández and D. Pereboom (2023):

Non-controlled, open-label trial to assess clinical and immunological parameters in atopic dogs feeding monoprotein grain free diet versus a standard grain diet.

Veterinary Quarterly 43: 1-7.

Verlinden, A., M. Hesta, S. Millet and G. P. Janssens (2006):

Food allergy in dogs and cats: a review.

Critical Reviews in Food Science and Nutrition 46: 259-273. DOI: 10.1080/10408390591001117.

Viana, P. A., S. T. de Rezende, V. M. Marques, L. M. Trevizano, F. M. Passos, M. G. Oliveira, M. P. Bemquerer, J. S. Oliveira and V. M. Guimarães (2006):

Extracellular  $\alpha$ -galactosidase from *Debaryomyces hansenii* UFV-1 and its use in the hydrolysis of raffinose oligosaccharides.

Journal of agricultural and food chemistry 54: 2385-2391. DOI: 10.1021/jf0526442.

Vidal-Valverde, C., J. Frias, I. Estrella, M. J. Gorospe, R. Ruiz and J. Bacon (1994):

Effect of processing on some antinutritional factors of lentils.

Journal of Agricultural and Food Chemistry 42: 2291-2295. DOI: 10.1021/jf00046a039.

Vidal-Valverde, C., J. Frias, C. Sotomayor, C. Diaz-Pollan, M. Fernandez and G. Urbano (1998):

Nutrients and antinutritional factors in faba beans as affected by processing.

Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A 207: 140-145. DOI: 10.1007/s002170050308.

Vijayakumari, K., M. Pugalenti and V. Vadivel (2007):

Effect of soaking and hydrothermal processing methods on the levels of antinutrients and in vitro protein digestibility of *Bauhinia purpurea* L. seeds.

Food Chemistry 103: 968-975. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.07.071.

Vojtíšková, P., K. Kmentová, V. Kubáň and S. Kráčmar (2012):

Chemical composition of buckwheat plant (*Fagopyrum esculentum*) and selected buckwheat products.

Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences.

Voutquenne, L., C. Lavaud, G. Massiot and L. L. Men-Olivier (2002):

Structure-activity relationships of haemolytic saponins.

Pharmaceutical biology 40: 253-262. DOI: 10.1076/phbi.40.4.253.8470.

Wambacq, W., G. Rybachuk, I. Jeusette, K. Rochus, B. Wuyts, V. Fievez, P. Nguyen and M. Hesta (2016):

Fermentable soluble fibres spare amino acids in healthy dogs fed a low-protein diet.

BMC veterinary research 12: 1-10. DOI: 10.1186/s12917-016-0752-2.

Wang, N., M. Lewis, J. Brennan and A. Westby (1997):

Effect of processing methods on nutrients and anti-nutritional factors in cowpea.

Food chemistry 58: 59-68. DOI: 10.1016/S0308-8146(96)00212-9.

Wang, R. and S. Guo (2021):

Phytic acid and its interactions: Contributions to protein functionality, food processing, and safety.

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 20: 2081-2105. DOI: 10.1111/1541-4337.12714.

Wang, S., C. Li, L. Copeland, Q. Niu and S. Wang (2015):

Starch Retrogradation: A Comprehensive Review.

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 14: 568-585. DOI: 10.1111/1541-4337.12143.

Watanabe, F. (2007):

Vitamin B12 sources and bioavailability.

Experimental biology and medicine 232: 1266-1274. DOI: 10.3181/0703-MR-67.

Weiner, I. D., W. E. Mitch and J. M. Sands (2015):

Urea and Ammonia Metabolism and the Control of Renal Nitrogen Excretion.

Clinical Journal of the American Society of Nephrology 10: 1444-1458. DOI: 10.2215/cjn.10311013.

Welch, A. A., A. Mulligan, S. A. Bingham and K.-t. Khaw (2008):

Urine pH is an indicator of dietary acid–base load, fruit and vegetables and meat intakes: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Norfolk population study.

British Journal of Nutrition 99: 1335-1343. DOI: 10.1017/S0007114507862350.

Wojcik, W., M. Lukasiewicz and K. Puppel (2021):

Biogenic amines: formation, action and toxicity - a review.

J Sci Food Agric 101: 2634-2640. DOI: 10.1002/jsfa.10928.

Wójcik, W., M. Łukasiewicz and K. Puppel (2021):

Biogenic amines: formation, action and toxicity – a review.

Journal of the Science of Food and Agriculture 101: 2634-2640. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10928>.

Wright, K. H., O. A. Pike, D. J. Fairbanks and C. S. Huber (2006):

Composition of Atriplex hortensis, Sweet and Bitter Chenopodium quinoa Seeds.

Journal of Food Science 67: 1383-1385. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb10294.x.

WSAVA. (2021).

Global Nutrition Committee: Recommendations on selecting pet foods (2020).

Abgerufen am: 01.07.2024 um 17:20 Uhr, [https://wsava.org/wp-content/uploads/2021/04/Selecting-a-pet-food-for-your-pet-updated-2021\\_WSAVA-Global-Nutrition-Toolkit.pdf](https://wsava.org/wp-content/uploads/2021/04/Selecting-a-pet-food-for-your-pet-updated-2021_WSAVA-Global-Nutrition-Toolkit.pdf).

Wu, P., J. C. Tian, C. Walker and F. C. Wang (2009):

Determination of phytic acid in cereals—a brief review.

International journal of food science & technology 44: 1671-1676. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2009.01991.x.

Yamka, R., U. Jamikorn, A. True and D. Harmon (2003):

Evaluation of low-ash poultry meal as a protein source in canine foods.

Journal of animal science 81: 2279-2284. DOI: 10.2527/2003.8192279x.

Yoshikawa, T., T. Nakamura, T. Shibakusa, M. Sugita, F. Naganuma, T. Iida, Y. Miura, A. Mohsen, R. Harada and K. Yanai (2014):

Insufficient intake of L-histidine reduces brain histamine and causes anxiety-like behaviors in male mice.

The Journal of Nutrition 144: 1637-1641. DOI: 10.3945/jn.114.196105.

Yutin, N. and M. Y. Galperin (2013):

A genomic update on clostridial phylogeny: Gram-negative spore formers and other misplaced clostridia.

Environmental microbiology 15: 2631-2641. DOI: 10.1111/1462-2920.12173.

Zafalon, R. V. A., L. W. Risolia, T. H. A. Vendramini, R. B. Ayres Rodrigues, V. Pedrinelli, F. A. Teixeira, M. F. Rentas, M. P. Perini, I. C. Alvarenga and M. A. Brunetto (2020):

Nutritional inadequacies in commercial vegan foods for dogs and cats.

Public Library of Science 15: e0227046. DOI: 10.1371/journal.pone.0227046.

Zeng, H., C. Huang, S. Lin, M. Zheng, C. Chen, B. Zheng and Y. Zhang (2017):

Lotus Seed Resistant Starch Regulates Gut Microbiota and Increases Short-Chain Fatty Acids Production and Mineral Absorption in Mice.

Journal of Agricultural and Food Chemistry 65: 9217-9225. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b02860.

Zentek, J. (1996):

Cellulose, pectins and guar gum as fibre sources in canine diets.

Journal of animal physiology and animal nutrition 76: 36-45. DOI: 10.1111/j.1439-0396.1996.tb00674.x.

Zentek, J. (2022):

Ernährung des Hundes: Grundlagen-Fütterung-Diätetik.

Stuttgart, Georg Thieme Verlag.

Zentek, J. r., S. Fricke, M. Hewicker-Trautwein, B. Ehinger, G. Amtsberg and C. Baums (2004):

Dietary protein source and manufacturing processes affect macronutrient digestibility, fecal consistency, and presence of fecal *Clostridium perfringens* in adult dogs.

The journal of nutrition 134: 2158S-2161S. DOI: 10.1093/jn/134.8.2158S.

Zentek, J. r., B. Marquart and T. Pietrzak (2002):

Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs.

The Journal of nutrition 132: 1682S-1684S.

Zhang, L., D. Dong, C. Jiang, Z. Li, X. Wang and Y. Peng (2015):

Insight into alteration of gut microbiota in *Clostridium difficile* infection and asymptomatic *C. difficile* colonization.

Anaerobe 34: 1-7. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2015.03.008.

Zhang, M. S., S. F. Brunner, N. Huguenin-Dezot, A. D. Liang, W. H. Schmied, D. T. Rogerson and J. W. Chin (2017):

Biosynthesis and genetic encoding of phosphothreonine through parallel selection and deep sequencing.

Nature methods 14: 729-736. DOI: 10.1038/nmeth.4302.

Zhu, F. (2016):

Buckwheat starch: Structures, properties, and applications.

Trends in Food Science & Technology 49: 121-135. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.12.002.

Zhu, F. (2017):

Structures, physicochemical properties, and applications of amaranth starch.

Critical reviews in food science and nutrition 57: 313-325. DOI: 10.1080/10408398.2013.862784.

Zustakova, M., L. Kratochvilova and P. Slama (2020):

Apoptosis of Eosinophil Granulocytes.

Biology 9: 457. DOI: 10.3390/biology9120457.

## Anhang

### Verwendete Materialien

Tabelle 51: Verwendete Geräte und Materialien zur Blutentnahme

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Zentrifuge Megafuge 16 R	Thermo Scientific	Rochester, NY
Einmalkanülen	Henke, Sasse, Wolf	Tüttlingen, D
S-Monovette 2,7 ml Z	Sarstedt AG & Co.	Nürnberg, D
S- Monovette 4,5 ml LH	Sarstedt AG & Co.	Nürnberg, D
S- Monovette 9 ml LH	Sarstedt AG & Co.	Nürnberg, D
Probengefäß 1,3 ml K3E	Sarstedt AG & Co.	Nürnberg, D

Tabelle 52: Verwendete Geräte und Materialien zur Analyse der Nährstoffe und Bestimmung des Titandioxidgehalts, der scheinbaren Verdaulichkeit von Rohfaser, Rohprotein, Rohasche, Rohfett sowie der Mengen- und Spurenelemente

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Gefriertrocknungsanlage, Alpha 1-4 LSC	Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH	Osterode am Harz, D
Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200	Retsch GmbH	Haan, D
Analysenwaage Typ Genius	Sartorius AG	Göttingen, D
Trockenschrank, Heraeus T5042	Heraeus Holding GmbH	Hanau, D
Trockenschrank LUT 6050 F, DURAN, DN 300	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
Muffelofen Typ Heraeus M 110	Heraeus Holding GmbH	Hanau, D
Muffelofen	Nabertherm	Lilienthal, D
Exsikkator Typ Dran, DN 250, Exsikkator Deckel mit Tubus NS 24/29 Novus	Duran Group GmbH	Wertheim/Main, D
Makro Elementaranalysator vario max CN	Elementar Analysesysteme GmbH	Hanau, D
Rohfaseranalysator ANKOM 2000 Fiber Analyser	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Soxhlet- Extraktion Extraktionssysteme B-811	Büchi Labordiagnostik GmbH	Essen, D
Absorptionsspektrometer Typ contrAA 800	Analytik Jena	Jena, D
Photometer Typ Ultrospec 2100 pro	Amersham Pharmacia Biotech Inc.	Piscataway, USA
Photometer Software	Amersham Biosciences Swift II Corp. Quantification	
Sandbad Typ ST72	Harry Gestigkeit GmbH	Düsseldorf, D
Porzellantiegel Haldenwanger™	Fisher Scientific	Schwerte, D
Filterbeutel Rohfett XT4 Filterbags	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Filterbeutel Rohfaser F57 Filter Bags	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Faltenfilter Whatmann 595 ½, 125mm	GE Healthcare	Little Chalfont, UK
Wasseraufbereitungssystem Milli- Q	Merck Millipore	Darmstadt, D

Di- Kaliumhydrogencarbonat	Merck KGaA	Darmstadt, D
Titandioxid	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Natriumhydroxid Mikrogranulat	Th. Geyer GmbH & Co KG	Renningen, D
Siedesteinchen	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, D
Kjeldahl Tabletten	Vitamex Manufacturing	Norrköping, Schweden
Petrolether	Fisher Chemical	Geel, Belgien
Schwefelsäure	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, D
Salzsäure	Merck KGaA	Darmstadt, D
Salpetersäure	Th. Geyer GmbH	Renningen, D
Ammoniumvanadat	Merck KGaA	Darmstadt, D
Ammoniummolybdat	Merck KGaA	Darmstadt, D
Ammoniak	Merck KGaA	Darmstadt, D
Wasserstoffperoxid 30 %ig	Merck KGaA	Darmstadt, D

Tabelle 53: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat- Lösung für die Phosphorbestimmung: Herstellung der Ammoniummolybdat- Lösung

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniummolybdat (M= 1235,09 g/mol) in warmem Reinstwasser gelöst	100 g
Ammoniak 25 %ig	10 ml
	→ auf 1000 ml mit Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 54: Zusammensetzung der Nitrovanadatmolybdat- Lösung für die Phosphorbestimmung: Herstellung der Ammoniummetavanadat- Lösung für die Phosphorbestimmung

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniummetavanadat (M= 116,99 g/mol) in 400 ml warmen Reinstwasser gelöst	2,35 g
Salpetersäure 65 %ig	7 ml
H <sub>2</sub> O	13 ml
	→ auf 1000 ml mit Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 55: Zusammensetzung der der Nitrovanadatmolybdat- Lösung für die Phosphorbestimmung: Herstellung der Nitrovanadatmolybdat- Lösung

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniummolybdat- Lösung	200 ml
Ammoniummetavanadat- Lösung	200 ml
Salpetersäure 65 %ig	134 ml
	→ auf 1000 ml Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 56: Zusammensetzung der Kalibrierlösung für die Phosphorbestimmung

Bezeichnung	Zugabe
Monokaliumphosphat (136,08 g/mol) in Reinstwasser gelöst	0,4387 g
	→ auf 100 ml Reinstwasser aufgefüllt

Von dieser Lösung wird eine 1:10 Verdünnung hergestellt, entspricht 10 mg/l Phosphor

Tabelle 57: Verwendete Geräte und Materialien zur ADF- und NDF- Bestimmung

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Analysenwaage Typ Genius Filterbeutel F57	Sartorius AG ANKOM Technology Macedon	Göttingen, D New York, USA
Rohfaseranalysator ANKOM 2000 Fiber Analyser	ANKOM Technology Macedon	New York, USA
Trockenschrank Typ Heraeus ST 5042	Heraeus Holding GmbH	Hanau, D
Trockenschrank LUT 6050 F, DURAN DN 300	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
Exsikkator Typ Dran, DN 250, Exsikkator Deckel mit Tubus NS 24/29 Novus	Duran Group GmbH	Wertheim/Main, D
Aceton	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe D
Schwefelsäure 1,25 %ig	Merck KGaA	Darmstadt, D
Cetyltrimethylammoniumbromid	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, D
1-Octanol	Sigma Aldrich	Steinheim, D
Ethylendiamintraessigsäure, Dinatriumsalz-Dihydrat	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, D
Di-Natriumtetraborat decahydrat	Merck KGaA	Darmstadt, D
Dodecylhydrogensulfat Natriumsalz	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe D
Di-Natriumhydrogenphosphat	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe D
Natronlauge	Merck KGaA	Darmstadt, D
Triethylenglycol	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe D
$\alpha$ - Amylase	Ankom Technologies	New York, USA

Tabelle 58: Herstellung der NDF Lösung I

Bezeichnung	Zugabe
Ethylendiamintraessigsäure Dinatriumsalz-Dihydrat	93,05 g
Di- Natriumdicarbonat	34,05
	→ in 2000 ml destillierten und heißem Wasser gelöst
Dodecylhydrogensulfat Natriumsalz	150 g
Triethylenglycol	50 ml

Tabelle 59: Herstellung der NDF Lösung II

Bezeichnung	Zugabe
Di- Natriumhydrogenphosphat	22,8 g
	→ in 2000 ml destillierten und heißem Wasser gelöst

→ Nach Abkühlung beider Lösungen wurden NDF Lösung I und NDF Lösung II in einem Messkolben vereinigt und quantitativ mit Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 60: Herstellung der ADF Lösung

Bezeichnung	Zugabe
Schwefelsäure	138 ml
	in 25000 ml demineralisiertem Wasser gelöst
N-Cetyl-N,N,N-trimethyl-ammoniumbromid	100 g
	→ mit demineralisiertem Wasser quantitativ aufgefüllt

Tabelle 61: Verwendete Geräte und Materialien zur Aminosäurenbestimmung im Futter

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Aminosäurenanalysator Biochrom 30	Laborservice Onken GmbH	Gründau, D
Trennsäule Lithium Typ Biochrom 5.503.600	Laborservice Onken GmbH	Gründau, D
Rüttler Vortex 3	IKA	Staufen, D
Einmalfilter Celluloseacetat, Porengröße: 0,2 µm, Membrandurchschnitt 0,25 mm	Macherey- Nagel GmbH & Co KG	Düren, D
Glasaufschlussröhrchen	SCP Science	Quebec, CAN
Aufschlussgerät	SCP Science	Quebec, CAN
Lithium Loading Pufferlösung	Laborservice Onken GmbH	Gründau, DE
Ninhydrin	Laborservice Onken GmbH	Gründau, D

Tabelle 62: Herstellung der Oxidationslösung zur Aminosäureanalytik

Bezeichnung	Zugabe
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30 %ig)	0,5 ml
Ameisensäure 85 %ig	4,5 ml

Tabelle 63: Herstellung der Hydrolysemischung

Bezeichnung	Zugabe
Salzsäure 37 %ig ad 1L	492ml

Tabelle 64: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren im Kot

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Gaschromatograf Typ 6890 N mit Autosampler G2614A und Injektionsturm G2613A	Agilent Technologie Inc.	Santa Clara, USA
Liner: Agilent 5183- 2037, 1,8mm ID PTV M mit Graphpack – 3D ferrules for inserts, Agilent 5182- 9749	Agilent Technologie Inc.	Santa Clara, USA

HP- INNOWAX Säule HP (Polyethylen Glycol)	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Software HP ChemStation	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Gasgenerator Typ Parker ChromGas 9150	Parker Hannifin Corp.	Cleveland, USA
Injektionsspritze	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Probengefäß	Machery Nagel GmbH & Co KG	Düren, DE
Wasseraufbereitungssystem Milli- Q	Merck Millipore	Darmstadt, D
Rüttler Vortex 3	IKA	Staufen, D
Fresco™ 21 Mikrozentrifuge	Thermo Fisher	Darmstadt, D
Natriumazid	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, D
Hexansäure	Merck KGaA	Darmstadt, D
Oxalsäure- Dihydrat	Merck KGaA	Darmstadt, D

Tabelle 65: 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

Tabelle 66: Herstellung der Stammlösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren

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

Tabelle 67: Herstellung der Verdünnungslösung zur Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren

Bezeichnung	Zugabe
Oxalsäure- Dihydrat	10 g
Natriumazid	2,5 g
Stammlösung 10 mM	50 ml
	→ auf 1000 ml mit Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 68: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung des D- und L-Laktats

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Heraeus Fresco 21 Micro- zentrifuge	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 C18 Chirex 3126 (D)- peni- cillamine 150 x 4,6mm	Phenomenex Inc.	Torrance, USA
Software Chromeleon Ver- sion 6.9	Dionex Corporation	Sunnyvale, USA
Cellulose-Acetat-Spritzen- vorsatzfilter 0,2µm	Machery Nagel GmbH & Co KG	Düren, D
Probengefäß	Machery Nagel GmbH & Co KG	Düren, D
Wasseraufbereitungssystem Milli- Q	Merck Millipore	Darmstadt, D
Kupfer-II-Sulfat	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, D
Zinkchlorid	Merck KGaA	Darmstadt, D
2- Propanol	Merck KGaA	Darmstadt, D
Kaliumhexacyanoferrat (II)	Merck KGaA	Darmstadt, D
D- + L- Milchsäure	AppliChem GmbH	Darmstadt, D

Tabelle 69: Herstellung der Lösung A: Kupfer-II-Sulfat-Lösung mit 2- Propanol zur Bestimmung der Laktatkonzentration

Bezeichnung	Zugabe
Kupfer-II-Sulfat	399 mg
2- Propanol	50 ml
	→ auf 1000 ml mit Reinstwasser auf- gefüllt

Tabelle 70: Herstellung der Lösung B: Kupfer-II-Sulfat- Lösung zur Bestimmung der Laktat-  
konzentration

Bezeichnung	Zugabe
Kupfer-II-Sulfat	79,8 mg
	→ in 1000ml Reinstwasser gelöst

Tabelle 71: Herstellung der Lösung C: Carrenz I zur Bestimmung von D- und L-Laktat

Bezeichnung	Zugabe
Zinkchlorid	17 g
	→ in 1000ml Reinstwasser gelöst

Tabelle 72: Herstellung der Lösung D: Carrez II zur Bestimmung von D- und L-Laktat

Bezeichnung	Zugabe
Kaliumhexacyanoferrat II	15 g
	→ in 100 ml Reinstwasser gelöst

Tabelle 73: Herstellung der Stammlösung (10 mmol/l) zur Laktatbestimmung

Bezeichnung	Zugabe
D- + L- Milchsäure	49,9 mg

→ in einen 25 ml Messkolben überführen und mit 0,5 mmol Kupfer- II- Sulfatlösung aufgefüllt

Tabelle 74: Herstellung der 1 mmol/l Lösung zur Bestimmung von D- und L-Laktat

Bezeichnung	Zugabe
Stammlösung (10mmol/l)	100 µl → in ein Vial gegeben und mit 900 µl 0,5 mmol Kupfer- II- Sulfat verdünnt

Tabelle 75: Herstellung der 0,1mmol/l Lösung Zur Laktatbestimmung

Bezeichnung	Zugabe
1 mmol/l Lösung	100 µl → in ein Vial gegeben und mit 900 µl 0,5 mmol Kupfer-II-Sulfat Lösung verdünnt

Tabelle 76: Verwendete Geräte und Materialien zur Ammoniumbestimmung

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Fresco™ 21 Mikrozentrifuge	Thermo Fisher	Darmstadt, D
Mikrotiterplatte Lesegerät (Typ: Infinite M200 PRO)	Tecan Group Ltd.	Männerdorf, CH
Software i-control 1.7	Tecan Group Ltd.	Männerdorf, CH
96 Well Mikrotiterplatte (PS-Microplatte, F- Boden, transparent)	Greiner Bio One International GmbH	Kremsmünster, AT
Phenol- Nitroprussid- Lösung	Sigma	St. Louis, USA
Ammoniumchlorid	Merck KGaA	Darmstadt, D
MOPS (3-N-Morpholinopropan-sulfonsäure)	Sigma	St. Louis, USA
Salzsäure	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, D
Natriumhypochlorit (12 %ig)	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, D
Natriumhydroxid (1M)	Carl Roth GmbH & Co KG	Karlsruhe, D

Tabelle 77: Herstellung des MOPS-Pufferlösung zur Ammoniumbestimmung

Bezeichnung	Zugabe
MOPS (3-N- Morpholinopropansulfonsäure)	2,0928 g → in 100 ml Reinstwasser gelöst, pH-Wert 7 bei 4 °C eingestellt

Tabelle 78: Herstellung von 10ml Ammonium in MOPS (pH7) zur Bestimmung von Ammonium

Bezeichnung	Zugabe
100 mM Ammoniumchlorid	0,0535 g
In 10 ml mM MOPS (pH 7) gelöst	10 ml → Lösung wurde 1:100 verdünnt

Tabelle 79: Herstellung der Natriumhypochloritlösung (0,2 %) in 1 M Natriumhydroxid zur Bestimmung von Ammonium

Bezeichnung	Zugabe
Natriumhypochlorit 12 %ig	1 ml
Natriumhydroxid 1M	59 ml

Tabelle 80: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung von Phenol und Indol in den Kotproben

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Gaschromatograf 6890 N mit Autosampler G2614A und Injektionsturm G2613A	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Zero Air Generator	Parker	Bielefeld, D
Precision HydrogenSL 200	Peak Scientific Instruments Ltd.	Inchinnan Scotland, UK
Säule Agilent 112-8867 HP 88, 60 m/0,25 mm id/0,2 µm	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Injektionsspritze 10 µl, FN 23-26/42/HP	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Zentrifuge Avanti J-26 XP	Beckman Coulter	Krefeld, USA
Oakridge Zentrifugenröhrchen	Thermo Fisher Scientific, Nalgene	Waltham, USA
Eppendorf Gefäß	Eppendorf AG	Hamburg, D
Probengefäß	Machery Nagel GmbH & Co KG	Düren, D
Methanol	Merck KGaA	Darmstadt, D

Tabelle 81: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der biogenen Amine in den Kotproben

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Aminosäurenanalysator Biochrom 30	LaborService Onken GmbH	Gründau, D
Polyaminsäule 80210419	LaborService Onken GmbH	Gründau, D
Software Gerätesteuerung Biosys	Biosys Scientific GmbH	Karben, D
Software Auswertung EZChrom Elite	Scientific Software Inc.	USA
Rüttler Vortex 3	IKA	Staufen, D
Zentrifuge Typ 5415 C	Eppendorf AG	Hamburg, D
Einmalfilter Celluloseacetat, Porengröße: 0,2 µm, Membrandurchschnitt 0,25 mm	Macherey- Nagel GmbH & Co KG	Düren, D
2 ml und 1,5 ml Eppendorf Gefäß	Eppendorf AG	Hamburg, D
3 ml Einmalspritzen	Henry Schein Service GmbH	Langen, D
Ninhydrin	LaborService Onken GmbH	Gründau, D
Polyaminpuffer	LaborService Onken GmbH	Gründau, D
Natriumcitratpuffer pH 6,5	LaborService Onken GmbH	Gründau, D
Natriumhydroxid (c= 0,4mol/l)	LaborService Onken GmbH	Gründau, D
Trichloressigsäurelösung 10 % w/v	Sigma Aldrich	Darmstadt, D

0,2 % Thiodipropionsäure	Merck Schuchardt OHG	Hohenbrunn, D
0,5 mM Hexamethylenediamine	Sigma Aldrich	Darmstadt, D

Tabelle 82: Herstellung der Standardprobenlösung zur Bestimmung der biogenen Amine

Bezeichnung	Zugabe
Amin	10 mg
	→ auf 5 ml mit Extraktionslösung aufgefüllt
	→ es wurde eine Standardprobe mit 10 mM/l je Amin hergestellt und daraus wurde eine 0,4 mM/l Standardprobe verdünnt, die als Kalibrier-Standard diente

Tabelle 83: Verwendete Geräte und Materialien zur Extraktion der DNA aus Hundekot

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Analysewaage Sartorius BP 110 S	Sartorius AG	Göttingen, D
MP Fastprep 24™ 5G	MP Biomedicals	Santa Ana, USA
V1 Plus Vortex Mixer	Kisker Biotech GmbH & Co. KG	Steinfurt, D
Eppendorf Zentrifuge 5430	Eppendorf AG	Hamburg, D
Eppendorf Safe Lock Tubes 2ml	Eppendorf AG	Hamburg, D
Wasserbad	Labnet International, Inc.	New Jersey, USA
Mixer	Inc Scientific Industries	New York, USA
Qiagen DNA Kit	Qiagen	Hilden, D

Tabelle 84: Verwendete Geräte und Materialien zur Vorbereitung der Urinproben für weitere Untersuchungen

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
pH- Messelektrode	Mettler Toledo	Gießen, D
Eppendorfgefäß	Eppendorf AG	Hamburg, D
Ultraschallbad Sonorex Super RK 106	Bandelin	Berlin, D
SFCA membrane 0,2µm Filter	Thermo Scientific	Rochester, NY, USA

Tabelle 85: Verwendete Geräte und Materialien zur Stickstoffbestimmung

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Makro Elementaranalysator vario max CN	Elementar Analyse-systeme GmbH	Hanau, D
L- Glutaminsäure	Sigma Aldrich	Darmstadt, D

Tabelle 86: Verwendete Geräte und Materialien zur Phenol- und Indol-Bestimmung

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Gaschromatograf GC 6890 N	Agilent Technologies INC	Santa Clara, USA

Wasserbad Gefriertrocknungsanlage	Köttermann Martin Christ Gefriertrock- nungsanlage GmbH	Uetze, D Osterode, am Harz, D
Zentrifuge Fresco 21	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
Röhrchen	Agilent Technologies Inc.	Santa Clara, USA
Ameisensäure (85 %ig) Enzym $\beta$ -Glucuronidase/Arylsulfatase	Carl Roth GmbH & Co KG Sigma Aldrich	Karlsruhe D St. Louis, USA
Interner Standard (5-Methylindol)	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Methanol	Merck KGaA	Darmstadt, D

Tabelle 87: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der Harnsäure und des Kreatinins

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
HPLC Agilent 1100	Agilent Technolo- gies Inc.	Santa Clara, USA
Trennsäule Synergu 4 $\mu$ m Hydro – RP 250mm x 4.6mm	Phenomenex Inc.	Torrance, USA
Röhrchen, flach	Machery Nagel GmbH & Co KG	Düren, D
Kreatinin	Acros organics	New Jersey, USA
Harnsäure	Sigma Aldrich	
Kaliumdihydrogenorthosphat	Thermo Fischer	Kandel, D
Methanol	Merck KGaA	Darmstadt, D
Borsäure	Sigma Aldrich (Fluka)	St. Louis, USA
Lithiumcarbonat	Sigma Aldrich (Fluka)	St. Louis, USA

Tabelle 88: Herstellung des Lithiumcarbonat Pufferlösung für Harnsäurebestimmung

Bezeichnung	Zugabe
Lithiumcarbonat	1,25 g
Borsäure	2,50 g
	→ auf 500 ml mit Reinstwasser aufge- füllt

Tabelle 89: Herstellung der Harnsäure Stammlösung

Bezeichnung	Zugabe
Harnsäure	0,1g
	→ in einen 100 ml Messkolben überführt und das Volumen mit dem Puffer (LiCO <sub>3</sub> /H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ) auf- gefüllt

Tabelle 90: Herstellung der Harnsäure Standardlösung

Bezeichnung	Zugabe
Harnsäurestammlösung	1000 µl → in einen 100 ml Messkolben überführt und das Volumen mit dem Puffer (LiCO <sub>3</sub> /H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ) aufgefüllt

Tabelle 91: Herstellung der Kreatinin Stammlösung

Bezeichnung	Zugabe
Kreatinin	0,1 g → in einen 100 ml Messkolben überführt und das Volumen mit Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 92: Herstellung der Kreatinin Standardlösung

Bezeichnung	Zugabe
Kreatininstandardlösung	500 µl → in einen 100 ml Messkolben überführt und das Volumen mit Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 93: Herstellung Eluent C: Phosphatpuffer (0,1M)

Bezeichnung	Zugabe
Kaliumdihydrogenorthosphat	27,20 → in einen 2l Messkolben überführt und mit Reinstwasser auf das Volumen aufgefüllt

Tabelle 94: Herstellung Eluent D

Bezeichnung	Zugabe
Methanol	500 ml
Reinstwasser	500 ml

Tabelle 95: Verwendete Geräte und Materialien zur Anionen Bestimmung in den Harnproben

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Hochdruckflüssigkeitschromatograf Dionex LC 20	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Autosampler ICS-3000 AS	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
GP50 Gradientenpumpe	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
ED40 Elektrochemischer Detektor	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
LC20 Chromatographie-Gehäuse	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Guardsäule Dionex IonPac AG11-HC	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D

Analytische Säule Dionex IonPac AS11-HC	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Ionen-Suppressor Dionex ASRS ULTRA II 4-mm	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Röhrchen, flach	Machery Nagel GmbH & Co KG	Düren, D
Natriumhydroxid	Carl Roth GmbH	Karlsruhe, D
Natriumchlorid	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Natriumsulfat	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Trinatriumorthophosphat	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Natrium-Oxalat	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Trinatriumzitrat	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Natriumpyrophosphatdecahydrat	Sigma Aldrich	Seelze, D
Methanol	Merck KGaA	Darmstadt, D
Anionen Eluent A (20 mM NaOH)	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Anionen Eluent B (80 mM NaOH)	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D

Tabelle 96: Herstellung der Anionen-Standardlösung zu Bestimmung der Anionen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
Natriumchlorid	4,1200 g
Natriumsulfat	0,5950 g
Trinatriumorthophosphat	1,2010 g
Natriumoxalat	0,1520 g
Trinatriumcitrat	0,1560 g
Chlorid	5000 µg/ml
Sulfat	800 µg/ml
Orthophosphat	600 µg/ml
Oxalat	200 µg/ml
Citrat	200 µg/ml

Tabelle 97: Herstellung der Major Standardlösung zu Bestimmung der Anionen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
Chlorid	250 µg/ml
Sulfat	40 µg/ml
Orthophosphat	30 µg/ml
Oxalat	10 µg/ml
Citrat	10 µg/ml

→ in einen 200 ml Messkolben überführt und mit Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 98: Herstellung der Minor Standardlösung zu Bestimmung der Anionen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
50 µg/ml Standard	25 ml der gemischten Anionen-Standardlösung in einen 100 ml Messkolben überführt und mit Reinstwasser aufgefüllt
25 µg/ml Standard	25 ml der gemischten Anionen-Standardlösung in einen 200 ml Messkolben überführt und mit Reinstwasser aufgefüllt

1 µg/ml Standard

10 ml der Hauptanionen-Arbeitsstandardlösung in einen 100 ml Messkolben

Tabelle 99: Verwendete Geräte und Materialien zur Kationen Bestimmung in den Harnproben

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Hochdruckflüssigkeitschromatograf DIONEX Aquion	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Autosampler DIONEX AS-AP	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Guardsäule: Dionex IonPac CG12A	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Analytische Säule: Dionex IonPac CS12A	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Ionen-Suppressor: Dionex CDRS 600 4-mm	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Röhrchen	Machery Nagel GmbH & Co KG	Düren, D
Röhrchen	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Eluent Reinstwasser	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Eluent 24 mM MSA 3,2 ml/2 L	Thermo Fisher Scientific	Darmstadt, D
Lithiumchlorid	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Methansulfonsäure (MSA)	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Natriumchlorid	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Kaliumchlorid	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Calcium	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Magnesium nitrate hexahydrate	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Ammoniumsulfat (wasserfrei)	Sigma Aldrich	St. Louis, USA
Methanol	Merck KGaA	Darmstadt, D

Tabelle 100: Herstellung der Salzsäure (0,01M) zur Bestimmung der Kationen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
Salzsäure	2 ml → in einen 2 Liter Messkolben mit etwa 500 ml vorgegebenes Reinstwasser überführt und quantitativ mit Reinstwasser aufgefüllt

Tabelle 101: Herstellung des internen Lithiumstandards I zur Bestimmung der Kationen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
Lithiumchlorid	1,5275 g → in einen 500 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 102: Herstellung des internen Lithiumstandards II zur Bestimmung der Kationen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
Interner Lithiumstandard I	10 ml
	→ in einen 100 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 103: Herstellung der Ammonium Stammlösung zur Bestimmung der Kationen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniumsulfat	1,8310 g
	→ in einen 500 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 104: Herstellung der Natrium- und Kaliumstammlösung zur Bestimmung der Kationen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
Natriumchlorid	0,5080 g
Kaliumchlorid	0,3810 g
	→ in einen 200 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 105: Herstellung der Kation Kalibrierungsstandardlösung zur Bestimmung der Kationen im Urin

Bezeichnung	Zugabe
Ammonium Stammlösung	5 ml
Interner Lithiumstandard I	5ml
Natrium- und Kaliumstammlösung	10 ml
Magnesiumstandardmetalllösung	5 ml
Calciumstandardmetalllösung	5 ml
	→ in einen 500 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 106: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Ammonium-Zwischenlösung

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniumstandardlösung	1 ml
	→ in einen 100 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 107: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Kalibrierungsstandard I

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniumstandardlösung	1 ml

Lithiumstandardlösung I	1 ml
	→ in einen 100 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 108: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Kalibrierungsstandard II

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniumzwischenlösung	15 ml
Lithiumstandardlösung II	2,5 ml
	→ in einen 25 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 109: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Kalibrierungsstandard III

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniumzwischenlösung	15 ml
Lithiumstandardlösung II	5 ml
	→ in einen 50 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 110: Herstellung der Ammonium Kalibrierstandardlösungen zur Bestimmung der Kationen im Urin: Kalibrierungsstandard IV

Bezeichnung	Zugabe
Ammoniumzwischenlösung	5 ml
Lithiumstandardlösung II	5 ml
	→ in einen 50 ml Messkolben überführt und mit 0,01 M HCl quantitativ aufgefüllt

Tabelle 111: Verwendete Geräte und Materialien zur Bestimmung der Osmolalität in den Harnproben

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

Tabelle 112: Verwendete Geräte und Materialien zur Erstellung des Blutbildes

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
SYMEX®XT-2000i Hämatologie System	Sysmex GMBH	Norderstedt, D
Sysmex XN (ab 26.09.2023)	Sysmex GMBH	Norderstedt, D

Tabelle 113. Verwendete Geräte und Materialien zur Erstellung des Differentialblutbildes

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
SYSMEX@XT-2000i Hämatologie System	Sysmex GMBH	Norderstedt, D
SYSMEX@XN (ab 26.09.2023)	Sysmex GMBH	Norderstedt, D
Färbeautomat Hemomat SN: 2102062	Biomed Labordiagnostik GmbH	Oberschleißheim, D

Tabelle 114: Verwendete Geräte und Materialien zur Untersuchung klinisch-chemischer Parameter im Blut

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Kone Lab prime 60	Thermo Fisher Inc.	Vantaa, FIN
Analyzer Indiko (ab 31.10.2023 )	Thermo Fisher	Darmstadt, DE

Tabelle 115: Verwendete Geräte und Materialien zur Analyse der Aminosäuren m Blut

Bezeichnung	Hersteller	Ort, Land
Aminosäurenanalysator Biochrom 30	Biochrom	Cambridge, UK
Zentrifuge Fresco 21	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
0,2 µm PPPT FE- Zentrifugenfilter Chromafil Ca-20/25	Macherey- Nagel	Düren, D
Eppendorfgefäß	Eppendorf AG	Hamburg, D
Sulfosalicylsäure 5-Sulfosalicylic acid dihydrate	Sigma Aldrich	Steinheim, D
Lithium Loading Pufferlösung	LaborService Onken GmbH	Gründau, D

## Referenzwerte

Tabelle 116: Referenzbereiche für die hämatologische Untersuchungen nach Herstellerangabe Sysmex

Parameter	Einheit	Sysmex	
		Referenzbereiche	
Leukozyten	G/l	5,6	14
Erythrozyten	T/l	5,9	8,3
Hämoglobin	g/dl	14,7	19,9
Hämatokrit	%	42	56
Mittleres Zellvolumen	fl	62	72
Mittleres korpuskuläres Volumen	Pg	22	25
Mittlere Hämoglobinkonzentration	g/dl	32	36
Thrombozyten	G/l	165	400

Tabelle 117: Referenzbereiche (Zellzahl/µl) für Differentialblutbild nach Herstellerangabe Sysmex

Parameter	Sysmex	
	Referenzbereiche	
Neutrophile Granulozyten	3	9
Lymphozyten	1	3,6
	185	

Monozyten	0	0,5
Eosinophile Granulozyten	0	0,6
Basophile Granulozyten	0	0,1

Tabelle 118: Referenzbereiche für klinische Chemie nach Herstellerangabe Kone Lab

Parameter	Einheit	Kone Lab	
		Referenzbereiche	
Urea	mmol/l	3,5	10
Kreatinin	μmol/l	53	124
Protein	g/l	54	66
Albumin	g/l	28	36
Calcium	mmol/l	2,5	2,9
Phosphor	mmol/l	0,96	1,6
Natrium	mmol/l	140	150
Kalium	mmol/l	3,6	4,8
Magnesium	mmol/l	0,65	0,93
ALT	U/l	0	76
AP	U/l	0	97
AST	U/l	0	41
Bilirubin	μmol/l	0	5,1

# Veröffentlichungen

## Posterbeiträge

Litzenburger, J.; Zentek, J. (2022):

*Ernährungsbiologische Untersuchungen zum Einsatz "neuer" pflanzlicher Proteinquellen sowie zu der Relevanz des Getreideanteils in der Ernährung von Hunden.*

In: DVG-Vet-Congress Berlin, Estrel Congress Center 13. bis 15. Oktober 2022 : Tagung der DVG-Fachgruppe Tierernährung : 15. Oktober 2022 – Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V. (Hrsg.) (1. Aufl.) Gießen: Verlag der DVG Service GmbH, S. 27–28, ISBN: 978-3-86345-633-7

Litzenburger, J.; Saliu, E.; Zentek, J. (2023):

*In vitro digestion of plant and animal proteins in a canine model.*

In: Proceedings of the Society of Nutrition Physiology : 77th conference 07th - 09th March 2023 in Göttingen=Berichte der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie : 77. Tagung vom 07. bis 09. März 2023 in Göttingen – editor: Society of Nutrition Physiology (Hrsg.) Frankfurt am Main: DLG-Verlag GmbH. Berichte der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie; volume 32, S. 82, ISBN: 978-3-7690-4116-3

Zentek, J.

*Nutritional studies on the use of legumes, wheat and quinoa in the diet of dogs.*

34th ECVIM-CA Congress

Lyon, Frankreich – 05. bis 07. September 2024

Zentek, J.

*Incorporating legumes, wheat, and quinoa into canine diets: how does it affect the canine digestive physiology and metabolism?*

In: retaste - rethink food resources, losses, and waste 2024 in Griechenland – 25. bis 27 September 2024: Retaste: rethink food resources, losses, and waste : conference abstracts S. 1–2, [retaste.gr/pdf/abstract\\_2024.php?id=672](https://retaste.gr/pdf/abstract_2024.php?id=672)

Litzenburger, J. (2024):

*Studien zur Verwendung von Hülsenfrüchten, Weizen und Quinoa in der Hundeernährung.*

DVG-Vet-Congress Berlin, Estrel Congress Center 30. Oktober bis 02. November 2024: Tagung der DVG-Fachgruppe Tierernährung : 02.November 2024 – Deutsche

Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V. (Hrsg.) (1. Aufl.) Gießen: Verlag der DVG Service GmbH, S. 27-28, ISBN: 978-3-86345-729-7

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen herzlichen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Zentek für die Möglichkeit, diese Promotion am Institut für Tierernährung durchzuführen sowie für seine engagierte Betreuung und die uneingeschränkte Bereitschaft, Fragen und Probleme zeitnah zu klären.

Ebenso danke ich Frau Prof. Dr. Nadine Paßlack für die Mitbetreuung und Unterstützung des Projekts sowie Sophie Heinze für den inspirierenden Austausch.

Ein weiterer Dank gilt Frau Prof. Dr. Barbara Kohn für die Untersuchung der Blutproben in der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin.

Ich möchte auch der Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Forschung e.V. für die finanzielle Unterstützung meinen Dank aussprechen.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei meiner Betreuerin Eva-Maria Saliu sowie bei Johannes Schulze-Holthausen und Wilfried Vahjen, die mich auf meinem Weg mit produktiven Gesprächen und freundlichen Worten begleitet haben.

Ein herzliches Dankeschön geht an Anett Kriesten, Luisa Ebersbach, Katharina Schröter, Marita Eitingner, Petra Huck, Susan Paetzelt sowie Claudia Kipar für ihre technische Assistenz im Labor und ihre wertvolle Unterstützung.

Jonathan, Philip, Anja, Laura, Katharina, Hannah und Mareen danke ich für die gemeinsame Zeit am Institut, für das Meistern von Herausforderungen und die gemeinsamen Mittagspausen.

Besonders möchte ich mich bei Herrn Frank O. Spaniol bedanken, ohne den ich nie daran gedacht hätte, Tiermedizin zu studieren.

Ein besonders herzlicher Dank geht an Kim Trinh, der während meiner Doktorarbeit stets eine verlässliche Unterstützung war.

Meinen herzlichsten Dank richte ich an meine Familie, die immer an mich geglaubt hat.

Vor allem danke ich Alexander und unserem gemeinsamen Hund Oscar dafür, dass ihr bedingungslos an meiner Seite seid.

## Finanzierungsquellen

Die Arbeit wurde finanziell unterstützt mit Mitteln der Gesellschaft zur Förderung kynologischer Forschung.

## Interessenskonflikte

Im Rahmen dieser Arbeit besteht keine Interessenskonflikte durch Zuwendung Dritter.

## Selbstständigkeitserklärung

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

Fulda, den 18.12.2024

Jennifer Litzenburger