

Diplomarbeit

**Der Einfluss von Ernährung auf die intestinale
Methanproduktion und die gastrointestinale Gesundheit**

eingereicht von

Rafael Francisco Regnet da Cruz

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Lehrstuhl für Immunologie

unter der Anleitung von

Sen. Lecturer Priv.-Doz. Mag. Mag. Dr. Sonja Lackner

Christina Sarah Kumpitsch, PhD

Graz, 28. Oktober 2025

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass, sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI) Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und den Vorgaben meiner Universität erfolgte, sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.

Graz, 28. Oktober 2025

Rafael Francisco REGNET DA CRUZ, eh.

Danksagungen

Ich möchte hier meiner Familie, in erster Linie meinen Eltern danken. Sie zeigten auf meinem Weg eine ununterbrochene Unterstützung und einen unentwegten Glauben an mich. Ohne sie hätte ich es nicht geschafft. Vielen Dank für Alles!

Weiterer Dank gilt all den anderen Menschen in meinem Leben, die mich täglich begleiten und deren Unterstützung ich immer gewiss sein konnte.

Ich will mich auch bei meinen Diplomarbeitsbetreuerinnen Sonja und Christina bedanken, die mir bei der Bearbeitung dieses Themas stets zur Seite standen und mir bei jeder Frage behilflich waren.

Ich will auch der Medizinischen Universität Graz und der Republik Österreich danken, dass sie mir die Ausbildung des Medizinstudiums ermöglicht haben.

Mein letzter Dank gilt Gott, der mich immer begleitet und mir immer hilft.

Rafael Francisco Regnet da Cruz

Zusammenfassung in Deutsch

Hintergrund: Das intestinale Mikrobiom spielt eine zentrale Rolle für die Gesundheit des Menschen. Dabei kommt besonderes Interesse den methanogenen Archaeen zu. Diese sind Mikroorganismen, die im Darm des Menschen leben und Methan (CH₄) produzieren. Methan kann im Atem nachgewiesen werden und wird als potenzieller Marker für gastrointestinale Prozesse diskutiert.

Zielsetzung: Diese Diplomarbeit untersucht die Ernährung und das Mikrobiom des Menschen im Hinblick auf die Gesundheit und auf die Methanproduktion. Ziel war es herauszufinden, ob und welche Unterschiede es gibt und wie diese zu erklären sind.

Methoden: Es wurden Daten von insgesamt 66 erwachsenen Personen untersucht. Die Erhebung umfasste standardisierte Ernährungsfragebögen, Atemtests zur Bestimmung der Methanemission sowie Stuhlproben für mikrobiologische Analysen. Auf Grundlage der Atemtests wurden die Teilnehmenden in Low und High Emitter von Methan eingeteilt. Zudem wurden sie in gesunde und kranke Personen eingeteilt. Anschließend erfolgte der Vergleich von Ernährungsdaten und mikrobieller Diversität zwischen den Gruppen.

Ergebnisse: Es zeigten sich deutliche Unterschiede. High Emitter nahmen im Mittel rund 1400 µg mehr Vitamin B₃ (p=0,033), 130 µg mehr Vitamin B₅ (p=0,028) und 5 µg Vitamin B₇ (p=0,034) auf als Low Emitter. Weiterhin nahmen High Emitter im Mittel rund 8000 mg weniger Polysaccharide (p=0,046), 5 mg weniger Glykogen (p=0,028) und 8000 mg weniger Stärke (p=0,048) auf als Low Emitter. Unter den Vegetarier*innen waren 19% High Emitter, bei den Omnivoren waren 81% High Emitter (p=0,026). Die Biodiversität des Archaeoms der High Emitter war im Mittel ausgeprägter als das der Low Emitter: Shannon-Index 4,773 vs. 4,120 (p<0,001) und Inverse-Simpson-Index 37,498 vs. 20,597 (p<0,001). Zwischen gesunden und kranken Personen zeigte sich hingegen kein Unterschied in der Zusammensetzung des Archaeoms.

Diskussion: Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Konsum von bestimmten Nahrungsmitteln, insbesondere der von bestimmten Kohlenhydraten und Vitaminen, einen Einfluss auf die Methanproduktion des Menschen hat. Die niedrigere Häufigkeit von High

Emittern und Vegetarier*innen weist zudem auf den möglichen Einfluss des gesamten Ernährungsstils hin. Die Ergebnisse tragen zum besseren Verständnis der Rolle methanogener Archaeen im menschlichen Mikrobiom bei und sie legen nahe, dass Ernährungsfaktoren zur Methanproduktion beitragen können. Aufgrund des Designs und der begrenzten Stichprobengröße lassen sich jedoch keine kausalen Zusammenhänge ableiten. Weitere Studien mit größeren Kohorten sind notwendig, um die funktionelle Bedeutung methanogener Archaeen genauer zu klären.

Conclusio: Diese Arbeit zeigt, dass Unterschiede im Archaeom eng mit der individuellen Methanproduktion verbunden sind und diese auch mit Ernährungsfaktoren einhergehen. Die Arbeit bietet Anhaltspunkte für zukünftige Forschung zu den Wechselwirkungen von Ernährung, Mikrobiom und Gesundheit.

Abstract in English

Background: The intestinal microbiome plays a central role in human health. Particular interest is directed toward methanogenic archaea. These are microorganisms that reside in the human gut and produce methane (CH₄). Methane can be detected in the breath and is being discussed as a potential marker for gastrointestinal processes.

Objective: This thesis examines human nutrition and the microbiome regarding health and methane production. The aim was to determine whether there are differences, what those differences are, and how they can be explained.

Methods: Data from a total of 66 individuals were analyzed. The data collection included standardized nutrition questionnaires, breath tests for the assessment of methane emissions, as well as stool samples for microbiological analyses. Based on the breath tests, participants were categorized into Low and High Emitter of methane. In addition, they were classified as healthy and sick individuals. Subsequently, dietary data and microbial diversity were compared between the groups.

Results: Clear differences were observed. On average, High Emitters consumed approximately 1400 µg more of vitamin B₃ (p=0.033), 130 µg more vitamin B₅ (p=0.028) and 5 µg more of vitamin B₇ (p=0.034) than Low Emitters. Furthermore, High Emitters consumed on average around 8000 mg less polysaccharides (p=0.046), 5 mg less glycogen (p=0.028) und 8000 mg less starch (p=0.048) than Low Emitters. Among the vegetarians, there were 19% High Emitters, whereas among the omnivores were 81% High Emitters (p=0.026). On average the biodiversity of the archaeome of the High Emitters was greater than that of the Low Emitters: Shannon index 4.773 vs. 4.120 (p<0.001) and Inverse Simpson index 37.498 vs. 20.597 (p<0.001). In contrast, no difference was found in the diversity of the archaeome between sick and healthy people.

Discussion: These results suggest that the consumption of certain foods, particularly specific carbohydrates and vitamins, has an influence on human production of methane. The lower frequency of High Emitters and vegetarians also indicates a possible impact of the overall dietary pattern. The findings contribute to a better understanding of the role of

methanogenic archaea in human microbiome and suggest that dietary factors may contribute to methane production. However, due to the study design and the limited sample size, no causal relationships can be inferred. Further studies with larger cohorts are necessary to clarify the functional significance of methanogenic archaea in more detail.

Conclusion: This study shows that differences in archaeome are closely linked to individual methane production and are also associated with dietary factors. The work provides indications for future research on the interactions between diet, microbiome and health.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen und deren Erklärung.....	1
Abbildungsverzeichnis	2
Tabellenverzeichnis	3
1. Einleitung	4
1.1. Das humane Mikrobiom – Allgemeine Einführung	4
1.2. Das Darmmikrobiom und seine Rolle für Metabolismus und Gesundheit.....	5
1.3. Das Darmmikrobiom – Methanogene Archaeen und Methanproduktion	7
1.4. Ernährung und Einfluss auf das Mikrobiom.....	9
1.5. Relevanz für die gastrointestinale Gesundheit	12
1.6. Forschungsfragen und Hypothesen	14
2. Material und Methoden	16
2.1. Studiendesign	16
2.2. Rekrutierung der Studienteilnehmer*innen.....	16
2.3. Ein- und Ausschlusskriterien.....	17
2.4. Daten, Datenerhebung und Hintergründe	18
2.5. Ethik und Datenschutz.....	23
2.6. Statistische Datenerhebung.....	23
3. Ergebnisse / Resultate mit graphischen Darstellungen.....	25
3.1. Ernährung und Methanproduktion	28
3.1.1. Unterscheidet sich die Ernährung zwischen High und Low Emittlern?.....	28
3.1.2. Unterscheidet sich die Ernährung zwischen gesunden und kranken Personen?.....	31
3.1.3. Unterscheidet sich die Ernährung zwischen gesunden und kranken Personen hinsichtlich des Emittterstatus?	32
3.1.4. Wer ist eher High Emitter von Methan – Vegetarier*innen oder Nicht- Vegetarier*innen?.....	35
3.2. Mikrobiom der Archaeen und Methanproduktion.....	37
3.2.1. Unterscheidet sich das Mikrobiom zwischen High und Low Emittlern?.....	37
3.2.2. Unterscheidet sich das Mikrobiom zwischen gesunden und kranken Personen?.....	39

3.2.3.	Unterscheidet sich das Mikrobiom zwischen gesunden und kranken Personen hinsichtlich des Emitterstatus?.....	39
4.	Diskussion	42
4.1.	Antworten auf die Forschungsfragen	42
4.1.1.	Ernährung und Methanausstoß	42
4.1.2.	Ernährung von gesunden und kranken Personen.....	45
4.1.3.	Die Ernährung bei gesunden und kranken Personen hinsichtlich ihres Emitterstatus	47
4.1.4.	Unterschiede des Methanausstoßes bei vegetarischer und omnivorer Ernährung	48
4.1.5.	Das Mikrobiom bei High und Low Emittlern.....	50
4.1.6.	Das Mikrobiom bei gesunden und kranken Personen	51
4.1.7.	Das Mikrobiom bei gesunden und kranken Personen hinsichtlich ihres Emitterstatus	51
4.2.	Kritische Reflexion / Einschränkungen zu Inhalt und Methode	54
4.2.1.	Limitation der Arbeit	54
4.2.2.	Stärken der Arbeit.....	55
4.3.	Zusammenfassende Erläuterungen	56
4.4.	Ausblick für weiterführende Forschung	57
5.	Literaturverzeichnis	60

Abkürzungen und deren Erklärung

DNA = *deoxyribonucleic acid*, Desoxyribonukleinsäure, Trägermolekül genetischer Information von Lebewesen

ARDS = acute respiratory distress syndrome

H₂ = Wasserstoff

CO₂ = Kohlenstoffdioxid

CH₄ = Methan, chem. Verbindung aus Kohlenstoff und Wasserstoff, das auf der Erde überwiegend als Gas vorkommt und zu einem großen Teil durch Mikroorganismen gebildet wird

Vitamin B₃ = Niacin/Nicotinsäure

Vitamin B₅ = Pantothersäure

Vitamin B₇ = Biotin

HE = High Emitter, Menschen die bei jeder Expiration über 5ppm CH₄ ausatmen

LE = Low Emitter, Menschen, die bei jeder Expiration unter 5ppm CH₄ ausatmen

gHE = gesunde High Emitter, in dieser Diplomarbeit definiert als High Emitter ohne diagnostizierte Darmerkrankung

kHE = kranke High Emitter, High Emitter mit diagnostizierter Darmerkrankung

gLE = gesunde Low Emitter, Low Emitter ohne diagnostizierte Darmerkrankung

kLE = kranke Low Emitter, Low Emitter mit diagnostizierter Darmerkrankung

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Diversität	23
Abbildung 2: Flowchart.....	26
Abbildung 3: Das Boxplot-Diagramm veranschaulicht, dass die Low Emitter signifikant mehr Polysaccharide und Stärke aufgenommen haben.	29
Abbildung 4: Das Boxplot-Diagramm veranschaulicht, dass die Low Emitter signifikant mehr Glykogen aufgenommen haben.....	30
Abbildung 5: Das Boxplot-Diagramm veranschaulicht, dass die Low Emitter signifikant weniger von den Vitaminen B3 und B5 aufgenommen haben.....	30
Abbildung 6: Das Boxplot-Diagramm veranschaulicht, dass die Low Emitter signifikant weniger Vitamin B7 aufgenommen haben.	31
Abbildung 7: Der Kruskal-Wallis-Test zeigt, dass sich die Mediane der Gruppen 3 (kHE) und 4 (gHE) deutlich unterscheiden, was auf die signifikanten Unterschiede bei der Glykogenaufnahme hindeutet	33
Abbildung 8: Im Balkendiagramm wird deutlich, dass unter den Omnivoren die Mehrheit High Emitter sind und unter den Vegetarier*innen die Mehrheit Low Emitter.....	36

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ein-/Ausschlusskriterien	17
Tabelle 2: Übersicht wichtiger metrischer Basiswerte (n=66)	26
Tabelle 3: Übersicht über weitere wichtige Basiswerte (n=66)	27
Tabelle 4: Übersicht der wichtigsten Nährstoffinformationen (* = g/1000 kcal)	27
Tabelle 5: Vergleich des Medians und Interquartilbereichs (IQR) signifikant unterschiedlicher Nährstoffe bei Personen die wenig bzw. viel Methan emittieren	29
Tabelle 6: Vergleich des Medians und Interquartilbereichs (IQR) signifikant unterschiedlicher Nährstoffe bei gesunden und kranken Personen	32
Tabelle 7: Paarweise Vergleiche der 4 Gruppen hinsichtlich des Glykogens	33
Tabelle 8: Paarweise Vergleiche der 4 Gruppen hinsichtlich des Niacins	34
Tabelle 9: Paarweise Vergleiche der 4 Gruppen hinsichtlich der Eicosatriensäure	34
Tabelle 10: Bei der Aufnahme dieser Nährstoffgruppen besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den verglichenen Gruppen	35
Tabelle 11: Vergleich von Vegetarier*innen und Omnivoren im Studienkollektiv	36
Tabelle 12: Chi-Quadrat-Tests	37
Tabelle 13: Vergleich des Medians und Interquartilbereichs (IQR) signifikant unterschiedlicher Werte des Mikrobioms bei Personen die wenig bzw. viel Methan emittieren	38
Tabelle 14: Vergleich des Medians und Interquartilbereichs (IQR) signifikant unterschiedlicher Werte des Mikrobioms bei gHE und kHE	40
Tabelle 15: Vergleich signifikant unterschiedl. Werte des Mikrobioms bei gLE und kLE	41
Tabelle 16: Unterschiedlicher Konsum der Nährstoffe in beiden Gruppen	43
Tabelle 17: Gegenüberstellung der beiden Theorien bezüglich des Konsums und der unterschiedlichen Methanwerten	44
Tabelle 18: Vergleich der signifikant unterschiedlichen Aufnahme verschiedener Nährstoffe bei gesunden und kranken Personen	46
Tabelle 19: Schematischer Vergleich der unterschiedlichen Werte des Mikrobioms bei allen 4 Gruppen	52

1. Einleitung

1.1. Das humane Mikrobiom – Allgemeine Einführung

Der Mensch wird, wie jedes andere Säugetier der Erde, von einer großen Vielzahl unterschiedlicher Lebewesen besiedelt.¹ Die Gesamtheit der vielen unterschiedlichen Mikroorganismen nennt man Mikrobiota, man meint also alle Spezies. Der Begriff Mikrobiom bezeichnet dagegen die Zusammensetzung des Genoms aller Lebewesen, die im menschlichen Körper vorkommen, es sind also alle Gene gemeint. Die beiden Begriffe werden jedoch oft synonym verwendet, was zu Schwierigkeiten in der Definition führen kann.^{2,3} Um es verständlicher auszudrücken: der Begriff Mikrobiota beschreibt alle *lebenden* Mikroorganismen in einem System, wie zum Beispiel Bakterien, Pilze oder Archaeen. Dagegen gelten Viren, Bakteriophagen, Prione, Plasmide und freie DNA nicht als Lebewesen und zählen daher auch nicht zu den Mikrobiota. Der Begriff Mikrobiom hingegen umfasst nicht nur alle Mikroorganismen, sondern auch das gesamte Spektrum der von ihnen produzierten Moleküle, wie ihre Bestandteile (Nukleinsäuren, Proteine, Lipide), ihre Metabolite (Botenstoffe, Toxine, organische und anorganische Moleküle) und auch Moleküle, die von koexistierenden Wirten gebildet werden. Daher gehören alle mobilen genetischen Elemente wie Viren, Phagen oder extrazelluläre DNA zum Mikrobiom, nicht aber zu den Mikrobiota.⁴

Die mikrobiellen Lebewesen, die der menschliche Körper beherbergt, kommen in einer so großen Zahl vor, dass sie die Anzahl der menschlichen Zellen übertreffen: manche Autoren sprechen davon, dass 30 Billionen menschliche Zellen ca. 40 Billionen bakterieller Zellen gegenüberstehen.⁵ Diese Zahlen sind jedoch Durchschnittswerte und von sehr vielen unterschiedlichen Faktoren abhängig und sie variieren auch je nach Studie,⁶ aber es ist dennoch klar, dass ein großer Unterschied besteht.^{3,7,8}

Man weiß mittlerweile, dass das Zusammenspiel aus verschiedensten Arten von fundamentaler Bedeutung für die physiologischen Abläufe eines Lebewesens ist. Nahezu jede Region des Körpers wird von nutzbringenden Mikroorganismen besiedelt.²

Sie leben und arbeiten dabei in symbiotischer Form mit den Zellen des Körpers und sind an lebenswichtigen Prozessen beteiligt oder ausschlaggebend.

Auf der Haut beispielsweise unterstützen die Mikrobiota den Körper dabei, Krankheitserreger abzuwehren und das Immunsystem zu „trainieren“.²

In der Lunge, die lange Zeit als steril galt, ist nun klar, dass ebenfalls eine Vielfalt an Mikrobiota und ihren Abbauprodukten vorkommen. Hier scheinen sie ebenfalls eine Rolle in der Immunabwehr zu spielen und sind nachweislich am gesundheitlichen Zustand der Lunge beteiligt. Die Bandbreite in der Forschung reicht dabei von Asthma und ARDS bis hin zum Lungenkrebs.⁹

Anderen wissenschaftlichen Erkenntnissen zufolge scheint das Mikrobiom des Darms einen sehr großen Einfluss auf das Enterische Nervensystem des Darms zu besitzen, welches wiederum mit dem Gehirn über Nerven- und Hormonsignale kommuniziert, was als Darm-Hirn-Achse (gut-brain-axis, GBA) bezeichnet wird. Der Magendarmtrakt funktioniert durch das enterische Nervensystems ganz ohne die Steuerung des zentralen Nervensystems und wird deshalb auch „Zweites Gehirn“ genannt. Mittlerweile gibt es beachtliche Evidenz, dass die Mikrobiota des Darms eine Reihe von neuroaktiven und immunologisch wirksamen Substanzen produzieren, welche wiederum im Gehirn wirksam sind und wohl unter anderem auch an kognitiven Prozessen und der Kontrolle von Emotionen beteiligt sind.^{6,10,11}

1.2. Das Darmmikrobiom und seine Rolle für Metabolismus und Gesundheit

Im menschlichen Darm, wo das Mikrobiom des Körpers am größten und vielfältigsten ist, leistet es entscheidende Beiträge zum Metabolismus, Energiehaushalt, zur Funktion des Immunsystems und sogar zur Entwicklung von Neuronen.^{1,9} Die Mikroorganismen sind beteiligt an der Aufrechterhaltung der Homöostase des Darms und an der Funktionsfähigkeit des Immunsystems in der Darmmukosa.¹²

In genauerer Betrachtung betreffen die Prozesse außerdem die Aufnahme und Fermentation bestimmter Nahrungsbestandteile, die Begünstigung enzymatischer Aktivitäten in der Mukosa und die Unterstützung zur Bildung verschiedener Vitamine (u.a. Vitamin B₆, B₉, B₁₂), um nur ein paar Beispiel zu nennen.¹⁰

Zudem stellt das Genom des Mikrobioms, alleine im Darm, mit über 22 Millionen unterschiedlichen Genen¹³ eine deutlich größere Vielfalt an Genen, im Vergleich zum Genom des Menschen, dar, welches nur aus 22000 unterschiedlichen Genen besteht,³ was bedeutet, dass >99% der Gene in unserem Körper mikrobielle Gene sind.¹¹

Diese Gene kodieren für zahlreiche Enzyme, die den Mikroorganismen die Synthese von Metaboliten ermöglichen, die im humanen Stoffwechsel aufgrund fehlender genetischer und enzymatischer Kapazität nicht produziert werden können.¹⁰

Die von der Darmmikrobiota synthetisierten Metabolite lassen sich in 3 Gruppen einteilen:

- 1) Metabolite, die direkt aus Nahrungsbestandteilen durch mikrobielle Fermentation produziert werden (wie beispielsweise die kurzkettigen Fettsäuren (short fatty acids, SCFAs) Acetat, Propionat und Butyrat),
- 2) Metabolite, die vom menschlichen Organismus hergestellt und die von der Mikrobiota verändert werden (z.B. sekundäre Gallensäure oder Hormone) und
- 3) Metabolite, die von Mikrobiota de novo synthetisiert werden, also die Synthese von Molekülen aus einfachen Vorläufermolekülen (Beispiele hierfür sind Vitamin K und B-Vitamine, sowie Aminosäuren und Polyamine).¹⁰

Die dadurch entstehende Möglichkeit der Verdauung von Nahrungsbestandteilen, die nicht im humanen genetischen Code enthalten ist, führt zu großer Erweiterung der metabolischen Fähigkeit der Energiegewinnung aus verschiedensten Nahrungsmitteln und Ernährungsweisen und ist ebenfalls dieser Vielfalt an mikrobiellen Genen geschuldet.³

Die Studienlage deutet daraufhin, dass es wohl möglich ist, dass Mikroorganismen, die mit der Nahrung aufgenommen werden, das Mikrobiom verändern, ihm neue Gene/Fähigkeiten zukommen lassen und so neue Nahrungsquellen zu erschließen vermögen.³

So kann laut einer Übersichtsstudie, bei der 19 Studien ausgewertet wurden, der regelmäßige Konsum von fermentierten Lebensmitteln wie Kimchi, Sauerkraut oder Kefir, in denen probiotische Bakterien enthalten sind, die Darmmikrobiota so verändern, dass sie sich positiv auf die menschliche Gesundheit auswirken können, indem sie beispielsweise eine antiinflammatorische Wirkung zeigen.¹⁴

Laut Barko et al. (2018), kann man die beherbergenden Lebewesen, wie den Menschen, bezüglich der genetischen Vielfalt und der metabolischen Fähigkeiten, daher als, aus vielen Spezies bestehenden, hybriden Organismus betrachten.¹

1.3. Das Darmmikrobiom – Methanogene Archaeen und Methanproduktion

Das Mikrobiom des Kolons macht mit Abstand den größten Anteil des Mikrobioms aus. Der Gastrointestinaltrakt beinhaltet 99% der mikrobiellen Biomasse des menschlichen Körpers.¹⁵

Dabei übertreffen die Bakterien andere Mikroorganismen, wie Eukaryoten (z.B. Pilze) und Archaeen, um 2-3 Zehnerpotenzen, weswegen man beim Darmmikrobiom häufig nur von Bakterien spricht.⁵

Diese Betrachtungsweise ist jedoch nicht vollständig, denn zu den Mikrobiota gehören, außer Bakterien, unter anderem Pilze, Viren und nicht zuletzt auch Archaea.^{1,3,12}

Die Archaeen machen im menschlichen Darm ungefähr 1% aller Mikroorganismen aus.¹⁶ Den Teil der mikrobiellen Gemeinschaft im Menschen, den die Archaeen ausmachen, nennt man Archaeom.¹⁷

Archaea oder auch Archaeen, stellen eine der drei großen Domänen des Lebens dar. Die anderen beiden Domänen sind die Bakterien und die Eukaryoten.

Bis zum Ende der 1970er Jahre unterschied man nur zwischen Eukaryoten und Prokaryoten, also zwischen Lebewesen mit und solchen ohne Zellkern; dabei wurden Bakterien und Archaea (die damals noch keinen eigenen Namen hatten) in einer Gruppe, der der Prokaryoten zusammengefasst, da beide Gruppen keinen Zellkern aufweisen.

Die Existenz der Archaea wurde in der 1977 erschienenen Studie von Carl Woese und George E. Fox postuliert, indem sie die RNA der Ribosomen (rRNA) verschiedener Lebewesen verglichen und feststellten, dass die ribosomale RNA bestimmter Mikroorganismen (die der Archaea), Gemeinsamkeiten zu denen der Eukaryoten und dagegen Unterschiede, zu denen der Bakterien aufwiesen.¹⁸

Die beiden Wissenschaftler beschrieben damit eine neue Methode der Identifizierung von Arten unter Zuhilfenahme von ribosomaler RNA. Durch ihre Forschung wurde klar, dass die Archaea weder zu den Eukaryoten noch zu den Bakterien gehören, wodurch die alte Einteilung abgeschafft und die heute geltende 3-Domänen-Einteilung in Eukaryoten, Bakterien und Archaeen (beides Prokaryoten) eingeführt wurde.

Archaea sind einzellige Mikroorganismen ohne Zellkern. Sie besitzen keine komplexen Endomembran-Systeme und haben ein zirkuläres Genom, weswegen sie zunächst Bakterien ähneln. Allerdings sind ihre Methoden der Genreplikation und -translation, wie

oben erwähnt, anders als die der Bakterien und ähneln evolutionär eher denen der Eukaryoten. Weiterhin weisen manche Vertreter Alleinstellungsmerkmale auf, wie einen besonderen Bewegungsapparat (genannt Archaeellum) und einzigartige Methoden des Metabolismus, wie die Methanogenese.¹⁹

Es ist genau diese Eigenschaft der Archaea, die Gegenstand der aktuellen Forschung und auch dieser Arbeit ist.

Denn die Organismen, die zu den ältesten Erscheinungen des Lebens auf der Erde überhaupt gehören (der Name stammt vom Altgriechischen *archaios* = uralt²⁰) und in der Umwelt ubiquitär vorkommen,¹⁵ spielen nicht nur tragende Rollen in den globalen Stickstoff- und Kohlenstoffkreisläufen,¹⁹ sondern sind auch Teil des menschlichen Mikrobioms, wo sie verschiedene Aufgaben erfüllen.

Eine dieser Aufgaben ist die Methanogenese, also die Bildung von Methan (CH₄) zur Energiegewinnung. Es handelt sich dabei um einen der ersten mikrobiellen Stoffwechselforgänge, der vermutlich eine wichtige Rolle in der Evolution des Lebens gespielt hat.²¹ Die Methanogenese geschieht als letzter Schritt im Zerfall organischer Materie, wenn sie unter anaeroben Bedingungen stattfindet. Das meiste Methan auf der Erde (70-90%), entsteht durch biotische Faktoren, also durch den Einfluss von Lebewesen, der Rest durch abiotische.²¹

Die meisten methanbildenden Archaeen nutzen den hydrogenotrophen Stoffwechselweg, also Energiegewinnung durch die Reduktion von Wasserstoff (H₂) und Kohlenstoffdioxid (CO₂) zu Methan. Jedoch können sie auch Acetat, Methanol/Methylamine oder andere Moleküle verwenden, um Methan zu produzieren.^{22,23}

Methanobrevibacter smithii, als einer der wichtigsten Vertreter der methanbildenden Archaeen im menschlichen Körper, nutzt H₂ und CO₂ für die Methanogenese. *Methanosphaera stadtmanae* verwendet dagegen Methanol in Kombination mit H₂ für seinen Metabolismus.²³ Interessanterweise sind die Methanbildner, die im menschlichen Gastrointestinaltrakt vorkommen, strikte Anaerobier. In der Anwesenheit von Sauerstoff vermehren sie sich nicht oder sterben sogar innerhalb weniger Stunden.¹⁶

Die Methanogenese gilt als Alleinstellungsmerkmal der Archaeen und sie sind wohl die einzigen, die ihre Energie und ihren Wachstum daraus schöpfen.^{21,24,25} Dieser Prozess der Spaltung von organischem Material geschieht auch im menschlichen Darm, was bedeutet, dass auch hier Methan entsteht. Auch hier wird Methan als Endprodukt der Fermentation gebildet, die Archaeen nutzen dabei bakterielle

Abbauprodukte wie Formiat und Acetat, sowie H₂ und CO₂ und produzieren daraus CH₄.^{25,26}

Verschiedene Forschungsergebnisse legen nun nahe, dass erhöhte Methanwerte beim Menschen mit Krankheiten zusammenhängen könnten, jedoch bedarf es weiterer Studien, um die Zusammenhänge zweifelsfrei deuten zu können.²⁵

1.4. Ernährung und Einfluss auf das Mikrobiom

Die Nahrung, die wir zu uns nehmen, stellt nicht nur Nährstoffe für unsere menschlichen Zellen dar, sondern ebenso für unser Mikrobiom. Die Nahrungsbestandteile, die das Mikrobiom erreichen, werden auf verschiedene Arten weiter verstoffwechselt. Was wir essen, beeinflusst die Zusammensetzung und die Funktion des Mikrobioms, was wiederum zu unterschiedlichen Interaktionen mit der Darmmukosa und dem Immunsystem führt.²⁷

Die derzeitige Evidenz legt nahe, dass, neben anderen Faktoren, wie Genetik, Alter, Geschlecht oder Umweltfaktoren, die Ernährung die wohl wichtigste Rolle spielt, aus welchen Mikroorganismen die Darmmikrobiota zusammengesetzt ist und welche Funktion diese ausüben.^{28,29}

Je nachdem welche Nahrung aufgenommen wird, werden verschiedene Mikroorganismen favorisiert und andere benachteiligt, wodurch die Zusammensetzung des Mikrobioms von Mensch zu Mensch variiert.²⁹

Es wurden viele verschiedene Diätformen und deren Einfluss auf die Zusammensetzung des Mikrobioms getestet. Dabei zeigten sich unterschiedliche interessante Ergebnisse:

Eine Arbeit von Campaniello et al. (2022) beschreibt wie das Mikrobiom von US-Amerikanern mit dem von Afrikanern und Südamerikanern verglichen wurde. Die beiden letztgenannten konsumieren sehr viele Polysaccharide aus pflanzlicher Nahrung, ernähren sich also ballaststoffreich, während sich US-Amerikaner überwiegend ballaststoffarm ernähren: das Darmmikrobiom der US-Amerikaner war im Vergleich sehr viel weniger vielfältig.²⁹

Die in Industrienationen gängige Ernährungsweise, genannt Western Diet, ist gekennzeichnet durch einen hohen Konsum von rotem Fleisch, gesättigten Fettsäuren und Zucker aus industriell verarbeiteten Lebensmitteln, bei gleichzeitigem niedrigem Konsum von Ballaststoffen. Durch diese Kombination kommt es, neben vielen anderen

gesundheitsschädigenden Konsequenzen, auch zur Reduktion von antiinflammatorisch wirksamen Mikrobiota (wie *Roseburia* spp., *Eubacterium* spp.), sowie zur verminderten Produktion von vorteilhaften Metaboliten.²⁹

Anders ist es bei der sogenannten mediterranen Ernährung; diese basiert in erster Linie auf dem Konsum von nicht-verarbeitetem Getreide, Gemüse, Salat, Früchten und Nüssen. Eier, Milch und Milchprodukte, weißes Fleisch und Fischgerichte werden ein paar Mal die Woche, rotes Fleisch und Alkohol nur ein paar Mal im Monat konsumiert. Folgt man dieser Ernährungsweise so scheint sich das Mikrobiom zugunsten der Gesundheit des Trägers zu entwickeln. In einer Studie von Haro et al. (2016) erhöhte sich nach einem Jahr mediterraner Ernährung die Anzahl verschiedener Mikroorganismen, welche als protektiv für Diabetes mellitus Typ 2 gelten. Einzelne Mikroorganismen wirken vermutlich antiinflammatorisch (*F. prausnitzii*) und bewirken eine erhöhte Insulinsensitivität (*Roseburia*), wohingegen eine Ernährung mit wenig Fetten und vielen Oligosacchariden (=low-fat, high-complex carbohydrate diet, LFHCC) diesen Effekt nicht erreichen konnte.³⁰

Vegane Ernährung, also der ausschließliche Konsum von Produkten pflanzlichen Ursprungs, zeichnet sich durch eine sehr ballaststoffreiche Ernährung aus. Ballaststoffe dienen als Substrate für Darmbakterien und haben dadurch einen positiven Effekt auf die menschliche Gesundheit, sei es durch die Aufnahme von Wasser und Natrium, die Wirkung gegen pathogene Keime oder die Senkung von Plasma-Cholesterin.²⁹

Durch die in den Studien erforschten Vergleiche verschiedener Ernährungsweisen, Diätmuster und Kostformen wurde gezeigt, dass die Art der Nahrungsmittel und die Zusammensetzung der gewohnheitsmäßigen Nahrungsauswahl einen sehr großen Einfluss auf das Mikrobiom und in weiterer Folge auf die Gesundheit des Menschen haben. Aber auch was wir im Einzelnen auf der Nährstoffebene zu uns nehmen, verändert das Mikrobiom.

Verschiedene Studien konzentrierten sich auf die Makronährstoffe der Ernährung. Es zeigte sich: Kohlenhydrate stellen in der Modellierung des Mikrobioms den wichtigsten Faktor dar. Dabei führen offenbar einfache Kohlenhydrate, wie Saccharose und Fructose, zu einer Deregulation des Mikrobioms, während sich komplexere Verbindungen, wie Oligosaccharide, die man insbesondere in Früchten, Gemüse und Vollkornprodukten findet, als förderlich erwiesen.²⁸

Weiterhin zeigte ein Großteil vorangegangener Studien, dass sich eine Ernährungsweise mit hoher Proteinaufnahme (das heißt 1,5-2,2 g/kg/Tag)³¹ als vorteilhaft darstellt, es jedoch einen Unterschied macht, ob das Protein aus pflanzlicher oder tierischer Quelle stammt. Je nachdem aus welcher Quelle man sich überwiegend ernährt, bestimmt, welche Bakterienstämme favorisiert werden. Dabei lässt eine Ernährung mit Tierprotein die Zahl der eher ungünstigen Bakterien überwiegen und die Zahl der günstigen sinken, beispielsweise die Zahl der Bakterien *Roseburia* und *Eubacterium rectale*.²⁸

Bezüglich Fetten muss man unter anderem erwähnen, dass gesättigte Fettsäuren (die v.a. in tierischen Produkten vorkommen) den Artenreichtum und die Vielfalt des Mikrobioms negativ beeinflussen, während mehrfach ungesättigte Fettsäuren (die man v.a. in pflanzlichen Produkten findet), dies nicht tun.²⁸

Zusammenfassend lässt sich wohl sagen, dass eine ballaststoffreiche Ernährung, bestehend aus einem hohen Anteil an Obst und Gemüse, mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren (aus hochwertigen pflanzlichen Ölen, Nüssen, Samen und Fisch) und Protein, das überwiegend aus pflanzlichen Quellen stammt, die beste Ernährungsweise darstellt, um eine günstige Zusammensetzung des Darmmikrobioms zu fördern.²⁸

Da Ernährungsweisen die menschliche Mikrobiota und damit die Archaea beeinflussen, wird auch die Methanproduktion beeinflusst. Bei der Entstehung des Methans spielen außerdem auch Cobamid Kofaktoren, also Vitamin B₁₂ Analoga, eine Schlüsselrolle.³²

Kumpitsch et al. (2021) konnten zeigen, dass eine geringere Einnahme von Vitamin B₁₂ zu optimalen Bedingungen für die Mikrobiota führt, um Ballaststoffe aufzuspalten. Weiterhin erkannte man, dass erhöhte Methanwerte mit einem komplexeren Darmmikrobiom korrelieren.²⁵

Es wurde auch festgestellt, dass Menschen, abhängig von der Zusammensetzung ihres Mikrobioms, eher viel Methan oder eher wenig Methan produzieren, was wiederum davon abhängig ist, ob Menschen einen hohen oder einen geringeren Anteil an methanproduzierenden Archaeen haben. Die zugrundeliegende Ursache, warum manche Menschen scheinbar mehr dieser Archaeen haben, ist aktuell noch unklar.²⁵ Die Methanproduktion des Menschen ist im globalen Vergleich recht unterschiedlich. In westlichen Ländern sind ungefähr 40% der erwachsenen Bevölkerung Methanproduzenten mit einem Wert von >1ppm, in afrikanischen Ländern sind es rund 80% und in ostasiatischen Ländern zwischen 8-14%.¹⁶

Das Methan wird vom Menschen selbst nicht verwendet, aber es hat einen Einfluss auf bestimmte Krankheiten²⁵ und es bedarf daher eines genaueren Blicks auf das Thema.

1.5. Relevanz für die gastrointestinale Gesundheit

„Alle Krankheiten beginnen im Darm.“, soll schon Hippokrates 400 v. Chr. gesagt haben.¹

In Anbetracht, dessen, bei wie vielen Prozessen und bei vielen Abläufen eines gesunden Menschen das Mikrobiom involviert ist, scheint dieser Ausspruch seine Richtigkeit zu haben. Mittlerweile werden sehr viele intestinale und systemische Krankheiten mit einem veränderten Darmmikrobiom in Verbindung gebracht werden.¹

Der russische Forscher Metchnikoff erklärte bereits im 19. Jahrhundert, dass die meisten Krankheiten im Verdauungstrakt ihren Anfang nehmen, wenn die „guten Bakterien“ nicht länger die „bösen Bakterien“ kontrollieren können. Er nannte das Dysbiosis und meinte damit einen Zustand, in dem die Mikroorganismen der Mikrobiota nicht länger in wechselseitiger Harmonie leben.³³

Metchnikoff war der erste Wissenschaftler, der den Gedanken hatte, man könne das Mikrobiom des Darms verändern, indem man die „schlechten Bakterien“ durch die „guten Bakterien“ ersetzt und dadurch das Leben des Menschen verlängern.³⁴ Diese Hypothese entnahm er seiner Beobachtung, dass bulgarische Bauern, die ein Leben in harter Umgebung und Armut führten, ein viel längeres Leben hatten, als andere, reichere Europäer. Er führte das längere Leben auf ihren Konsum von fermentierten Milchprodukten zurück, mit denen man seinen Darm mit gesundmachenden Bakterien besiedeln könne.³⁴ Metchnikoff gewann später einen Nobelpreis für seine Arbeit über Immunität.³⁴

Die Veränderung der Zusammensetzung oder eine Reduktion der Diversität des Mikrobioms wird heute immer noch Dysbiosis genannt.²⁷ Wissenschaftler gehen davon aus, dass eine Vielzahl von Krankheiten darauf zurück geht oder aber damit assoziiert ist.

Die Dysbiosis steht unter anderem in Zusammenhang mit Diabetes mellitus, Adipositas und gastrointestinalen Erkrankungen.²⁷

In Anbetracht der dadurch gestörten physiologischen Prozesse und des Krankheitspotentials, ist es sinnvoll diesen Zustand zu vermeiden und stattdessen einen

ausgeglichene und gesunde Status des Darmmikrobioms zu erhalten oder zu erreichen, einen sogenannten eubiotischen Status.³³

Das Darmmikrobiom und damit der eubiotische Status werden von vielen Faktoren beeinflusst wie der Geographie, dem Lebenswandel eines Menschen, physischer und mentaler Stress, die Art der Ernährung, die Einnahme von Medikamenten aber auch die Art der Entbindung (natürlich oder Kaiserschnitt) und die Ernährung im Säuglingsalter (Muttermilch oder Säuglingsnahrung).³⁴

Die Zusammensetzung der Mikrobiota, welche auch mit der mathematischen Theorie des Nash-Gleichgewichts versucht wurde zu erklären,³³ ist unter anderem von der Genetik, der Umwelt und der Ernährung abhängig und der eubiotische Status vom Lebenswandel, von Therapien mit Antibiotika und von Pathogenen.³³

Vor allem die Therapie mit Antibiotika kann das Mikrobiom des Darms, das einem Ökosystem gleicht, durcheinanderbringen.³³

Es wurde hier bereits festgestellt, dass das Mikrobiom mit seinen Archaea im Darm durch menschliches Zutun verändert werden kann, und es verstärkte sich der Verdacht, dass genau diese Veränderung pathologische Folgen nach sich ziehen kann.

Nach derzeitigem wissenschaftlichem Konsens gelten Archaea nicht als Pathogene,^{15,25,35} da sie keine klassischen Virulenzfaktoren besitzen. Allerdings werden ihnen als Methanproduzenten negative Eigenschaften auf die gastrointestinale Gesundheit zugeschrieben. Die Entstehung des Methans (und auch des Wasserstoffs) rührt allein von der anaeroben Fermentation von Kohlenhydraten durch Archaea im Darm her.³⁶

Erhöhte Methanwerte, gemessen mit Atemtests, werden mit verschiedenen Krankheiten in Verbindung gebracht, unter anderem mit Adipositas, Divertikulose, chron. entzündlichen Darmerkrankungen und dem kolorektalem Karzinom.^{25,37}

Man fand in Studien zwar, dass Patient*innen mit Darmerkrankungen, im Vergleich zu Gesunden, vermehrt Archaea aufweisen, jedoch gibt es aktuell noch keine Evidenz dafür, dass Archaea selbst als krankheitsfördernd wirken und sie gelten daher als nicht-pathogen.^{15,37}

Es ist noch nicht vollends klar, wie sich das Methan auf die menschlichen Zellen auswirkt, aber Methan wird unter anderem mit einer verlangsamten Darmmotilität assoziiert. Der zugrunde liegende Mechanismus ist noch nicht vollständig geklärt, könnte jedoch mit einer Beeinflussung der cholinergen Signalwege im enterischen Nervensystem zusammenhängen.²⁵

Das Methan kann durch Atemtests wie folgt gemessen werden: die Mikroorganismen im Darm zersetzen Kohlenhydrate, es entstehen Gase, die Gase diffundieren in die abdominellen venösen Gefäße, werden zur Lunge transportiert und können in der Ausatemluft erfasst werden.³⁸ Hier kann die Höhe des gemessenen Methans eine Aussagekraft für bestimmte Krankheiten darstellen und dadurch als Indikator dienen. Studien haben eine Assoziation zwischen einem hohen Methanausstoß und einer verlangsamten Darmmotilität sowie Obstipation festgestellt.³⁸ Die Zusammensetzung der Gase in der Ausatemluft scheint generell eine wertvolle Aussagekraft zu haben und kann als potentieller Indikator dienen, jedoch mangelt es noch an einer Standardisierung der Indikationen und der Interpretation der Ergebnisse.³⁸

Letzten Endes ist auch die Entstehung des Methans im Darm von vielen einzelnen Faktoren, wie der Genetik, des Alters, des Geschlechts oder Ernährung, abhängig. Einige Studien kommen zu dem Schluss, dass ein diversifiziertes und strukturiertes, sowie intaktes Darmmikrobiom essentiell für das Bewahren der Gesundheit ist.^{29,33}

1.6. Forschungsfragen und Hypothesen

Es gibt, wie in der Einleitung aufgezeigt, noch viele unbeantworteten Fragen im Bereich der Erforschung des Mikrobioms, der Ernährung und des Methanhaushalts. Um diese noch ungeklärten Verhältnisse in der Wissenschaft zu klären, sollen im Rahmen dieser Arbeit versucht werden, manche Lücken zu schließen oder auch zu neuen Denkansätzen anregen. Im Vorfeld stellten sich verschiedene Fragen, die im Weiteren versucht werden zu beantworten. Da noch nicht gänzlich bekannt ist, wie sich die Ernährung auf die Archaeen und in weiterer Folge auf die Methanproduktion auswirkt, wurde sich in einem ersten Teil auf die Ernährung fokussiert. Dafür wurden Ernährungsdaten gesammelt, die Studienteilnehmer*innen in Gruppen eingeteilt und verschiedenen Gruppen miteinander verglichen, um etwaige Unterschiede festzustellen.

In einem zweiten Teil standen die Archaeen im Fokus der Forschung. Es sollte ergründet werden, welche Erkenntnisse sich bei unterschiedlicher Betrachtung ziehen lassen. Hier wurden Daten über das Mikrobiom gesammelt, die Studienteilnehmer*innen in Gruppen eingeteilt und verglichen.

Unter vielen Aspekten, unter denen man den Menschen bezüglich der Ernährung und dem Mikrobiom betrachten kann, wurde in dieser Studie der Fokus auf Gesundheit bzw. Krankheit und Methanemission gelegt.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit sollte daher festgestellt werden, ob es Unterschiede der Ernährung und der Archaeen zwischen gesunden und kranken Menschen und zwischen Menschen mit hohem und niedrigem Methanausstoß beobachtet werden können.

Die Forschungsfragen dieser Diplomarbeit unterteilen sich in zwei Teile:

Erstens, **wie sich die Ernährung auf die Methanproduktion des Menschen auswirkt**, im Einzelnen, ob sich die Ernährung zwischen Personen mit viel beziehungsweise wenig Methanausstoß unterscheidet, ob sich die Ernährung zwischen gesunden und kranken Personen unterscheidet und ob sich Unterschiede zwischen Personen mit Gesundheit/Krankheit in Kombination mit viel/wenig Methanausstoß zeigen. Die letzte Forschungsfrage zu diesem Thema ist, ob es Unterschiede des Methanausstoßes gibt, wenn sich Menschen vegetarisch ernähren.

Und zweitens, **wie sich das Vorkommen ausgewählter Vertreter der Archaeen auf die Methanproduktion des Menschen auswirkt**. Im Einzelnen, ob es Unterschiede der Archaeen zwischen Personen mit viel/wenig Methanausstoß gibt, ob es Unterschiede der Archaeen zwischen gesunden/kranken Personen gibt und zuletzt, ob es Unterschiede gibt, wenn man die beiden Bereiche kombiniert betrachtet.

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Es handelt sich bei dieser Diplomarbeit um eine retrospektive Datenanalyse.

Die Daten der Ernährung, der Methanwerte und des Mikrobioms der Studienteilnehmer*innen wurden im Rahmen der Studie „Targeted isolation of *Methanobrevibacter* strains from fecal samples expands the cultivated human archaeome“ von Duller et al. (2024) an der Medizinischen Universität Graz erhoben.³⁹

Der Verfasser der Diplomarbeit orientierte sich hier an diesen Daten, er stellte die genannten Forschungsfragen, führte die Daten zusammen, fertigte die statistische Auswertung an und arbeitete die Ergebnisse aus.

2.2. Rekrutierung der Studienteilnehmer*innen

100 Personen wurden an der Universität Graz für die Studie rekrutiert. Von 84 Personen wurden Daten über ihre Ess- und Ernährungsgewohnheiten und von 66 Personen wurden Daten über deren Mikrobiom der Archaeen erfasst. In dieser Diplomarbeit wird also eine Gesamtzahl von n=66 Studienteilnehmer*innen beurteilt.

Die Rekrutierung für diese Arbeit erfolgte im Rahmen der Studie von Duller et al., in welcher allerdings weniger Studienteilnehmer*innen enthalten sind, da dort eine Subanalyse durchgeführt wurde.³⁹

Unter den Studienteilnehmer*innen gab es sowohl gesunde als auch solche, die verschiedene gastrointestinale Erkrankungen aufwiesen. Sie wurden auf Basis ihrer CH₄-Atemwerte rekrutiert. Dabei galt ein CH₄-Wert von >5ppm als hoher Methanwert und der/die Studienteilnehmer*in galt als *High Emitter* (siehe „2.4. Daten, Datenerhebung und Hintergründe“). Die Rekrutierung wurde von Ärzt*innen des LKH-Universitätsklinikums Graz, Österreich sowie von einem unabhängigen Arzt, der sich ebenfalls in Graz, Österreich befindet, unterstützt. Die Studienteilnehmer*innen wurden gebeten, einen Atemtest durchzuführen, eine Stuhlprobe abzugeben und Fragebögen über ihren Gesundheitszustand und über ihre Ernährung auszufüllen und abzugeben.

2.3. Ein- und Ausschlusskriterien

Es wurden Personen im Alter von 18-37 Jahre in die Studie aufgenommen.

Proband*innen wurden in die Studie eingeschlossen, wenn folgende Einschlusskriterien zutrafen: Erkrankte Teilnehmer*innen wurden inkludiert, wenn sie eine unterzeichnete Einverständniserklärung vorwiesen und eine diagnostizierte gastrointestinale Erkrankung hatten. Gesunde Teilnehmer*innen wurden inkludiert, wenn sie eine unterzeichnete Einverständniserklärung vorwiesen, keine gastrointestinale Infektion in den letzten 3 Monaten, sowie keine gastrointestinale Resektion (außer einer Appendektomie) hatten.

Personen, deren Methangehalt über 5 ppm im Atemtest lag wurden inkludiert; diese werden hier als High Emitter bezeichnet.

Ausschlusskriterien dagegen waren die folgenden: Es wurden keine Teilnehmer inkludiert, die einen BMI von über 30 hatten, die jünger als 18 Jahren waren, die eine Koloskopie in den letzten 3 Monaten hatten, die Antibiotika oder Probiotika im letzten Monat einnahmen, die eine Auslandsreise außerhalb Europas im letzten Monat unternahmen, sowie die, die eine Langzeit-Medikation einnahmen.

Tabelle 1: Ein-/Ausschlusskriterien

	<i>Einschlusskriterien</i>	<i>Ausschlusskriterien</i>
<i>Erkrankte Teilnehmer</i>	- mit unterzeichneter Einverständniserklärung	- Teilnehmer mit einem BMI >30
	- mit diagnostizierter gastrointestinaler Erkrankung	- jünger als 18 Jahre
<i>Gesunde Teilnehmer</i>	- mit unterzeichneter Einverständniserklärung	- Koloskopie in den letzten 3 Monaten
	- keine gastrointestinale Infektion in den letzten 3 Monaten	- Antibiotika/Probiotika im letzten Monat
	- keine gastrointestinale Resektion	- Auslandsreise außerhalb Europas im letzten Monat
<i>High Emitter</i>	- Methangehalt in Atemprobe liegt über 5 ppm	- Einnahme von Langzeit-Medikation

2.4. Daten, Datenerhebung und Hintergründe

Messung der Methanwerte

Die Messung der Methanwerte erfolgte über die Ausatemluft und wird im Folgenden beschrieben. Die Studienteilnehmer*innen wurden gebeten, morgens vor dem Zähneputzen und Frühstück, die Proben abzugeben. Sie erhielten einen Atembeutel, den sie mit nach Hause nehmen konnten und die Probenabgabe erfolgte durch die Studienteilnehmer*innen selbst. Dabei sollten sie tief durch die Nase einatmen, 15 Sekunden lang die Luft anhalten und vollständig in den Atembeutel ausatmen. Die ausgeatmete Luft wurde vom Gerät „GastroCH4ECK Gastrolyzer“ der Firma *Bedfont Scientific Ltd.* (UK) analysiert und das darin befindliche Methan gemessen. Die Proben der Ausatemluft und die Stuhlproben wurden am selben Tag erfasst.²⁵ Als Personen mit hohen Methanwerten, kurz **High Emitter**, bezeichneten wir Personen mit einem Methanwert von >5 ppm (>0,0005%) in der Ausatemluft. Personen, deren Methanwerte <5 ppm lagen, bezeichneten wir dementsprechend als **Low Emitter**. Dabei orientierten wir uns an einer Studie, die mit einem großen nordamerikanischen Datensatz für Methanmessungen arbeitete und diesen Cut-Off-Wert als sehr exakt definierte.⁴⁰

Erhebung der Lebensmittel- und Ernährungsdaten

Zur Erhebung der Ernährungsdaten wurden standardisierte Fragebögen eingesetzt, die Rückschlüsse auf die übliche Nahrungsmittelaufnahme und Essgewohnheiten der letzten 4 Wochen vor der Untersuchung ermöglichten. Die Studienteilnehmer*innen füllten Fragebögen aus, die ihre Nahrungsmittelaufnahme und ihre Essgewohnheiten der letzten 4 Wochen vor der Untersuchung abfragte. Für die Daten dieser Diplomarbeit kam der vom Robert-Koch-Institut entwickelte DEGS1-Ernährungsfragebogen, ein semi-quantitativer German Food Frequency Questionnaire (FFQ) zum Einsatz. Dieser Fragebogen dient der Erfragung der verzehrten Lebensmittel in einem bestimmten Zeitraum. Er ist ein Instrument zur retrospektiven Erfassung häufig konsumierter Lebensmittel über einen definierten Zeitraum. Der DEGS1-FFQ wurde zuvor in einer Studie von Haftenberger et al. (2010) relativ validiert und zeigte eine akzeptable Übereinstimmung mit wiederholten 24-Stunden-recalls hinsichtlich der Rangordnung des Lebensmittelverzehr in der deutschen Erwachsenenbevölkerung. Laut der genannten Studie sind 24-Stunden-Erhebungen nicht generell genauer als der FFQ, beziehungsweise man könnte auch sagen, dass der FFQ die

Mengen der konsumierten Lebensmittel nicht über- oder unterschätzt und vergleichbare Ergebnisse liefert wie eine 24-Stunden-Erhebung.⁴¹

Die erhobenen Daten wurden in das Softwareprogramm „nut.s nutritional-software“ eingegeben. Für die Datenanalyse wurde die Version nut.s science (v1.33.20, *dato Denkwerkzeuge*) verwendet. Dieses Programm erfasst die angegebenen Ernährungsdaten und rechnet sie einzelnen Nährstoffkategorien wie Kohlenhydraten, Proteinen, Fetten etc. zu. Es kann die Lebensmittel auch in ihre einzelnen Bestandteile, wie verschiedene Aminosäuren, Zucker, Fettsäuren, Spurenelemente etc. aufschlüsseln und darstellen. Das Programm arbeitet mit Daten von Nährwerten und Nahrungsmitteln, die spezifisch für Österreich sind. Datengrundlage hierfür sind die Nährwerte der Österreichischen Nährwerttabelle (ÖNWT) sowie des Bundeslebensmittelschlüssel BLS-Version 3.02.^{42,43}

Demografische und Anthropometrische Informationen

Die Studienteilnehmer*innen füllten außerdem noch zwei weitere Fragebögen aus. Im ersten wurden „Basisdaten“ erfasst. Zu diesen zählte unter anderem: Größe, Gewicht, Geschlecht, Raucher (ja/nein, wie viel), Art der Geburt (vaginal oder Sectio caesarea), letzte Antibiotika-Einnahme, letzte Auslandsreise, Vegetarier (ja/nein) oder wie häufig in der Woche sie selbst kochten.

Erhebung von gastrointestinalen Symptomen

Der andere Fragebogen erfasste Daten der Darmgesundheit. Dabei standen Fragen über das Irritable Bowel Syndrome (IBS) im Fokus. Es wurde beispielsweise nach Bauchschmerzen (ob, seit wann, Intensität der Bauchschmerzen, abdominales Areal der Bauchschmerzen), nach Bauchblähungen, nach Stuhlfrequenz und Stuhlkonsistenz gefragt. Auch die Lebensqualität und die Fehltage in der Arbeit aufgrund der Bauchschmerzen wurden erfragt.

Das Irritable Bowel Syndrome (IBS), zu Deutsch Reizdarmsyndrom, ist eine Darmerkrankung und äußert sich vor allem durch Bauchschmerzen und durch Veränderung der Stuhlgewohnheiten und der Stuhlkonsistenz. Die Diagnosestellung erfolgt durch Ausschluss anderer Erkrankungen und es werden dafür häufig Fragebögen verwendet.⁴⁴

Um die Daten über die Darmgesundheit auszuwerten verwendeten wir einen IBS-Score. Dabei werteten wir jedes „Ja“ auf eine Frage als einen Punkt. Wenn die Antwort auf eine Frage als numerischer Wert ausgedrückt wurde, stellte dieser jeweils die Punkte dar (z.B.

„Wie stark beeinträchtigt das IBS Ihr tägliches Leben von 0-100?“ – „75“, ergibt 75 Punkte im Score für diese Frage). Wenn jemand in mehreren Baucharealen Schmerzen hatte, summierten wir die Anzahl der Areale als Punkte. Zuletzt summierten wir die Anzahl aller Punkte als Score. Dabei gilt: je höher die Punktzahl, desto stärker sind die Darmbeschwerden, beziehungsweise, desto ausgeprägter ist das IBS.

Wir erhielten bei n=66 Studienteilnehmer*innen Scores zwischen 13 – 295, bei einem Mittelwert von 104.

Zur Berechnung des Scores orientierten wir uns an der Arbeit von Francis et al. (1997). In dieser definieren die Autoren einen Score von 75 – 175 als mildes IBS, von 175 – 300 als mittelschweres IBS und von >300 als schweres IBS.⁴⁵

Analyse der Mikrobiomdaten

Jede/r Studienteilnehmer*in sollte eine Stuhlprobe in einem dafür vorgesehenen Probenbehälter sammeln und diese in das Labor bringen. Die Studienteilnehmer*innen wurden gebeten die Proben 24 Stunden nach dem Sammeln zum Labor zu bringen und sie bis dahin bei 4°C aufzubewahren. Die Proben für die DNA-Extraktion wurden in einen sterilen, DNA-freien Reaktionsbehälter (*Eppendorf*, GER) gegeben und bis zum weiteren Prozess bei -80°C eingefroren.

Die Proben wurden in weiterer Folge einem Profiling-Prozess unterzogen, das bedeutet, sie wurden analysiert und es wurde identifiziert welche Mikroorganismen, in welcher Menge vorkommen und wie die Zusammensetzung der Probe ist. Zunächst wurde die DNA aus den ursprünglichen Stuhlproben unter Verwendung des PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit nach den Herstellerangaben isoliert (*Invitrogen*, *Thermo Fisher*, USA). Die Shotgun-Sequenzierung wurde von der Firma *Macrogen* (KOR) unter Verwendung des Geräts Illumina HiSeq durchgeführt, was im Folgenden erklärt werden soll.

Die Illumina-Sequenzierung, die zu den Next-Generation-Sequencing-Methoden (NGS) gehört, ist ein Verfahren zur Sequenzierung der DNA und damit zur DNA-Bestimmung. Dabei wird zunächst die Reihenfolge der Basen Guanin, Adenin, Thymin und Cytosin in einem DNA-Molekül bestimmt. Diese Reihenfolge, die DNA-Sequenz, enthält die genetischen Informationen eines Organismus und man kann anhand dessen sagen, welche DNA-Sequenzen in einer Probe sind, sprich welche Organismen in dieser Probe vorkommen.

Beim „Sequencing by synthesis“-Ansatz der Illumina/Solexa Technologie werden alle vier Nukleotide gleichzeitig mit DNA-Fragmenten und der DNA-Polymerase auf einen kleinen Glaträger, dem sogenannten Flow Cell, verankert. Dort werden die DNA-Fragmente per Bridge-Amplifikation in Clustern millionenfach vervielfältigt. Die Illumina-Sequenzierung kann sehr viele Daten bei gleichzeitiger hoher Genauigkeit von >99,5% liefern und gehört damit für viele Sequenzierungsprojekte zur Plattform der Wahl.⁴⁶

Unter Zuhilfenahme weiterer Schritte liefert Illumina die Daten der DNA-Sequenzen, sogenannte reads, die in weiterer Folge mit einer Datenbank abgeglichen werden, um sie taxonomisch zuzuordnen. Dies erfolgt zum Beispiel mit Programmen wie Kraken oder Kraken2, wodurch auch Mikroorganismen identifiziert werden können.⁴⁷

Einen Überblick und genauere Erklärungen des Themas findet man in den Arbeiten von Hu et al. (2021), Rizzo und Buck (2012) und Voelkerding et al. (2009).⁴⁸⁻⁵⁰

Eine Qualitätsfilterung der Rohsequenzdaten erfolgte mit ATLAS (Version 2.16.2), wobei auch die menschlichen Sequenzanteile entfernt wurden. ATLAS ist eine Software, die dazu dient, genetischen Informationen zu erfassen, zu quantifizieren und aufzubewahren.⁵¹

Um die Organismen der Taxonomie entsprechend richtig zuzuordnen, die sogenannte taxonomische Annotation, wurde Kraken2 (Version 2.1.2.) mit einem Konfidenzintervall von 0,1 und Bracken (Version 2.7.) mit einer Leselänge von 100 Basenpaaren verwendet. Mithilfe dieser Programme werden die Sequenzdaten zu bestimmten Mikroorganismen zugeordnet.^{52,53} Die Arbeit von Marchesi und Ravel (2015) kann helfen, um Begrifflichkeiten besser zu verstehen.⁵⁴ Um die vollständige taxonomische Einordnung sicherzustellen, beziehungsweise fehlende Ebenen der taxonomischen Hierarchie zu vervollständigen, wurde das Skript „kreport2mpa.py“ verwendet.

Das Skript ist auf der Plattform GitHub öffentlich verfügbar (<https://github.com/jenniferlu717/KrakenTools/blob/master/kreport2mpa.py>).⁵⁵ Nach diesem Schritt erfolgte die Zusammenführung aller Merkmals-Tabellen (feature tables).

Die hier geschilderte Übersicht der Analyse der Mikrobiomdaten orientiert sich vor allem an der Publikation von Duller et al. (2024).³⁹

Hintergründe der Biometrie und Ökologie

Im Ergebnisteil über Archaeen kommen verschiedene Begriffe der Biometrie vor, welche hier kurz erklärt werden sollen.

Richness, Evenness, Shannon-Index und Inverse-Simpson-Index sind Methoden und Indices, um die Biodiversität zu messen. Hier ist die Alpha-Diversität gemeint, also die Vielfalt in einem Lebensraum oder einer Probe.⁵⁶

Richness, zu Deutsch etwa „Artenreichtum“, beschreibt die Anzahl der vorkommenden Arten oder Spezies in einem Ökosystem. Dabei werden vor allem auch seltene Spezies berücksichtigt, da jeder Art die gleiche Bedeutung zukommt.^{57,58}

Evenness, zu Deutsch „Gleichmäßigkeit“ oder Äquität, beschreibt die Ausgewogenheit der Arten und bezieht sich darauf, wie gleich die Individuen in diesen Spezies verteilt sind. Die Evenness ist am höchsten wenn alle Arten eine gleich hohe Anzahl an Individuen haben und sie ist gering wenn nur eine kleine Anzahl an Arten viele Individuen haben und die anderen Arten wenige Individuen (siehe Abbildung 1).⁵⁸⁻⁶⁰

Ein Beispiel: Ein Ökosystem weist eine hohe Richness und eine geringe Evenness auf: das bedeutet viele Spezies kommen vor, von denen aber nur wenige Spezies dominieren. Ist dagegen Richness niedrig und Evenness hoch, so bedeutet das, es gibt wenige Spezies, aber ein gleichmäßiges Vorkommen. Eine Population, die eine hohe Richness und eine hohe Evenness hat, ist vielfältiger, als wenn die beiden niedrig sind.⁵⁸

Der Shannon-Index berücksichtigt sowohl Richness als auch Evenness und ist vor allem sensitiv auf die Richness der Spezies. Der Wert steigt, wenn die Anzahl der Arten steigen oder wenn sich die Verteilung der Individuen in den Arten angleichen. Eine höhere Zahl (je weiter weg von 0) indiziert eine größere Diversität.^{57,58,61,62}

Der Inverse-Simpson-Index bezieht sich ebenfalls auf Richness und Evenness und beschreibt die Vielfalt innerhalb einer gegebenen Population.^{58,63} Der gängige Simpson-Index gibt eine Wahrscheinlichkeit an und liegt immer zwischen 0 und 1, wobei 0 unendliche Vielfalt und 1 keine Vielfalt darstellen. Im Inverse-Simpson-Index dagegen sind höhere Zahlenwerte gleich höhere Vielfalt und er ist dadurch intuitiver, weswegen hier dazu entschieden wurde, diesen Index zu verwenden.⁶³

Pallmann et al. (2012) stellen fest, dass die Betrachtung mehrerer Diversitätsindices eine bessere Einschätzung der Diversität bieten kann, als würde man nur einen betrachten.⁵⁷

In der folgenden Abbildung 1 wird noch einmal der Unterschied zwischen Richness und Evenness hervorgehoben.

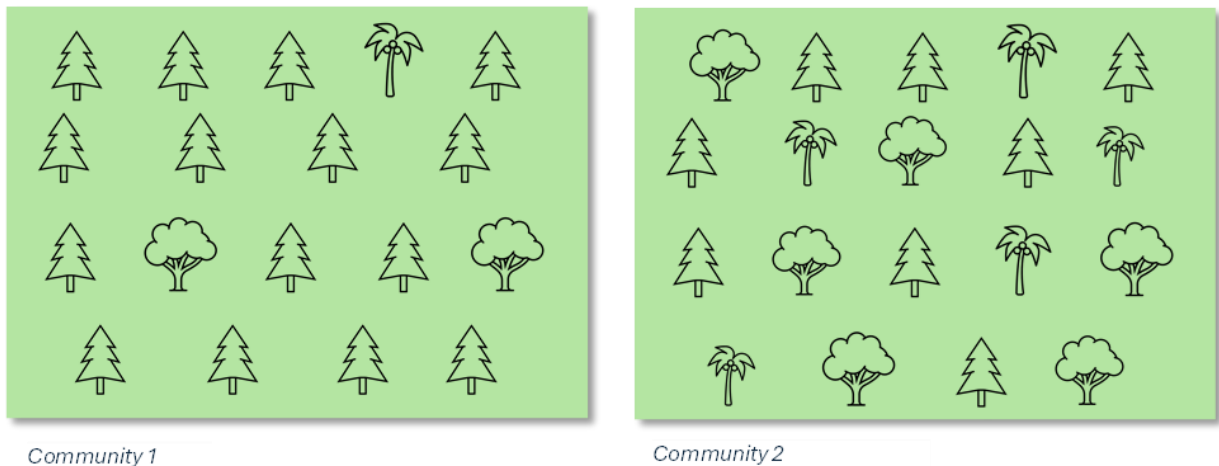


Abbildung 1: Community 1 und Community 2 haben eine gleich große Richness, da in ihnen die gleiche Anzahl an Arten vorkommt ($n=3$). Jedoch hat Community 2 eine größere Evenness, wodurch die Diversität in Community 2 größer ist.

Abbildung 1: Diversität

2.5. Ethik und Datenschutz

Die Studie wurde gemäß der Deklaration von Helsinki und von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz, Österreich evaluiert und freigegeben (EK-Nr.: 31-452 ex 18/19).

Alle Studienteilnehmer*innen unterschrieben eine Einverständniserklärung vor der Teilnahme an der Studie.

Die IDs der Personen wurden anonymisiert und es ist anhand dieser Arbeit nicht nachvollziehbar, von welcher Person die gezeigten Werte sind.

2.6. Statistische Datenerhebung

Für die statistische Datenauswertung wurde IBM SPSS Statistics Version 29 verwendet. Es wurden statistische Tests angestellt, um die Nullhypothese zu überprüfen und die Ergebnisse miteinander zu vergleichen. Dabei handelte es sich wahlweise um den Mann-Whitney-U-Test, den Kruskal-Wallis-Test, den Chi-Quadrat-Test, paarweise Vergleiche oder um die Kreuztabelle (Kontingenztafel).

Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$; das heißt also ein Ergebnis war dann signifikant, wenn ein Wert von $< 0,05$ erreicht wurde. Es handelt sich bei diesen p-Werten, außer bei

den paarweisen Vergleichen, um nicht-korrigierte p-Werte; bei den paarweisen Vergleichen kam die Bonferroni-Korrektur zum Einsatz.

Die graphische Darstellung erfolgt mit Tabellen und Diagrammen (Säulen-Diagramm, Boxplot-Diagramm) und wurde mit Microsoft Excel Version 16 angefertigt.

Wenn keine vollständigen Daten von einer Person vorlagen, wurde sie bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Beispielweise lagen bei einem Teil der Studienteilnehmer*innen keine Daten über deren Mikrobiomauswertung vor; diese Studienteilnehmer*innen (n=18) wurden von der Datenauswertung exkludiert.

3. Ergebnisse / Resultate mit graphischen Darstellungen

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse dieser Arbeit dargestellt. Die Beantwortung der Forschungsfragen sind im Wesentlichen in zwei Bereiche unterteilt.

Zum einen sollte die Frage beantwortet werden, inwieweit sich die Ernährung auf die Methanproduktion beim Menschen auswirkt. Zum anderen sollte ergründet werden, wie sich das intestinale Mikrobiom, im Speziellen, die Archaeen bei der Methanproduktion verhalten, beziehungsweise welche Besonderheiten und Unterschiede sie diesbezüglich aufweisen. Die beiden Bereiche des Ergebnisteils sind jeweils wieder in Unterbereiche oder Teilfragen unterteilt.

Für die Beantwortung des Ergebnisteils wurde folgendes Studienkollektiv erfasst:

Eine Gesamtzahl von 84 Personen wurden als Studienteilnehmer ausgewählt.

Von den 84 Studienteilnehmer*innen schieden 18 aus, da von ihnen keine Daten vorlagen, die das Mikrobiom abbildeten, also blieben 66 Studienteilnehmer*innen übrig. Diese 66 Personen wurden in einem ersten Schritt nach ihrem „Emitter Status“, also ob sie viel oder wenig Methan emittierten (High vs. Low Emitter), eingeteilt. Es ergaben sich 2 Gruppen von je 33 Personen.

In einem weiteren Schritt wurden die 66 Personen nach ihrem „Health Status“ unterteilt, also ob sie angaben, gesund oder krank zu sein. Es ergab sich eine Gruppe der Gesunden (32 Personen) und eine Gruppe der Kranken (34 Personen).

Im letzten Schritt wurden die Gruppen kombiniert und dahingehend eingeteilt, ob sie High und Low Emitter und zusätzlich gesund und krank sind. Es ergaben sich 4 Gruppen. Die ersten beiden Gruppen stellten jeweils 16 Personen dar, die gesund und zugleich Low Emitter waren beziehungsweise die gesund und zugleich High Emittieren waren. Die Gruppen 3 und 4 stellten jeweils 17 Personen dar, die entweder krank und Low Emitter waren oder die krank und High Emittieren waren.

Für die Datenanalyse wurden nur IDs miteinbezogen, für die sowohl Ernährungsdaten als auch Daten über deren Mikrobiom zur Verfügung standen. Alle Studienteilnehmer*innen waren zwischen 18-37 Jahre alt.

Im Folgenden werden die wichtigsten Informationen der Studienteilnehmer*innen aufgeführt.

In Abbildung 2 wird die Auswahl der Personen und die Unterteilung in die verschiedenen Gruppen dargestellt.

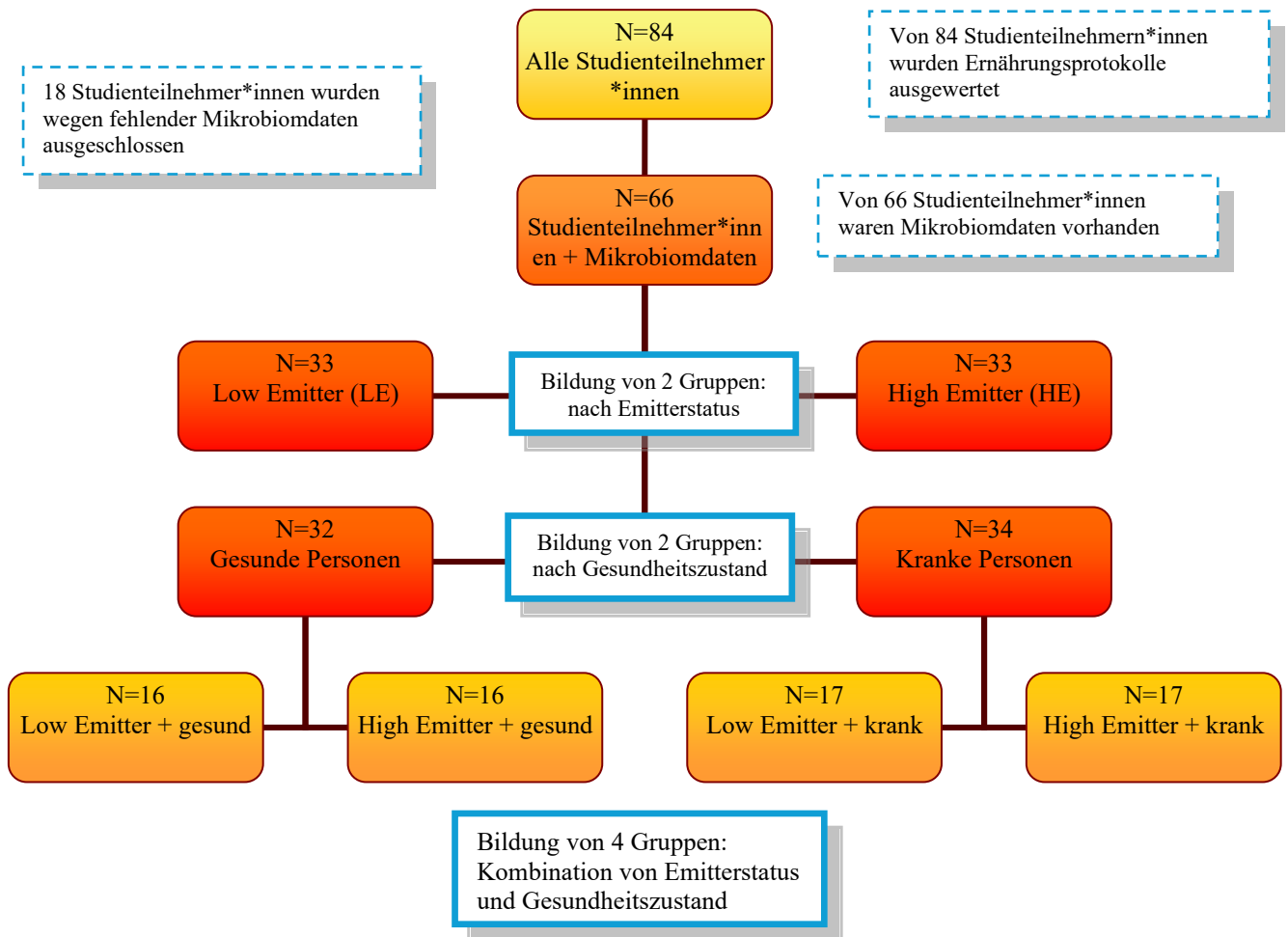


Abbildung 2: Flowchart

Die drei nachfolgenden Tabellen geben Auskunft über die wichtigsten Daten der Studienteilnehmer*innen. Tabelle 2 und Tabelle 3 zeigen dabei die wichtigsten Basisdaten, also Daten, die die Studienteilnehmer*innen grundlegend beschreiben. Tabelle 4 zeigt ausgewählte Nährstoffdaten.

Tabelle 2: Übersicht wichtiger metrischer Basiswerte (n=66)

	<i>Median</i>	<i>Interquartilbereich</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Größe (cm)	172	15	157	190
Gewicht (kg)	66	17	43	104
BMI (kg/m²)	22,1	3,4	16,8	31,1
IBS-Score	84,75	97,1	13	295

Tabelle 3: Übersicht über weitere wichtige Basiswerte (n=66)

		<i>Häufigkeit</i>	<i>%</i>
<i>Geschlecht</i>	Männer	30	45,5
	Frauen	34	51,5
	Keine Angaben	2	3
<i>Emissionsstatus</i>	High Emitter	33	50
	Low Emitter	33	50
<i>Gesundheitsstatus</i>	Gesund	32	48,5
	Krank	34	51,5
<i>Raucher</i>	Raucher	6	9,1
	Nichtraucher	59	89,4
	Keine Angaben	1	1,5
<i>Ernährung</i>	Vegetarier	22	33,3
	Nichtvegetarier	43	65,2
	Keine Angaben	1	1,5

Tabelle 4: Übersicht der wichtigsten Nährstoffinformationen (* = g/1000 kcal)

	<i>Median</i>	<i>Interquartil- bereich</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
<i>Energie (kcal)</i>	1616	964,9	529,8	5019,1
<i>Kohlen- hydrate*</i>	122,51	28,70	65,97	184,30
<i>Zucker*</i>	43,28	136,23	7,75	158,96
<i>Proteine*</i>	36,91	82,10	22,27	72,86
<i>Fett*</i>	35,72	11,08	13,41	56,45
<i>gesättigte Fettsäuren*</i>	13,96	4,81	4,73	24,08
<i>Ballast- stoffe*</i>	12,06	7,70	4,48	20,20

3.1. Ernährung und Methanproduktion

In diesem Unterpunkt wird der Einfluss der Ernährung auf die Methanproduktion dargestellt. Zunächst zur Beantwortung der Fragen, ob sich die Ernährung zwischen High und Low Methan-Emittern unterscheidet, danach ob sie sich zwischen gesunden und kranken Personen unterscheidet und ob es hinsichtlich ihres Emitterstatus und ihres Gesundheitszustands in Kombination Unterschiede gibt. Als letzte Teilfrage soll überlegt werden, ob vegetarisch lebende Menschen eher High Emitter von Methan sind als omnivor lebende Menschen.

3.1.1. Unterscheidet sich die Ernährung zwischen High und Low Emittern?

Zur Beantwortung der Frage, inwieweit die Ernährung die Methanproduktion beeinflusst, musste zunächst herausgefunden werden, ob sich die Ernährung (energieadjustierte Nährstoffaufnahme) zwischen High und Low Emittern unterscheidet. Dafür wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt und es wurde festgestellt, dass sich die energieadjustierte Nährstoffaufnahme zwischen den beiden Gruppen High und Low Emitter signifikant unterscheidet. Ein deutlicher Unterschied ergab sich insbesondere in den Nährstoffgruppen der Polysaccharide (Mehrfachzucker), Glykogen (die Speicherform von Kohlenhydraten im menschlichen und tierischen Körper) und Stärke (die Speicherform von Kohlenhydraten in Pflanzen). Es gab außerdem Unterschiede im Konsum von den Vitaminen B₃ (Niacin, Nicotinsäure), B₅ (Pantothensäure) und B₇ (Biotin).

Die High Emitter konsumierten dabei signifikant mehr Vitamin B₃, Vitamin B₅ und Vitamin B₇ und signifikant weniger Polysaccharide, Glykogen und Stärke. Umgekehrt konsumierten die Low Emitter signifikant mehr Polysaccharide, Glykogen und Stärke und signifikant weniger Vitamin B₃, B₅ und B₇.

Tabelle 5 gibt einen Überblick der Unterschiede des Nährstoffkonsums bei Low und High Emittern.

Die darauffolgenden Abbildungen 3, 4, 5 und 6 veranschaulichen diese Unterschiede anhand von Boxplot-Diagrammen.

Tabelle 5: Vergleich des Medians und Interquartilbereichs (IQR) signifikant unterschiedlicher Nährstoffe bei Personen die wenig bzw. viel Methan emittieren

	Low Emitter		High Emitter		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Polysaccharide [mg]	77678,3	30206,3	69690,5	35201,0	0,046
Glykogen [mg]	26,9	42,2	21,4	19,4	0,028
Stärke [mg]	77647,5	30164,5	69661,5	35185,7	0,048
Vitamin B3 [µg]	5589,5	2200,7	6993,1	3490,8	0,033
Vitamin B5 [µg]	1942,1	648,3	2073,6	541,5	0,028
Vitamin B7 [µg]	19,7	8,4	24,3	12,2	0,034

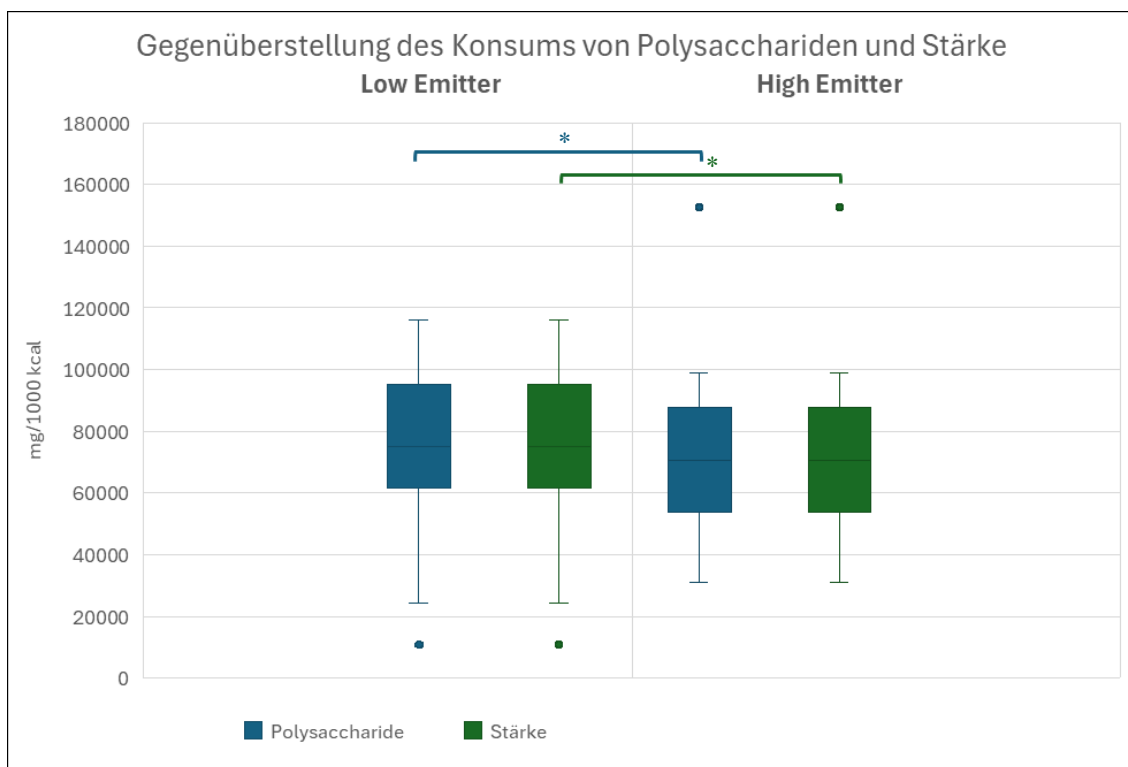


Abbildung 3: Das Boxplot-Diagramm veranschaulicht, dass die Low Emitter signifikant mehr Polysaccharide und Stärke aufgenommen haben.

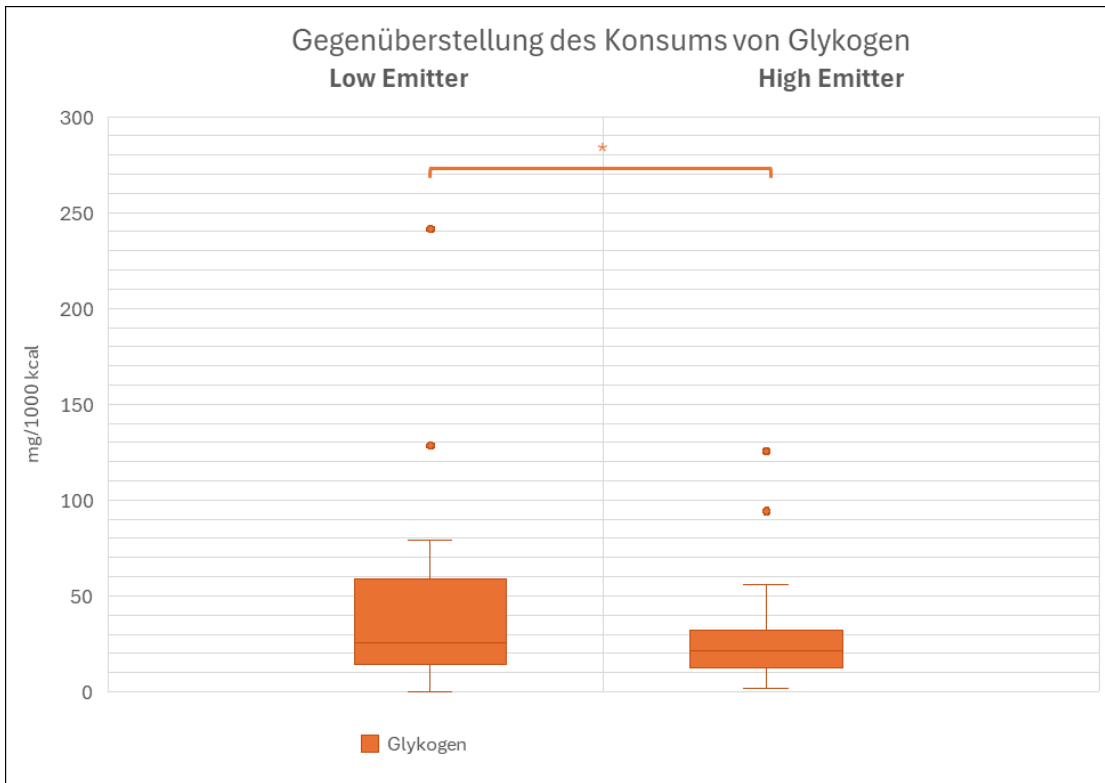


Abbildung 4: Das Boxplot-Diagramm veranschaulicht, dass die Low Emitter signifikant mehr Glykogen aufgenommen haben.

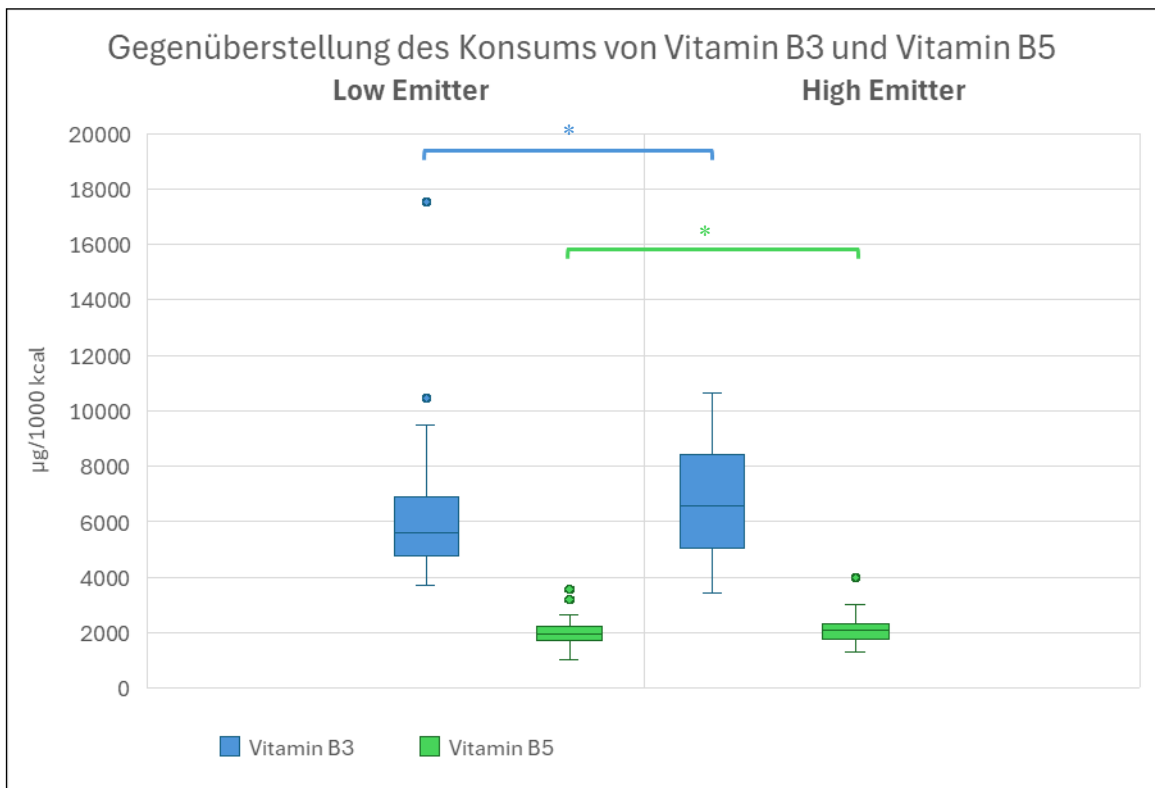


Abbildung 5: Das Boxplot-Diagramm veranschaulicht, dass die Low Emitter signifikant weniger von den Vitaminen B3 und B5 aufgenommen haben.

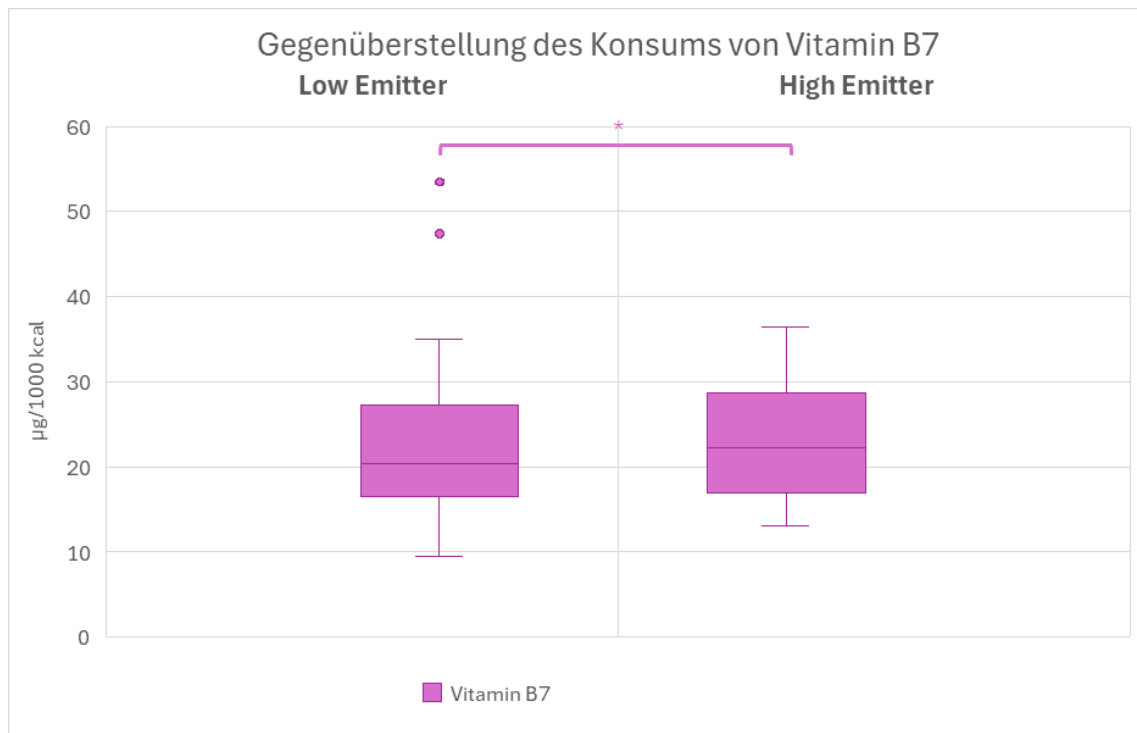


Abbildung 6: Das Boxplot-Diagramm veranschaulicht, dass die Low Emitter signifikant weniger Vitamin B7 aufgenommen haben.

3.1.2. Unterscheidet sich die Ernährung zwischen gesunden und kranken Personen?

Weiterhin musste geprüft werden, ob sich die Ernährung bei den beiden Gruppen „Gesund“ und „Krank“ voneinander unterschied. Auch hier wurde ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, der ebenfalls Unterschiede zeigte. Die energieadjustierte Nährstoffaufnahme zwischen den gesunden und kranken Teilnehmern der Studie unterschied sich signifikant, vor allem hinsichtlich verschiedener Aminosäuren und verschiedener Fettsäuren, sowie hinsichtlich dem Vitamin B₃.

Die kranken Personen hatten eine signifikant höhere Aufnahme von den Aminosäuren Alanin, Cystin und Glycin, eine höhere Aufnahme von den mehrfach ungesättigten Fettsäuren Eicosatriensäure und DPA (Docosapentaensäure) und eine höhere Aufnahme von Vitamin B₃. Gesunde Personen hatten dagegen eine höhere Aufnahme von Caprinsäure (mittelkettige gesättigte Fettsäure) und von Glykogen.

Tabelle 6: Vergleich des Medians und Interquartilbereichs (IQR) signifikant unterschiedlicher Nährstoffe bei gesunden und kranken Personen

	Healthy		Sick		p-Wert
	<i>Median</i>	<i>IQR</i>	<i>Median</i>	<i>IQR</i>	
Alanin [mg]	1447,5	562,9	1718,8	594,9	0,026
Cystin [mg]	488,9	85,5	559,4	151,7	0,043
Glycin [mg]	1222,9	476,5	1568,5	514,5	0,020
Caprinsäure [mg]	451,0	196,4	394,3	161,8	0,043
Eicosatriensäure [mg]	4,8	4,4	6,5	10,2	0,018
DPA [mg]	12,2	15,5	20,5	14,9	0,012
Glykogen [mg]	26,7	33,3	19,2	22,7	0,012
Vitamin B₃ [µg]	12150,5	3936,8	14065,2	4080,8	0,030

3.1.3. Unterscheidet sich die Ernährung zwischen gesunden und kranken Personen hinsichtlich des Emitterstatus?

Weiterhin sollte festgestellt werden, ob es Unterschiede der Ernährung zwischen Personen, die gesund oder krank sind und gleichzeitig einen hohen oder niedrigen Methanausstoß haben. Dafür wurde ein Kruskal-Wallis-Test und paarweise Vergleiche durchgeführt. Es wurde also nun nicht mehr zwischen zwei verschiedenen Gruppen, sondern zwischen vier verschiedenen Gruppen ein Vergleich angestellt. Es stellte sich heraus, dass es auch hier Unterschiede gibt. Es zeigten sich signifikante Unterschiede bei den Nährstoffgruppen **Glykogen**, **Niacin** sowie **Eicosatriensäure** und **Docosapentaensäure**. Die energieadjustierte Nährstoffaufnahme unterscheidet sich demnach signifikant zwischen gesunden und kranken Personen in Abhängigkeit vom Emitterstatus.

Man muss an dieser Stelle beachten, dass standardmäßig Vergleiche zwischen allen Gruppen angestellt wurden, welche jedoch für die hier erörterte Fragestellung teilweise keine weitere Relevanz hat. Demnach wurden nur Vergleiche nach Emitter- und Gesundheitsstatus berücksichtigt. Weitere Vergleiche wurden wegen Irrelevanz für die Fragestellung nicht berücksichtigt; diese sind in den folgenden Tabellen grau unterlegt.

Bei genauer Betrachtung des **Glykogens** wurde deutlich, dass gesunde High Emitter (gHE) eine signifikant höhere Aufnahme von Glykogen hatten als kranke High Emitter (kHE) ($p = 0,048$). In der folgenden Tabelle 7 sind die paarweisen Vergleiche aufgeführt. Dabei steht *kLE* für kranke Low Emitter, *gLE* für gesunde Low Emitter, *kHE* für kranke High Emitter und *gHE* für gesunde High Emitter. Von Bedeutung sind nur Vergleiche, die in schwarz gehalten sind.

Tabelle 7: Paarweise Vergleiche der 4 Gruppen hinsichtlich des Glykogens
(orange = signifikante Werte, grau = der Vergleich dieser Gruppen wird nicht beachtet).

Sample 1 – Sample 2	Teststatistik	Standard-Fehler	Standardteststatistik	Signifikanz	Angepasste Signifikanz*
kHE – kLE	16,059	6,584	2,439	0,015	0,088
kHE – gHE	-17,732	6,686	-2,652	0,008	0,048
kHE – gLE	22,107	6,686	3,306	0,001	0,006
kLE – gHE	-1,673	6,686	-0,250	0,802	1,000
kLE – gLE	-6,048	6,686	-0,904	0,366	1,000
gHE – gLE	4,375	6,787	0,645	0,519	1,000

Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Sample 1 und 2 gleich sind.
*. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.

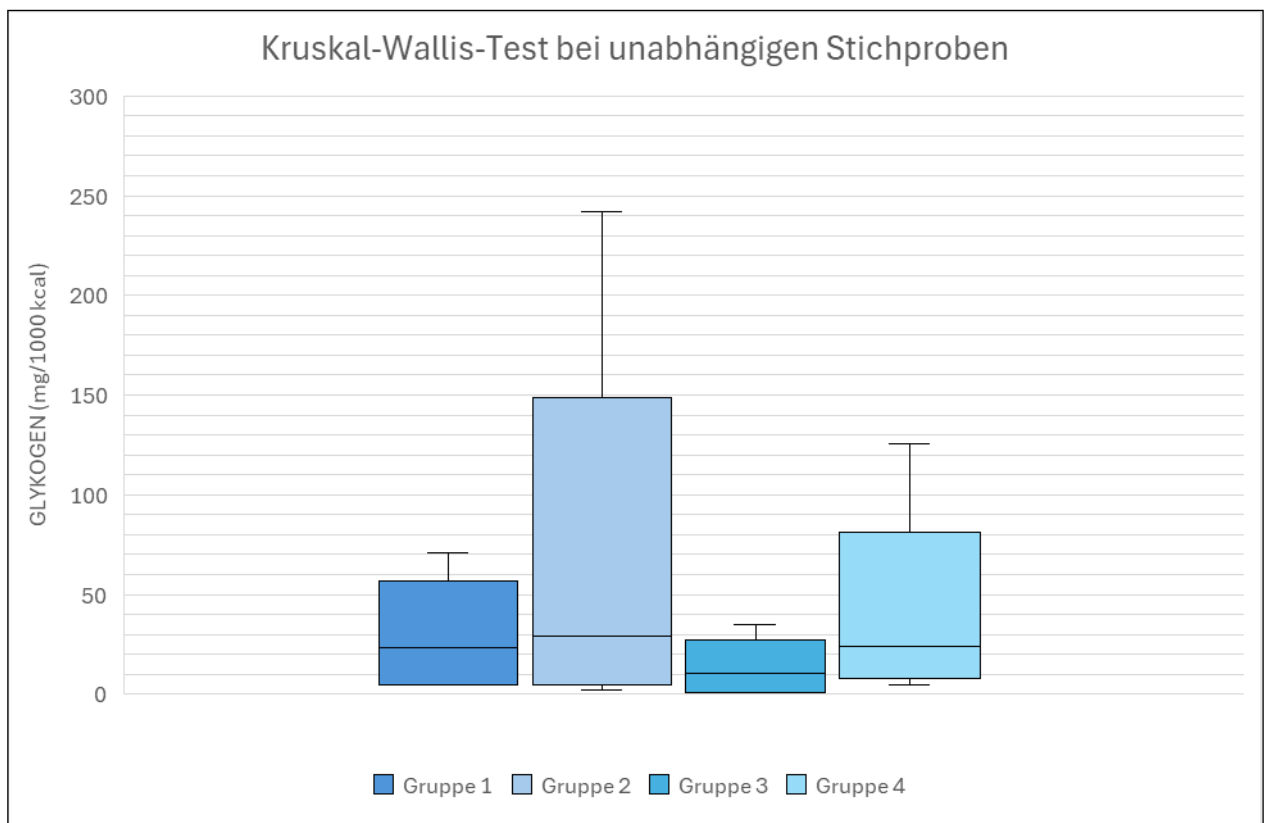


Abbildung 7: Der Kruskal-Wallis-Test zeigt, dass sich die Mediane der Gruppen 3 (kHE) und 4 (gHE) deutlich unterscheiden, was auf die signifikanten Unterschiede bei der Glykogenaufnahme hindeutet (Gruppe 1 = kLE, Gruppe 2 = gLE)

Bei Betrachtung des **Vitamin B₃ (Niacin)** dagegen zeigte sich, dass kranke High Emitter (kHE) eine signifikant höhere Aufnahme des Niacins aufwiesen als gesunde Low Emitter (gLE) ($p = 0,034$).

Tabelle 8: Paarweise Vergleiche der 4 Gruppen hinsichtlich des Niacins
(orange = signifikant Werte, grau = der Vergleich dieser Gruppen wird nicht beachtet)

Sample 1 – Sample 2	Teststatistik	Standard- Fehler	Standardteststatistik	Signifikanz	Angepasste Signifikanz*
gLE – kLE	12,529	6,686	1,874	0,061	0,366
gLE – gHE	-14,500	6,787	-2,136	0,033	0,196
gLE – kHE	-18,471	6,686	-2,762	0,006	0,034
kLE – gHE	-1,971	6,686	-0,295	0,768	1,000
kLE – kHE	-5,941	6,584	-0,902	0,367	1,000
gHE – kHE	3,971	6,686	0,594	0,553	1,000

Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Sample 1 und 2 gleich sind.
*. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.

Die Aufnahme der **Eicosatriensäure** (20:3 (ω -3)) unterschied sich insofern, als dass kranke High Emitter (kHE) eine signifikant höhere Aufnahme als gesunde Low Emitter (gLE) ($p = 0,047$) zeigten.

Tabelle 9: Paarweise Vergleiche der 4 Gruppen hinsichtlich der Eicosatriensäure
(orange = signifikant Werte, grau = der Vergleich dieser Gruppen wird nicht beachtet)

Sample 1 – Sample 2	Teststatistik	Standard- Fehler	Standardteststatistik	Signifikanz	Angepasste Signifikanz*
gLE – gHE	-12,125	6,787	-1,787	0,074	0,444
gLE – kLE	16,665	6,686	2,492	0,013	0,076
gLE – kHE	-17,783	6,686	-2,660	0,008	0,047
gHE – kLE	4,540	6,686	0,679	0,497	1,000
gHE – kHE	5,658	6,686	0,846	0,397	1,000
kLE – kHE	-1,118	6,584	-0,170	0,865	1,000

Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Sample 1 und 2 gleich sind.
*. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.

Bezüglich der **Docosapentaensäure** zeigte sich, dass gesunde Low Emitter (gLE) eine niedrigere Aufnahme von Docosapentaensäure als kranke High Emitter (kHE) hatten, welche sich jedoch nicht signifikant unterschied ($p = 0,051 = \text{Trend}$). Obwohl der Kruskal-Wallis-Test einen signifikanten Unterschied gezeigt hat, sind im paarweisen Vergleich keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen den Gruppen aufgefallen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, sowohl die **Eicosatriensäure** als auch das **Niacin** wurden signifikant mehr von kranken High Emitttern aufgenommen als von gesunden Low Emitttern. Bei der **Docosapentaensäure** zeichnet sich ein Trend ab.

Gesunde High und Low Emittter nahmen mehr **Glykogen** zu sich als kranke High Emittter.

Tabelle 10: Bei der Aufnahme dieser Nährstoffgruppen besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den verglichenen Gruppen

<i>Nährstoff</i>	<i>Signifikanter Unterschied</i>	<i>Gruppe mit höherer Aufnahme</i>	<i>Verglichene Gruppen</i>	<i>p-Wert</i>
Docosapentaensäure	Trend	kranke High Emittter	vs. gesunde Low Emittter	0,051
Eicosatriensäure	Signifikant	kranke High Emittter	vs. gesunde Low Emittter	0,047
Vitamin B₃ (Niacin)	Signifikant	kranke High Emittter	vs. gesunde Low Emittter	0,034
Glykogen	Signifikant	gesunde High Emittter	vs. kranke High Emittter	0,048
	Signifikant	gesunde Low Emittter	vs. kranke High Emittter	0,006

3.1.4. Wer ist eher High Emittter von Methan – Vegetarier*innen oder Nicht-Vegetarier*innen?

Als letzten Punkt ergab sich die Frage, ob Vegetarier*innen häufiger High Emittter von Methan sind als Nicht-Vegetarier bzw. Omnivore. Dafür wurden eine Kreuztabelle und ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Von insgesamt 84 Probanden ernährten sich 58 Personen omnivor, 25 Personen waren Vegetarier*innen und eine Person machte keine Angaben zu ihrer Ernährungsweise (sie wurde deshalb in der weiteren Betrachtung nicht berücksichtigt). Weiterhin gab es unter den 83 untersuchten Personen 41 Low Emittter und 42 High Emittter. Die Kreuztabelle (Kontingenztafel) zeigt, dass unter den High Emitttern die überwiegende Mehrheit (81,0%) Omnivore waren.

In der folgenden Tabelle 11 und in Abbildung 8 sind die Unterschiede dargestellt.

Tabelle 11: Vergleich von Vegetarier*innen und Omnivoren im Studienkollektiv

			Low Emitter	High Emitter	Gesamt
Studienteilnehmer*innen	Omnivore	Anzahl	24	34	58
		% von LE/ HE	58,5%	81,0%	69,9%
	Vegetarier*innen	Anzahl	17	8	25
		% von LE/HE	41,5%	19,0%	30,1%
Gesamt		Anzahl	41	42	83
		% von LE/HE	100,0%	100,0%	100,0%

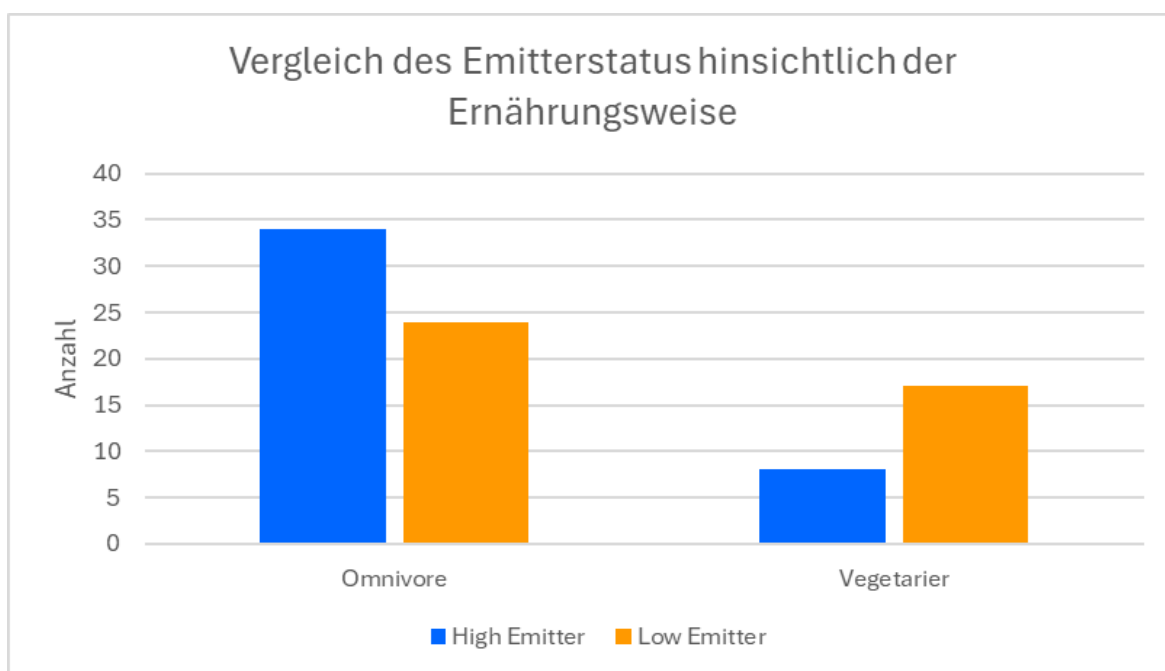


Abbildung 8: Im Balkendiagramm wird deutlich, dass unter den Omnivoren die Mehrheit High Emitter sind und unter den Vegetarier*innen die Mehrheit Low Emitter.

Die Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests zeigen einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen vegetarischer Ernährung und CH₄-Emitterstatus (Pearson-Chi-Quadrat=4,953, p=0,026). Dies wurde bestätigt durch den Likelihood-Ratio-Test (p=0,025), durch den Exakten Test nach Fisher (einseitig: p=0,023) und durch einen Linearen Zusammenhang (p=0,027).

Tabelle 12: Chi-Quadrat-Tests

	Wert	df	Asymptom. Signifikanz (zweiseitig)	Exakte Signifikanz (zweiseitig)	Exakte Signifikanz (einseitig)
Person-Chi-Quadrat	4,953 ¹	1	0,026		
Kontinuitätskorrektur²	3,945	1	0,047		
Likelihood-Quotient	5,035	1	0,025		
Exakter Test nach Fisher				0,033	0,023
Zusammenhang linear- mit-linear	4,893	1	0,027		
Anzahl der gültigen Fälle	83				

1. 0 Zellen (0,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 12,35
2. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Man kann daraus schließen, dass vegetarisch lebende Menschen deutlich seltener High Emmitter von Methan (CH₄) sind als omnivor lebende Menschen oder anders gesagt Nicht-Vegetarier*innen sind häufiger High Emmitter von Methan.

3.2. Mikrobiom der Archaeen und Methanproduktion

In einem zweiten Teil zur Beantwortung der Forschungsfragen, sollte erfahren werden, inwieweit das Mikrobiom der Archaeen mit der Methanproduktion zusammenhängt.

Dafür wurde ähnlich vorgegangen wie im ersten Teil: es wurde die zunächst Frage gestellt, ob es Unterschiede des Mikrobioms hinsichtlich des Emmitterstatus gibt. Weiterhin sollte beantwortet werden, ob Unterschiede des Mikrobioms zwischen gesunden und kranken Menschen auftreten. Zuletzt sollte festgestellt werden, ob und welche Unterschiede es bezüglich dem Mikrobiom gibt, wenn man gesunde und kranke Personen zusätzlich hinsichtlich ihres Emmitterstatus vergleicht.

3.2.1. Unterscheidet sich das Mikrobiom zwischen High und Low Emmitern?

Um zu ergründen ob und inwieweit das Mikrobiom die Methanproduktion beeinflusst, musste zunächst herausgefunden werden, ob sich das Mikrobiom zwischen High und Low Emmitern unterscheidet. Es wurde dafür ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, um in Erfahrung zu bringen, ob es signifikante Unterschiede gibt. Es stellte sich heraus, dass es

sich das Mikrobiom in einigen Kategorien und auch in einigen Archaea-Populationen signifikant unterscheidet. Es gab signifikante Unterschiede in den Kategorien Shannon-Index, Inverse-Simpson-Index, Richness und Evenness. Zudem gab es signifikante Unterschiede in den Archaea-Populationen *Methanobrevibacter* und *Methanosphaera*, sowie bei *Methanobrevibacter A. smithii* und *Methanobrevibacter A. smithii A*.

Die Populationen *Methanobrevibacter A. oralis* sowie *Methanobrevibacter sp900769095* kommen bei LE gar nicht und bei HE nur in sehr geringem Maße vor.

Auffällig war, dass sowohl alle 4 Kategorien als auch alle Archaea-Populationen zur Seite der High Emitter überwiegen und die Werte der Low Emitter geringer ausfielen als die der High Emitter. Es lässt sich also sagen, dass es hinsichtlich des Mikrobioms signifikante Unterschiede zwischen Low und High Emitter gibt und dass das Mikrobiom der betrachteten Archaeen bei den High Emitter vielfältiger zu sein scheint.

Tabelle 13: Vergleich des Medians und Interquartilsbereichs (IQR) signifikant unterschiedlicher Werte des Mikrobioms bei Personen die wenig bzw. viel Methan emittieren

	Low Emitter		High Emitter		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Shannon	4,120	0,674	4,773	0,538	< 0,001
Inverse Simpson	20,597	16,750	37,498	29,017	< 0,001
Richness	1822,00	314	2206,00	329	< 0,001
Evenness	0,554	0,073	0,619	0,064	< 0,001
Methanobrevibacter	692,00	1417	9044,00	23577	< 0,001
Methanosphaera	26,00	96	112,00	192	0,010
Methanobrevibacter A. smithii	0,00	0	2579,00	16462	< 0,001
Methanobrevibacter A. smithii A	0,00	0	578,00	2440	< 0,001

3.2.2. Unterscheidet sich das Mikrobiom zwischen gesunden und kranken Personen?

Da getestet werden sollte, ob das Mikrobiom hinsichtlich des Gesundheitszustands einer Person anders ist, beziehungsweise ob es Unterschiede des Mikrobioms, zwischen gesunden und kranken Personen, gibt, wurden die beiden Gruppen miteinander verglichen und führten auch hier einen Mann-Whitney-U-Test durch.

Der Test zeigte, dass es in den gemessenen Kategorien keine signifikanten Unterschiede gab. Die Kategorien Shannon-Index, Inverse-Simpson-Index, Richness, Evenness, reads counts und 21 verschiedene Archaeen-Populationen, die gemessen wurden, unterschieden sich nicht signifikant zwischen gesunden und kranken Personen. Alle gemessenen p-Werte lagen bei $>0,05$ und die Nullhypothese, die besagt, dass die Verteilung der Werte identisch ist, musste beibehalten werden. Man könnte also auch sagen, dass die Verteilung der Daten in beiden Gruppen im Wesentlichen gleich ist. Es bedeutet jedoch nicht, dass kein Unterschied existiert, sondern nur, dass anhand der uns vorliegenden Daten kein Unterschied gemessen wurde.

3.2.3. Unterscheidet sich das Mikrobiom zwischen gesunden und kranken Personen hinsichtlich des Emitterstatus?

Anders gefragt: gibt es einen Unterschied des Mikrobioms hinsichtlich des Gesundheitszustands in Kombination mit dem Emitterstatus?

Zur Beantwortung dieser Frage, wurde genau wie im ersten Teil des Ergebnisteils vorgegangen. Es wurde wieder zwischen High und Low Emitter und zwischen gesund und krank unterschieden und es wurden 4 verschiedene Gruppen gebildet, die miteinander verglichen wurden. Es wurde dafür ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt, der signifikante Unterschiede aufzeigte. Es gab in 9 verschiedenen Bereichen signifikante Unterschiede. Die verschiedenen Bereiche, die Unterschiede zwischen den Gruppen aufwiesen, waren einerseits die 4 Kategorien Shannon-Index, Inverse-Simpson-Index, Richness und Evenness, sowie die 5 Archaea-Populationen *Methanobrevibacter*, *Methanosphaera*, *Methanobrevibacter A. smithii*, *Methanobrevibacter A. smithii A* und *Methanomethylophilaceae*.

Gruppe 4, gHE, wiesen in 6 der 9 Bereiche die höchsten Werte und in 2 der 9 Bereiche die zweithöchsten Werte auf. Gruppe 4 zeigte in Hinblick auf die Diversität (Shannon-Index,

Inverse-Simpson-Index, Richness, Evenness) und bei *Methanobrevibacter A. smithii* und *Methanosphaera* die höchsten Werte und zeigte bei *Methanobrevibacter* und *Methanobrevibacter A. smithii A* die zweithöchsten Werte.

Gruppe 3, kHE, zeigte in 2 Bereichen die höchsten Werte (*Methanobrevibacter* und *Methanobrevibacter A. smithii A*) und in 6 Bereichen die zweithöchsten (Shannon-Index, Inverse-Simpson-Index, Richness, Evenness und *Methanobrevibacter A. smithii* und *Methanosphaera*), also genau umgekehrt zu den gesunden High Emitttern. Die Gruppen 3 und 4, kranke und gesunde High Emittter, wiesen demnach in allen Bereichen die höchsten Werte auf.

Gruppe 2, gLE, wies in 6 Bereichen die niedrigsten Werte aller 4 Gruppen auf (Shannon-Index, Inverse-Simpson-Index, Richness, Evenness, *Methanobrevibacter* und *Methanosphaera*). **Gruppe 1**, kLE, wies in denselben 6 Bereichen jeweils höhere Werte als Gruppe 2 auf, zeigt jedoch insgesamt die zweitniedrigsten Werte. In den 2 Archaea-Populationen *Methanobrevibacter A. smithii* und *Methanobrevibacter A. smithii A* zeigten die Low Emittter überhaupt keine Werte. In der Archaea-Population der *Methanomethylophilaceae* wiesen nur die kranken Low Emittter Werte auf; alle anderen Gruppen zeigten in diesem Bereich keine Werte.

Tabelle 14: Vergleich des Medians und Interquartilbereichs (IQR) signifikant unterschiedlicher Werte des Mikrobioms bei gHE und kHE (höhere Werte dunkel markiert, niedrigere Werte hell markiert)

	gesunde High Emitter (Gr. 4)		kranke High Emitter (Gr. 3)		p-Wert
	Median	IQR	Median	IQR	
Shannon	4,833	0,450	4,680	0,767	< 0,001
Inverse Simpson	37,828	25,651	31,825	36,463	0,001
Richness	2250,50	340	2189,00	504	< 0,001
Evenness	0,626	0,049	0,607	0,085	< 0,001
Methanobrevibacter	7643,50	17023	9418,00	31031	< 0,001
Methanosphaera	136,00	641	82,00	202	0,023
Methanobrevibacter A. smithii	3482,50	13825	2421,00	26611	< 0,001
Methanobrevibacter A. smithii A	518,50	1952	617,00	3745	< 0,001

**Tabelle 15: Vergleich signifikant unterschiedl. Werte des Mikrobioms bei gLE und kLE
(höhere Werte dunkel markiert, niedrigere Werte hell markiert)**

	gesunde Low Emitter (Gr. 2)		kranke Low Emitter (Gr. 1)		p-Wert
	<i>Median</i>	<i>IQR</i>	<i>Median</i>	<i>IQR</i>	
Shannon	4,087	0,717	4,167	0,510	< 0,001
Inverse Simpson	19,066	17,104	23,890	15,401	0,001
Richness	1799,50	574	1826,00	288	< 0,001
Evenness	0,543	0,072	0,556	0,066	< 0,001
Methanobrevibacter	583,00	1257	985,00	1787	< 0,001
Methanosphaera	22,00	91	47,00	135	0,023
Methanobrevibacter A. smithii	-	-	-	-	
Methanobrevibacter A. smithii A	-	-	-	-	

4. Diskussion

In der folgenden Diskussion der Diplomarbeit sollen die gezeigten Ergebnisse interpretiert werden. Das bedeutet also, was die Ergebnisse aussagen können, welche Bedeutung diese Aussagen haben und welche Schlussfolgerungen sich daraus ziehen lassen können. Weiterhin soll die Studie kritisch hinterfragt werden und es soll überlegt werden, welche Einschränkungen und welche Stärken die Studie bezüglich ihres Inhaltes und ihrer Methoden hat. Zuletzt soll dargelegt werden, was das für die weitere Theorie und Praxis der Thematik bedeutet und es soll ein Ausblick für weitere Studien und für die Zukunft gegeben werden.

4.1. Antworten auf die Forschungsfragen

Die in dieser Arbeit aufgeworfenen Forschungsfragen beschäftigen sich in erster Linie mit der Ernährung des Menschen, seiner Methanproduktion und seinem Mikrobiom oder im engeren Sinne der methanproduzierenden Archaeen.

4.1.1. Ernährung und Methanausstoß

Zunächst stellte sich die Frage: Unterscheidet sich die Ernährung zwischen Personen mit viel beziehungsweise wenig Methanausstoß?

Im Ergebnisteil unter 3.1.1. wird demonstriert, dass sich die energieadjustierte Nährstoffaufnahme zwischen den beiden Gruppen der Low und High Emitter von Methan signifikant unterscheidet. Es wurde gezeigt, dass die Low Emitter (Personen, die wenig Methan emittieren) mehr Polysaccharide, Glykogen und Stärke und dafür weniger der Vitamine B₃, B₅ und B₇ konsumierten als die High Emitter, während die High Emitter weniger der genannten Kohlenhydrate und mehr der genannten Vitamine konsumierten.

Polysaccharide, Glykogen und Stärke gehören alle zur Gruppe der Kohlenhydrate, während die Vitamine B₃, B₅ und B₇ zu den B-Vitaminen gehören, weswegen sie der Einfachheit halber im Folgenden so genannt werden. Im weiteren Text sind damit nicht alle Kohlenhydrate oder alle B-Vitamine gemeint, sondern nur die im Ergebnisteil aufgeführten.

In Tabelle 16 sind die Ergebnisse des Ergebnisteils bezüglich des Konsums zwischen High und Low Emittlern vereinfacht dargestellt.

Tabelle 16: Unterschiedlicher Konsum der Nährstoffe in beiden Gruppen.
 (↑= höherer Konsum, ↓= geringerer Konsum)

	<i>Low Emitter</i>		<i>High Emitter</i>	
Kohlenhydrate	Polysaccharide		Polysaccharide	
	Glykogen	↑	Glykogen	↓
	Stärke		Stärke	
B-Vitamine	Vitamin B ₃		Vitamin B ₃	
	Vitamin B ₅	↓	Vitamin B ₅	↑
	Vitamin B ₇		Vitamin B ₇	

Die oben geschilderte Beobachtung wirft die Frage auf, ob zwischen dem Konsum der Nährstoffgruppen und dem Methanausstoß eine Assoziation besteht. Anders gesagt: ist der Konsum von bestimmten Kohlenhydraten eher mit niedrigem Methanausstoß und der Konsum bestimmter Vitamine mit hohem Methanausstoß assoziiert? Alternativ stellt sich die Frage, ob nicht der geringere Konsum der jeweils anderen Nährstoffgruppe eine Rolle spielt – also ob weniger Konsum von bestimmten Vitaminen mit niedrigeren Methanwerten assoziiert ist, während weniger Konsum von bestimmten Kohlenhydraten mit höheren Methanwerten assoziiert ist.

Zunächst ist zu beachten, dass die Datenlage lediglich eine Assoziation zwischen Konsummuster und Methanausstoß aufzeigen könnte. Die Feststellung, dass Low Emitter mehr Kohlenhydrate konsumieren, bedeutet nicht zwingend, dass der Konsum von Kohlenhydraten zu niedrigerem Methanausstoß führt. Gleiches gilt in dieser Gruppe für den Zusammenhang zwischen geringem Vitaminkonsum und niedrigem Methanausstoß.

Um diesen Sachverhalt richtig darzustellen, lassen sich zwei verschiedene Überlegungen anstellen (siehe Tabelle 17):

1. Interpretation: Assoziation des Mehrkonsums

Der signifikant höhere Konsum von Kohlenhydraten bei den Low Emittlern war in dieser Kohorte mit einem geringeren Methanausstoß assoziiert. Das würde bedeuten, dass der Konsum von den genannten Kohlenhydraten ein Faktor dafür ist, dass der Methanausstoß geringer ist.

Analog dazu könnte auch der höhere Konsum von den genannten B-Vitaminen mit einem höheren Methanausstoß bei den High Emittlern assoziiert sein.

2. Interpretation: Assoziation des Minderkonsums

Alternativ könnte angenommen werden, dass der geringere Konsum von Kohlenhydraten mit einem erhöhten Methanausstoß bei den High Emittlern assoziiert ist, während der geringere Konsum von B-Vitaminen mit einem geringeren Methanausstoß bei den Low Emittlern assoziiert ist.

Tabelle 17: Gegenüberstellung der beiden Theorien bezüglich des Konsums und der unterschiedlichen Methanwerten

(↑ = höhere Werte, ↓ = niedrigere Werte)

	<i>Low Emitter</i>	<i>High Emitter</i>
1. Interpretation: Mehrkonsum ist mit unterschiedlichen Methanwerten assoziiert	Kohlenhydrate ↑ ⇒ Methan ↓	B-Vitamine ↑ ⇒ Methan ↑
2. Interpretation: Minderkonsum ist mit unterschiedlichen Methanwerten assoziiert	B-Vitamine ↓ ⇒ Methan ↓	Kohlenhydrate ↓ ⇒ Methan ↑

Welche der beiden Ansätze zutrifft, lässt sich ohne weitere Analyse nicht vollends klären. In jedem Fall handelt es sich um hypothesenbildende Assoziationen, die weiterer Forschungen bedürfen.

Sucht man den Vergleich in der Literatur, werden verschiedene Ergebnisse offenbar. Zum einen, scheint es eher so, als würden B-Vitamine das Wachstum von Archaeen nicht fördern. In der Arbeit von Madigan et al. (2022) kommen die Autoren zu dem Schluss, dass methanbildende Archaeen eher bei einem Mangel an B-Vitamine (hier Vitamin B₁₂) vorkommen.⁶⁴ Auch die Arbeit von Kumpitsch et al. (2021) zeigt, dass Vitamin B₁₂ mit niedrigeren Methan-Emissionen einhergehen und nicht mit höheren.²⁵

Beide Arbeiten zeigen jedoch Ergebnisse bezüglich dem Vitamin B₁₂ und nicht den hier präsentierten Vitamin B₃, B₅ und B₇. Möglicherweise gibt es weitere Unterschiede, die es sich zu untersuchen lohnt.

Weiterhin ist von Bedeutung, dass dem Medium zur Kultivierung von Methanogenen immer B-Vitamine zugesetzt werden, um optimale Bedingungen zu schaffen. In der Wolfe-Vitaminlösung und auch in der Widdel-Vitaminlösung, die meist gegeben werden,

um Wachstum und Methanogenese der Archaeen zu ermöglichen, befinden sich standardmäßig Vitamin B₃, B₅, B₆ und B₇.⁶⁵ Notwendige Vitamine sind laut Tanner und Wolfe (1988) unter anderem B₁, B₆, B₇ und B₁₂.⁶⁶

Demzufolge könnte ein höherer Konsum von bestimmten B-Vitaminen das Wachstum methanogener Archaeen begünstigen und einen verstärkten Methanausstoß fördern.

Zur Hypothese über Glykogen und Polysaccharide fanden sich folgende Erkenntnisse: die Studie von Bougouin et al. (2018) stellt fest, dass eine stärkereiche Ernährung eine höhere Reduzierung der CH₄-Emissionen bewirkt als eine faserreiche (also eine pflanzendominierte Ernährung).⁶⁷ Diese Arbeit untersucht jedoch die Methanemissionen von Kühen und diese sind nicht unmittelbar auf den Menschen übertragbar. Es hängt laut aktuellem Kenntnisstand wohl davon ab, welche Kohlenhydrate konsumiert werden und nicht allein die Menge an Kohlenhydraten. Dieser Unterschied muss in weiteren Studien berücksichtigt werden.

Zuletzt sei angemerkt, dass andere Faktoren, die in dieser Darstellung nicht erfasst wurden, eine Rolle spielen könnten. Es könnte sein, dass demografische (Alter, Geschlecht etc.) oder genetische Faktoren eine größere Rolle oder sogar die hauptsächliche Ursache des Unterschieds darstellen. Es bleibt die Erkenntnis, dass die Ernährung der beiden Gruppen Unterschiede aufzeigt und diese genauer untersucht werden müssen, um mehr Klarheit über die Ursache des Methanausstoßes beim Menschen zu erlangen. Der Unterschied bei Kohlenhydraten und B-Vitaminen kann als Ausgangspunkt für weitere Studien gelten.

4.1.2. Ernährung von gesunden und kranken Personen

Unterscheidet sich die Ernährung zwischen gesunden und kranken Personen? Es wurde im Ergebnisteil verglichen, ob sich die Ernährung von gesunden und kranken Personen unterscheidet. Dabei fanden sich signifikante Unterschiede bei der Aufnahme von verschiedenen Nährstoffen. In Tabelle 18 ist eine Übersicht dargestellt, die die Unterschiede des Nährstoffkonsums der beiden Gruppen veranschaulicht.

Tabelle 18: Vergleich der signifikant unterschiedlichen Aufnahme verschiedener Nährstoffe bei gesunden und kranken Personen
 (↑ = höhere Werte, ↓ = niedrigere Werte)

<i>Nährstoffgruppen und Nährstoffe</i>		gesunde Personen	kranke Personen
<i>Aminosäuren</i>	Alanin	↓	↑
	Cystin	↓	↑
	Glycin	↓	↑
<i>gesättigte Fettsäure</i>	Caprinsäure	↑	↓
<i>mehrfach ungesättigte Fettsäuren</i>	Eicosatriensäure	↓	↑
	Docosapentaensäure	↓	↑
<i>Kohlenhydrate</i>	Glykogen	↑	↓
<i>B-Vitamine</i>	Vitamin B₃	↓	↑

Gesunde Personen konsumierten mehr Caprinsäure und Glykogen, kranke Personen konsumierten mehr Alanin, Cystin, Glycin, Eicosatriensäure, Docosapentaensäure und Vitamin B₃.

Auf den ersten Blick scheint es keine Assoziation zwischen den Nährstoffen beziehungsweise Nährstoffgruppen zu Gesundheit und Krankheit der Personen zu geben. Es lässt sich wohl nicht behaupten, dass gesunde Personen gesund sind, weil sie weniger Aminosäuren oder mehr Glykogen zu sich genommen haben. Genauso wenig ließe sich ohne weiteres sagen, kranke Personen seien krank, weil sie zum Beispiel zu viel Vitamin B₃ konsumiert hätten. Hier erscheint eine Assoziation eher unwahrscheinlich. Obwohl die Unterschiede signifikant sind, scheinen die hier dargelegten Studienergebnisse eher dem Zufall geschuldet zu sein und es besteht hier vermutlich keine Assoziation der Nährstoffe mit Gesundheit oder Krankheit.

Bezüglich der Caprinsäure fanden sich keine Humanstudien, die einen Effekt auf die Darmgesundheit belegen.

Wenn nicht schon hinreichend belegt und um sicherzugehen, dass tatsächlich keine Assoziation dieser Nährstoffgruppen besteht, müssten sich weitere Studien mit diesen Nährstoffen befassen. Dabei müsste jeder Nährstoff auf sein Verhältnis zu Gesundheit und Krankheit getestet werden.

4.1.3. Die Ernährung bei gesunden und kranken Personen hinsichtlich ihres Emitterstatus

Zur Frage, ob es Unterschiede der Ernährung hinsichtlich des Emitterstatus gibt, wenn man zusätzlich den Gesundheitszustand der Personen untersucht, soll im Folgenden diskutiert werden.

Kranke High Emitter konsumierten signifikant mehr Eicosatriensäure und Vitamin B₃ als gesunde Low Emitter. Beim Konsum der Docosapentaensäure war der Unterschied knapp nicht signifikant. Glykogen unterschied sich insofern, dass sowohl gesunde High Emitter als auch gesunde Low Emitter mehr davon konsumierten als kranke High Emitter.

Auffällig ist, dass sich hier erneut die Nährstoffe Eicosatriensäure, Vitamin B₃ und Glykogen signifikant demonstrieren.

Das ist damit zu erklären, dass sich Glykogen und Vitamin B₃ bereits im Vergleich des Emitterstatus und im Vergleich der Gesundheit signifikant zwischen den Gruppen unterschied, während die Eicosapentaensäure im Emitterstatus signifikant auffiel. Die vier verschiedenen Gruppen kHE, gHE, kLE und gLE, die hier verglichen werden, sind Unterteilungen der größeren Gruppen High und Low Emitter beziehungsweise gesunde und kranke Personen. Es ist also verständlich, dass sich signifikante Unterschiede in den größeren Gruppen auch in den kleineren widerspiegeln. Es besteht in diesem Fall vermutlich keine Assoziation zwischen dem Konsum der Nährstoffe und der Kombination Gesundheit/Emitterstatus.

So ist es auch beim Vergleich des Glykogens zwischen gesunden und kranken High Emittlern, bei dem die gesunden High Emitter einen höheren Konsum des Glykogens aufwiesen als die kranken High Emitter. Der hier gefundene Unterschied zwischen gesunden und kranken High Emittlern ist dadurch zu erklären, dass, in Einzelbetrachtung der Gruppen „gesund“ und „krank“, gesunde Personen mehr Glykogen konsumierten als kranke, was sich hier widerspiegelt. Die Low Emitter konsumierten mehr Glykogen als die High Emitter, weswegen hier die gesunden Low Emitter ebenfalls mehr konsumierten als die kranken High Emitter.

Dennoch scheint Glykogen eine Rolle zu spielen, da es in allen Vergleichen signifikant auffiel.

Wie könnte Glykogen mit Methan zusammenhängen?

Es wurde entdeckt, dass methanogene Archaeen Glykogen speichern und die Arbeit von Santiago-Martínez et al. (2016) zeigt, dass sie das Glykogen auch zur Produktion von Methan verwenden.^{68,69}

Man kann sich daher also die Frage stellen, ob Personen mehr Glykogen zu sich nahmen und deshalb zu High Emittern des Methans wurden. In dem Studienkollektiv dieser Diplomarbeit zeigte sich jedoch, dass bei den Low Emittern der Glykogenkonsum höher war als unter den High Emittern, während der Glykogenkonsum der gesunden Personen höher war als der der Kranken. Die Ergebnisse dieser Diplomarbeit bestätigen also nicht, dass mehr Glykogen zu mehr Methanproduktion führt.

Des Weiteren muss man sich fragen, wie aussagekräftig das Glykogen tatsächlich ist. Glykogen, das den Kohlenhydratspeicher in tierischen Geweben darstellt, gilt nicht unbedingt als verlässlicher Marker, da es nach dem Tod des Tieres sehr schnell abgebaut wird⁷⁰ und je nach Ernährung der Tiere variieren kann.⁷¹

Dennoch ist die weitere Forschung zum Zusammenhang zwischen Glykogen und Methanproduktion wichtig und könnte weiterhin interessante Ergebnisse bringen.

4.1.4. Unterschiede des Methanausstoßes bei vegetarischer und omnivorer Ernährung

Eine der Forschungsfragen der Diplomarbeit ist, ob sich der Methanausstoß von omnivor und vegetarisch lebenden Menschen unterscheidet. Dabei kamen wir zu dem interessanten Ergebnis, dass es einen signifikanten Unterschied gibt. Von den High Emittern waren 19% vegetarisch und 81% omnivor lebende Menschen, während von den Low Emittern 41,5% Vegetarier*innen und 58,5% Omnivore waren. Es waren also unter den High Emittern deutlich mehr omnivor lebende Menschen.

Umgekehrt waren unter den Vegetarier*innen 68% Low Emittler und 32% High Emittler und unter den Omnivoren rund 40% Low Emittler und 60% High Emittler. Das bedeutet unter den Omnivoren sind die Mehrheit High Emittler und unter den Vegetarier*innen sind die Mehrheit Low Emittler. Die Ergebnisse zeigen, dass in unserem Studienkollektiv vegetarisch lebende Menschen seltener High Emittler von Methan sind, und Omnivore, also Nicht-Vegetarier*innen häufiger High Emittler von Methan sind.

Kann man daher davon ausgehen, dass eine vegetarische Ernährung zu weniger Methanausstoß führt oder dass omnivor lebende Menschen eher einen höheren Methanausstoß haben?

Dieser Ansatz erscheint plausibel, da bekannt ist, dass die Ernährung das Mikrobiom des Menschen beeinflussen und verändern kann.²⁷⁻²⁹ Vegetarier*innen und Omnivore haben ein unterschiedliches Mikrobiom^{72,73} und durch eine pflanzenbasierte Ernährungsweise werden andere Bakterien begünstigt, als durch eine omnivore Ernährungsweise.^{29,74}

Wenn die Ernährung das Vorkommen bestimmter Bakterien steuert, warum dann nicht auch das Vorkommen bestimmter Archaeen? Beispielweise jener Archaeen, die in weiterer Folge mehr Methan produzieren?

Es ist nachvollziehbar und unsere Daten würden diese These unterstützen.

Die hier gefundene Annahme, dass Vegetarier*innen weniger Treibhausgase (einschließlich Methan) produzieren als Nicht-Vegetarier*innen, bestätigt auch die Arbeit von Scarborough et al. (2014). Die Autoren vergleichen in dieser Studie die Treibhausgasemissionen von verschiedenen Ernährungsweisen und kommen zu dem Ergebnis, dass die Emissionen von Veganer*innen die niedrigsten sind, gefolgt von Vegetarier*innen, Fisch- und Fleischessern. Je größer der Fleischkonsum, desto größer scheint auch der Wert der Treibhausgasemissionen zu steigen.⁷⁵ Es wurde keine Arbeit gefunden, die zeigt, dass Methanwerte zwischen Vegetarier*innen und Omnivoren gleich seien.

In der Studie von Kumpitsch et al. (2021) wird dagegen erwähnt, dass hohe Methanwerte mit erhöhten Werten von Format und Acetat zusammenhängen. Diese Metabolite korrelieren stark mit ballaststoff- und vitaminreichen Ernährungsweisen,²⁵ was bedeutet, dass eine ballaststoff- und vitaminreiche Ernährung höhere Methanwerte nach sich ziehen könnte. Vegetarier*innen haben typischerweise einen hohen Konsum von Ballaststoffen, Vitamin C und Vitamin E, wie von Key et al. (2022) im Rahmen der EPIC-Oxford Studie dargestellt.⁷⁶

Ob nun eine pflanzenbasierte Ernährung die Methanemissionen beim Menschen erhöht oder erniedrigt oder nicht signifikant beeinflusst, scheint noch nicht vollends geklärt zu sein.

Weiterhin muss an dieser Stelle erneut beachtet werden, dass die hier präsentierten Ergebnisse nicht zwangsläufig eine Kausalität darstellen. Die Zusammensetzung des Mikrobioms ist vielen verschiedenen Faktoren unterworfen und nicht allein von der

Ernährung abhängig.^{11,28,29} Es kann auch von anderen Faktoren abhängig sein, ob eine Person viel oder wenig Methan produziert. Es ist auch denkbar, dass andere Faktoren wie die Genetik eine größere Rolle bei der Methanproduktion des Menschen spielen als die Ernährung

Dennoch demonstrieren die hier dargelegten Daten, dass es möglicherweise eine Verbindung zwischen vegetarischer Ernährung und Methanproduktion gibt, und es bedarf weiterer Forschung in diese Richtung, um den Zusammenhang beim Menschen offenzulegen.

4.1.5. Das Mikrobiom bei High und Low Emittlern

Wir zeigen im Ergebnisteil, dass sich das Mikrobiom zwischen High und Low Emittlern an mehreren Stellen signifikant unterscheidet. High Emitter zeigten im Vergleich zu Low Emittlern eine höhere Richness, höhere Evenness, höheren Shannon-Index, höheren Inverse-Simpson-Index, sowie höhere Werte der Archaea-Populationen Methanobrevibacter und Methanosphaera.

Wie im Methodenteil geschildert, sind Richness und Evenness, sowie die Indizes von Shannon und Inverse-Simpson, Werkzeuge, um die Biodiversität zu messen. Höhere Werte indizieren höhere Biodiversität in einem Ökosystem. In der Zusammenschau dieser erhöhten Werte, kann man wohl sagen, dass das Mikrobiom der Archaeen bei High Emittlern vielfältiger ist als bei Low Emittlern.

Zugleich haben die High Emitter ein erhöhtes Vorkommen der Populationen Methanobrevibacter und Methanosphaera. Diese sind Gattungen von Archaeen und gehören zu den wichtigsten Vertretern der Methanbildnern im menschlichen Darm.²³

Es ist nur verständlich, dass Menschen mit größerem Vorkommen methanbildender Organismen erhöhte Methanwerte in ihrer Ausatemluft haben und daher in dieser Studie auch den High Emittlern zugeordnet wurden.

Hohe Methanwerte korrelieren in der Arbeit von Kumpitsch et al. (2021) ebenfalls mit einem komplexeren Mikrobiom des Gastrointestinaltrakts. Es wird darauf hingewiesen, dass sich die Zusammensetzung des Mikrobioms zwischen Low und High Emittlern signifikant unterscheidet.²⁵

4.1.6. Das Mikrobiom bei gesunden und kranken Personen

In diesem Abschnitt werden die Unterschiede des Mikrobioms bei gesunden und kranken Personen des Studienkollektivs betrachtet. Die Ergebnisse zeigten, dass sich in den beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied ausmachen lässt. Weder die Biodiversität, repräsentiert durch Richness, Evenness, Shannon-Index und Inverse-Simpson, noch die 21 verschiedenen Archaea-Populationen, die untersucht wurden, zeigten Unterschiede beim Vergleich gesunder und kranker Menschen.

Die Verteilung der Werte ist in beiden Gruppen annähernd gleich. Wie bereits im Ergebnisteil erwähnt, bedeutet das jedoch nicht, dass kein Unterschied existiert. Es bedeutet lediglich, dass in unserem Studienkollektiv und mit unseren gemessenen Werten kein signifikanter Unterschied aufgefallen ist. Es ist möglich, dass nicht genug Daten vorliegen, um einen Unterschied zu erkennen und zu belegen.

Auch ist es denkbar, dass die Nullhypothese korrekt ist, dass also kein Unterschied des Mikrobioms bei gesunden und kranken Menschen vorliegt, wohingegen die Alternativhypothese, dass ein Unterschied vorliegt, verworfen werden muss. Wenn dem so ist, wären die Personen in unserem Studienkollektiv aus einem anderen Grund gesund beziehungsweise krank, und nicht aufgrund eines Unterschieds ihres Mikrobioms. Davon ist jedoch nicht unbedingt auszugehen, da bei darmkranken Menschen häufig auch deren Mikrobiom betroffen ist.

4.1.7. Das Mikrobiom bei gesunden und kranken Personen hinsichtlich ihres Emitterstatus

Es werden hier, wie im Ergebnisteil nachzulesen, 4 verschiedene Gruppen in Anbetracht ihres Mikrobioms verglichen. Die 4 Gruppen entstanden aus der Kombination von Gesundheitsstatus (gesund vs. krank) und Emitterstatus (High vs. Low Emitter). Gruppe 1 stellte die kranken Low Emitter (kLE) dar, Gruppe 2 die gesunden Low Emitter (gLE), Gruppe 3 die kranken High Emitter (kHE) und Gruppe 4 die gesunden High Emitter (gHE).

In der folgenden Tabelle 19 sind die Unterschiede der einzelnen Gruppen noch einmal schematisch hervorgehoben. Man sieht, dass die Gruppe der gesunden High Emitter in den meisten Fällen die höchsten Werte aufweist, während die Gruppe der gesunden Low Emitter in den entscheidenden Kategorien die niedrigsten Werte zeigt.

Tabelle 19: Schematischer Vergleich der unterschiedlichen Werte des Mikrobioms bei allen 4 Gruppen (mehr ↑ = höhere Werte, höchste Werte in blau dargestellt, niedrigste in rot)

	gHE	kHE	gLE	kLE
Shannon	↑↑↑↑	↑↑↑	↑	↑↑
Inverse Simpson	↑↑↑↑	↑↑↑	↑	↑↑
Richness	↑↑↑↑	↑↑↑	↑	↑↑
Evenness	↑↑↑↑	↑↑↑	↑	↑↑
Methanobrevibacter	↑↑↑	↑↑↑↑	↑	↑↑
Methanosphaera	↑↑↑↑	↑↑↑	↑	↑↑
Methanobrevibacter A. smithii	↑↑↑↑	↑↑↑	-	-
Methanobrevibacter A. smithii A	↑↑↑	↑↑↑↑	-	-

Wie sind diese Darstellungen zu interpretieren? Man kann festhalten, dass die gesunden High Emitter das vielfältigste Mikrobiom haben, während die gesunden Low Emitter über das am wenigsten vielfältige verfügen.

Generell scheinen die High Emitter ein komplexeres Mikrobiom zu haben, wie schon in einem vorangegangenen Kapitel angeführt. Jedoch zeigt sich hier auch, dass gesunde High Emitter über ein vielfältigeres Mikrobiom zu verfügen scheinen als kranke High Emitter, obwohl in unserem Vergleich zwischen gesunden und kranken Personen kein Unterschied aufgefallen war.

Bei den Low Emitttern ist es genau umgekehrt: die kranken Low Emitter scheinen ein vielfältigeres Mikrobiom aufzuweisen als die gesunden Low Emitter.

Man könnte davon ausgehen, dass High Emitter von Methan deswegen höhere Methanwerte haben, weil sie mehr Stämme methanbildender Archaeen haben und demzufolge ihre gemessene Alpha-Diversität ebenfalls höher ist. Wir sehen, dass die Gesundheit innerhalb der High Emitter Gruppe einen positiven Einfluss auf die Alpha-Diversität des Mikrobioms hat, da die gemessenen Werte höher sind. Innerhalb der Low Emitter Gruppe, scheint die Gesundheit keinen Einfluss auf die Mikrobiomdiversität zu haben, da hier kLE höhere Werte aufweisen.

Vergleicht man nun die Gruppen nach Gesundheit und Krankheit ergibt sich ein anderes Bild. Innerhalb der Gruppe der Gesunden haben die HE viel höhere Werte als die LE, also ein deutlich vielfältigeres Mikrobiom. Innerhalb der Gruppe der Kranken haben die HE und LE eine vergleichbar hohe Alpha-Diversität, wobei die HE eine höhere Alpha-Diversität aufweisen.

Wenn man davon ausgeht, dass ein vielfältigeres Mikrobiom höhere Methanemissionswert nach sich zieht, lässt sich folgende Interpretationskette anstellen:

*High Emitter haben eine signifikant höhere Alpha-Diversität im Vergleich zu Low Emittlern
Die Alpha-Diversität ist auch mit Gesundheit assoziiert.*

Die beiden Faktoren „Höhe der Methanemissionen“ und „Gesundheit/Krankheit“ könnten wechselseitig zusammenhängen und sind möglicherweise assoziiert.

Möglicherweise wirkt der Faktor Gesundheit/Krankheit modulierend auf die Alpha-Diversität und dadurch auf die Methanemissionen: Die Gesundheit könnte bei höherer Alpha-Diversität (einem vielfältigeren Mikrobiom) mit höheren Methanemissionen assoziiert sein. Aber auch wenn Gesundheit besteht, kommt es bei gering ausgeprägter Alpha-Diversität nicht unbedingt zu hohen Emissionen, sondern eher zu niedrigen (gesunde LE haben die niedrigsten Werte der Alpha-Diversität).

Möglicherweise wirkt die Zusammensetzung des Mikrobioms in Gesundheit „verstärkend“ auf die Emissionen, das heißt die Gruppen reagieren in Anwesenheit von Gesundheit sensibler auf die Alpha-Diversität des Mikrobioms und es kommt zu höheren Emissionen. Das gilt aber nur unter der Bedingung, dass auch ein vielfältig ausgeprägtes Mikrobiom besteht. Bei den gesunden LE tritt dieser Effekt nicht in Erscheinung, da sie in unserem Kollektiv, das am wenigsten vielfältige Mikrobiom haben. Ein daran anschließender Gedanke ist, dass Krankheit nicht beeinflussend auf die Emissionen wirkt, das heißt in Anwesenheit von Krankheit kommt es nicht zwingend zu höheren oder niedrigeren Emissionen.

Bei mittel ausgeprägtem Alpha-Diversitätswerten kann es trotz dem Faktor Krankheit zu sowohl hohen als auch niedrigen Emissionen kommen (Gruppe der kHE und kLE haben die mittleren Werte der Alpha-Diversität).

Schlussfolgerung: Die Alpha-Diversität könnte mit den Emissionen (teilweise abhängig von der Gesundheit) assoziiert sein.

Die beobachteten Unterschiede zwischen den Gruppen erklären sich am besten durch die Kombination von einer Assoziation der Alpha-Diversität mit den Emissionen und einem eventuell assoziierten Effekt von Gesundheit auf die Emissionen.

4.2. Kritische Reflexion / Einschränkungen zu Inhalt und Methode

In dieser Arbeit wurden die Ernährungsprotokolle und Mikrobiomdaten von 66 Personen ausgewertet und die Werte verglichen, um Unterschiede festzustellen. Anhand dieser wurden Thesen aufgestellt, die anschließend diskutiert wurden.

Im Folgenden soll die Arbeit reflektiert werden und Limitationen und Stärken der Studie dargestellt werden.

4.2.1. Limitation der Arbeit

Die Ergebnisse und statistischen Werte der Ernährung stützen sich auf Protokolle, die von den Studienteilnehmer*innen ausgefüllt wurden. Die Protokolle geben einen Zeitraum von 4 Wochen in der Vergangenheit wieder. Im Methodenteil wurde festgehalten, dass ein Ernährungsprotokoll, das die letzten 4 Wochen überblickt, nicht ungenauer ist als eines, das die letzten 24 Stunden erörtert.⁴¹ Die Protokolle liefern dennoch Ergebnisse, die von der Einschätzung der Studienteilnehmer*innen abhängig sind. Das bedeutet, sollten Studienteilnehmer*innen die Aussagen, was und wie viel sie zu sich genommen hatten, bewusst oder unbewusst, falsch angeben, werden die Ergebnisse der Protokolle und damit auch die Ergebnisse unserer Statistik falsch abgebildet. Eine weitere Schwäche bezüglich der Ernährungsprotokolle ist, dass sich möglicherweise überwiegend Personen zur Studie gemeldet haben, die an Ernährung interessiert sind. Wenn das stimmt, würden zwar womöglich die Ernährungsprotokolle genauer und korrekter ausgefüllt, jedoch würde es sich unter Umständen um Menschen handeln, die sehr auf ihre Ernährung achten. Das wiederum könnte bedeuten, dass die Protokolle nicht die allgemeine österreichische Bevölkerung abbilden, sondern eher Personen, die ihrer Ernährung einen besonders großen Stellenwert beimessen. Es könnte also ein geringer Selektionsbias aufgetreten sein (eher ernährungsbewusste Personen melden sich zur Studienteilnahme).

Aus der Gegenüberstellung der Daten über Ernährung und der Daten über das Mikrobiom ergibt sich eine weitere Problematik, da sie aus verschiedenen Quellen stammen. Die Daten des Mikrobioms wurden laborchemisch und technisch sehr genau erfasst, während

die Daten der Ernährung, wie geschildert, Schwächen aufweisen könnten. Durch diese Unterschiedlichkeit der Datenerhebung ergibt sich möglicherweise auch eine Unterschiedlichkeit der Datenqualität, welche eine Gegenüberstellung der Daten weniger korrekt werden lässt.

Da es sich um eine retrospektive Datenanalyse handelt, könnten sich weitere Schwäche ergeben haben. Es wurden zum Zeitpunkt der Studie nur die befragten Daten erfasst, während relevante Faktoren eventuell fehlen könnten. Ein fehlender Faktor ist, dass in Ernährungsfragebögen nicht erfasst wurde, ob die Studienteilnehmer*innen Supplemente wie B-Vitamine zu sich nehmen. Da nur bereits dokumentierte Variablen zur Verfügung stehen, hat man möglicherweise nur eine begrenzte Kontrolle über die Variablen und andere wichtige Einflüsse bleiben außen vor.

Die Studie lässt keine Kausalitätsaussagen zu. Es können Aussagen der Assoziationen angestellt werden, jedoch bedeutet das keine zwingende Kausalität.

Dokumentationsfehler sind möglich. Es wurde sich zu jeder Zeit um eine vollständige Richtigkeit aller Messmethoden und erfassten Werte bemüht. Trotz des unbedingten Willens aller beteiligten Personen die Fehlerquote auf ein absolutes Minimum zu reduzieren, können Fehler nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

4.2.2. Stärken der Arbeit

Die hier gezeigten Ergebnisse beruhen auf Daten, die in der Vergangenheit erhoben wurden. Die Auswertung erfolgte erst nachträglich, was bedeutet, dass sie keiner Beeinflussung durch Studieninterventionen unterlagen, da die Daten ja bereits vorlagen. Die Daten ermöglichten eine hohe Alltagsnähe, da es um das Ausfüllen von Fragebögen ging und die Stuhl- und Atemproben von den Teilnehmer*innen zuhause erfasst werden konnten. Allerdings kann durch das Wissen um die Studienverwendung ein gewisser Einfluss auf das Verhalten oder die Dokumentation nicht ausgeschlossen werden (Hawthorne-Effekt).⁷⁷

Die Studie erfolgte sehr kosteneffizient. Die Datenerhebung und Datenauswertung, insbesondere die Kosten für die Informationen, die aus den Ernährungsprotokollen gewonnen wurden, waren sehr gering. Aufgrund der geringen Kosten und mit den nun vorliegenden Daten, können Studien mit ähnlichen Fragestellungen sehr leicht und schnell wiederholt werden.

Die Studie umfasst ein Studienkollektiv von 66 Personen, was für diese Fragestellungen eine verhältnismäßig große Zahl darstellt. Das Kollektiv war genau definiert und die 66 Personen waren in 4 Gruppen eingeteilt, was eine gute Vergleichbarkeit der Gruppen ermöglichte. Die große Stichprobengröße, in Anbetracht der verschiedenen Fragestellungen, stellt einen zentralen Vorteil dieser Studie dar. Daraus ergeben sich mehrere Stärken, beispielsweise ermöglicht die Studie eine höhere statistische Aussagekraft als Studien mit kleineren Studienkollektiven. Einzelne Ausreißer und Schwankungen fallen weniger stark ins Gewicht und haben einen geringeren Einfluss auf den Gesamtdurchschnitt. Die Ergebnisse sind robuster und weniger anfällig für den Zufall. Weiterhin erlaubt sie auch differenzierte Analyse mehrerer Subgruppen, wie zum Beispiel der Vergleich der gesunden High Emitter und gesunden Low Emitter, die jeweils immer noch eine Größe von 16 bzw. 17 Personen darstellen.

Die Generalisierbarkeit der Ergebnisse ist durch ein größeres Studienkollektiv eher gegeben als durch ein kleines und die Ergebnisse lassen sich eher auf die Gesamtpopulation übertragen. Außerdem steigt mit mehr Teilnehmer*innen die Wahrscheinlichkeit, echte Effekte oder Unterschiede zu erkennen und kleinere Effekte, die sonst nicht aufgefallen wären, können signifikant werden.

Die Studie stellt eine gute Ausgangslage für die Schaffung von Hypothesen dar und kann eine Basis für weitere Studien geben. Erste Zusammenhänge oder Trends können möglicherweise erkannt werden und diese können in folgenden Studien genauer analysiert werden oder auch eine Grundlage für prospektive Studien darstellen.

4.3. Zusammenfassende Erläuterungen

Um einen Überblick zu geben, sollen die wichtigsten Erkenntnisse und Kernelemente dieser Diskussion hier noch einmal zusammengefasst und festgehalten werden:

1. Low Emitter von CH₄ konsumierten signifikant mehr Kohlenhydrate (Polysaccharide, Stärke und Glykogen) und signifikant weniger B-Vitamine (Vitamin B₃, Vitamin B₅ und Vitamin B₇) als High Emitter.

Möglicherweise bewirkt ein hoher Konsum von Kohlenhydraten eine Verringerung der CH₄-Emissionen oder aber ein hoher Konsum der B-Vitamine zieht eine Erhöhung nach sich, das heißt je mehr B-Vitamine, desto eher tritt eine Erhöhung des CH₄ ein (Theorie des Mehrkonsums).

Umgekehrt bewirkt womöglich ein geringer Konsum von Kohlenhydraten eine Erhöhung der CH₄-Emissionen oder etwa ein geringer Konsum von B-Vitaminen zieht eine Verringerung der CH₄-Emissionen nach sich, also z.B. „je weniger B-Vitamine, desto weniger Methan“ (Theorie des Minderkonsums).

2. Vegetarier*innen sind seltener High Emitter und Omnivore sind häufiger High Emitter von CH₄. Vegetarier*innen sind eher Low Emitter von Methan. Möglicherweise führt eine vegetarische Ernährung zu geringeren Methan-Emissionen.
3. Das Archaeom ist bei High Emittlern vielfältiger als bei Low Emittlern. Die signifikanten Unterschiede in den Diversitätsindices hinsichtlich des gesamten Mikrobioms zwischen High und Low Emittlern lassen annehmen, dass das Mikrobiom der High Emitter vielfältiger ist.
4. Das Archaeom ist bei gesunden und kranken Personen gleich. Es wurden keine signifikant unterschiedlichen Diversitätswerte zwischen gesunden und kranken Personen gemessen.
5. Gesunde High Emitter weisen die höchsten Diversitätswerte des Mikrobioms auf.

4.4. Ausblick für weiterführende Forschung

Im Folgenden sollen weitere Überlegungen angestellt werden, die Denkanstöße für folgende Forschungen sein können. Fragen, die noch geklärt werden sollten, betreffen insbesondere die Ernährung bestimmter Lebensmittel und ihren Effekt auf die Archaeen.

Weitere Forschungen, die die Zusammenhänge zwischen der Ernährung bestimmter Lebensmittel und dem Methanausstoß betreffen, sollten angestellt werden. Es wurde erwähnt, dass möglicherweise bestimmte Kohlenhydrate (Glykogen, Polysaccharide, Stärke) mit einem erhöhten Methanausstoß oder bestimmte B-Vitamine (B₃, B₅, B₇) mit geringerem Methanausstoß assoziiert sind.

Möglich wäre jedoch auch, dass ein Zusammenspiel der Variablen für den erhöhten oder verringerten Methanausstoß ausschlaggebend sein könnte. Weitere Analysen könnten durch die multivariate Analyse, beispielsweise eine Regressionsanalyse, angestellt werden.

Dabei wird geprüft, inwieweit die Nährstoffgruppen jeweils unabhängig voneinander den Methanausstoß bewirken, oder ob sie einander beeinflussen.

Es muss auch noch im Einzelnen geklärt werden, ob bestimmte Kohlenhydrate bestimmte Wirkungen nach sich ziehen, dabei sollte vor allem das Glykogen untersucht werden. Auch der Effekt der B-Vitamine auf die Archaeen und die Methanproduktion kann weitere Forschungsfragen umfassen. Man könnte beispielsweise, im Rahmen einer prospektiven Studie, Personen eine Ernährung anbieten, die einen Schwerpunkt auf die Vitamine B₃, B₅ und B₇ legt und die expiratorischen Methanwerte vor und nach der Diät messen, um so zu testen, ob eine erhöhte Aufnahme der Vitamine zu erhöhten Methanwerten führt.

Auch die Frage nach geringeren Methanwerten bei der vegetarischen Ernährung ist von großem Interesse. Um verschiedene Ernährungsweisen und deren Wirkungen auf die Methanemissionen des Menschen zu überprüfen, wäre ein Vergleich zwischen omnivor, vegetarisch und vegan lebenden Menschen sehr interessant, um festzustellen, ob die überwiegende oder rein pflanzliche Ernährung einen ausschlaggebenden Faktor darstellt. Sollte es einen unmittelbaren kausalen Zusammenhang zwischen vegetarischer Ernährung und weniger Methanemission geben, wäre es ebenfalls von Interesse, wie lange Menschen vegetarisch leben müssten, bis sich ein Effekt zeigt und wie lange dieser Effekt anhält.

Sollte es sich bestätigen, dass eine vegetarische Ernährung zu geringeren Methanwerten führt, hätte dies unmittelbaren Einfluss auf die klinische Praxis. Da eine zu große Methanproduktion im menschlichen Verdauungstrakt mit verschiedenen Krankheiten assoziiert ist,^{25,38} könnte man bei erkrankten Patienten eine pflanzenbasierte Ernährung priorisieren, um ihre Symptome zu lindern.

Von Bedeutung für den Zusammenhang von Ernährung und Gesundheit und auch als Orientierung für weitere Studien ist die erwähnte EPIC-Studie (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition), welche die Daten von über 500.000 Studienteilnehmer in 10 europäischen Ländern auswertet.⁷⁸ Die großangelegte Studie untersucht die Zusammenhänge zwischen Ernährung und verschiedenen Krankheiten, vor allem mehreren Krebsarten, und kam bislang zu einigen bedeutenden Ergebnissen, wie unter anderem, dass die Einhaltung einer mediterranen Diät einen protektiven Faktor für kolorektalen Krebs und Brustkrebs darstellt.⁷⁹ Die Auswertung der Daten der Studie ist noch nicht abgeschlossen und es werden sicherlich noch weitere wichtige Ergebnisse zutage treten, weswegen ein Verfolgen der weiteren Studienergebnisse von großem Interesse für die weitere Forschung und auch die klinischen Konsequenzen darstellt.

Die Kombination von erhöhter Biodiversität und erhöhtem Vorkommen von Methanbildnern ist ebenfalls von Interesse. Man könnte sich die Frage stellen, ob eine erhöhte Alpha-Diversität des Mikrobioms ein Vorkommen von methanbildenden Archaeen begünstigt. Hierfür müsste man in weiteren Studien überprüfen, ob sich Assoziationen oder sogar Kausalitäten offenlegen lassen. Laut unseren Ergebnissen steht nur fest, Menschen mit erhöhten Methanwerten haben ein vielfältigeres und dadurch komplexeres Mikrobiom.

Die Methanogenese und die Archaeen im menschlichen Körper bleiben weiterhin ein faszinierendes Thema und es bedarf vieler weiterer Forschung, um die Verhältnisse zu klären und die noch offenen Fragen zu beantworten.

Folgestudien sollen diese Arbeit als Grundstein für weiterführende Studien verwenden und darauf aufbauen.

5. Literaturverzeichnis

1. Barko PC, McMichael MA, Swanson KS, Williams DA. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *J Vet Intern Med.* 2018;32(1):9–25.
2. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* März 2018;16(3):143–55.
3. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the Human Microbiome. *Nutr Rev.* August 2012;70(Suppl 1):S38–44.
4. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MCC, Charles T, u. a. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome.* 30. Juni 2020;8(1):103.
5. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 19. August 2016;14(8):e1002533.
6. Daniel H. Diet and Gut Microbiome and the “Chicken or Egg” Problem. *Front Nutr.* 1. Februar 2022;8:828630.
7. Bianconi E, Piovesan ,Allison, Facchin ,Federica, Beraudi ,Alina, Casadei ,Raffaella, Frabetti ,Flavia, u. a. An estimation of the number of cells in the human body. *Ann Hum Biol.* 1. November 2013;40(6):463–71.
8. Conz A, Salmona M, Diomede L. Effect of Non-Nutritive Sweeteners on the Gut Microbiota. *Nutrients.* 13. April 2023;15(8):1869.
9. Natalini JG, Singh S, Segal LN. The dynamic lung microbiome in health and disease. *Nat Rev Microbiol.* 2023;21(4):222–35.
10. Sasso JM, Ammar RM, Tenchov R, Lemmel S, Kelber O, Grieswelle M, u. a. Gut Microbiome–Brain Alliance: A Landscape View into Mental and Gastrointestinal Health and Disorders. *ACS Chem Neurosci.* 8. Mai 2023;14(10):1717–63.
11. Cryan JF, O’Riordan KJ, Cowan CSM, Sandhu KV, Bastiaanssen TFS, Boehme M, u. a. The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiol Rev.* Oktober 2019;99(4):1877–2013.
12. Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res.* 27. April 2017;4:14.
13. Tierney BT, Yang Z, Lubber JM, Beaudin M, Wibowo MC, Baek C, u. a. The Landscape of Genetic Content in the Gut and Oral Human Microbiome. *Cell Host Microbe.* 14. August 2019;26(2):283-295.e8.
14. Stiemsma LT, Nakamura RE, Nguyen JG, Michels KB. Does Consumption of Fermented Foods Modify the Human Gut Microbiota? *J Nutr.* Juli 2020;150(7):1680–92.

15. Duller S, Moissl-Eichinger C. Archaea in the Human Microbiome and Potential Effects on Human Infectious Disease. *Emerg Infect Dis.* August 2024;30(8):1505–13.
16. Hoegenauer C, Hammer HF, Mahnert A, Moissl-Eichinger C. Methanogenic archaea in the human gastrointestinal tract. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* Dezember 2022;19(12):805–13.
17. Borrel G, Brugère JF, Gribaldo S, Schmitz RA, Moissl-Eichinger C. The host-associated archaeome. *Nat Rev Microbiol.* November 2020;18(11):622–36.
18. Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* November 1977;74(11):5088–90.
19. van Wolferen M, Pulschen A, Baum B, Gribaldo S, Albers SV. The Cell Biology of Archaea. *Nat Microbiol.* 1. November 2022;7(11):1744–55.
20. Rao YZ, Li YX, Li ZW, Qu YN, Qi YL, Jiao JY, u. a. Metagenomic Discovery of “Candidatus Parvarchaeales”-Related Lineages Sheds Light on Adaptation and Diversification from Neutral-Thermal to Acidic-Mesothermal Environments. *mSystems.* 8(2):e01252-22.
21. Bueno de Mesquita CP, Wu D, Tringe SG. Methyl-Based Methanogenesis: an Ecological and Genomic Review. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* 87(1):e00024-22.
22. Shima S, Huang G, Wagner T, Ermler U. Structural Basis of Hydrogenotrophic Methanogenesis. *Annu Rev Microbiol.* 8. September 2020;74(1):713–33.
23. Chaudhary PP, Conway PL, Schlundt J. Methanogens in humans: potentially beneficial or harmful for health. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1. April 2018;102(7):3095–104.
24. Mei R, Kaneko M, Imachi H, Nobu MK. The origin and evolution of methanogenesis and Archaea are intertwined. *PNAS Nexus.* 31. Januar 2023;2(2):pgad023.
25. Kumpitsch C, Fischmeister FPhS, Mahnert A, Lackner S, Wilding M, Sturm C, u. a. Reduced B12 uptake and increased gastrointestinal formate are associated with archaeome-mediated breath methane emission in humans. *Microbiome.* 24. September 2021;9:193.
26. Kuehnast T, Kumpitsch C, Mohammadzadeh R, Weichhart T, Moissl-Eichinger C, Heine H. Exploring the human archaeome: its relevance for health and disease, and its complex interplay with the human immune system. *FEBS J* [Internet]. [zitiert 19. Dezember 2024];n/a(n/a). Verfügbar unter: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/febs.17123>
27. Zhang P. Influence of Foods and Nutrition on the Gut Microbiome and Implications for Intestinal Health. *Int J Mol Sci.* 24. August 2022;23(17):9588.
28. Moszak M, Szulińska M, Bogdański P. You Are What You Eat—The Relationship between Diet, Microbiota, and Metabolic Disorders—A Review. *Nutrients.* 15. April 2020;12(4):1096.

29. Campaniello D, Corbo MR, Sinigaglia M, Speranza B, Racioppo A, Altieri C, u. a. How Diet and Physical Activity Modulate Gut Microbiota: Evidence, and Perspectives. *Nutrients*. 14. Juni 2022;14(12):2456.
30. Haro C, Montes-Borrego M, Rangel-Zúñiga OA, Alcalá-Díaz JF, Gómez-Delgado F, Pérez-Martínez P, u. a. Two Healthy Diets Modulate Gut Microbial Community Improving Insulin Sensitivity in a Human Obese Population. *J Clin Endocrinol Metab*. 1. Januar 2016;101(1):233–42.
31. Pencharz PB, Elango R, Wolfe RR. Recent developments in understanding protein needs – How much and what kind should we eat? *Appl Physiol Nutr Metab*. Mai 2016;41(5):577–80.
32. Kanno N, Kato S, Itoh T, Ohkuma M, Shigeto S. Resonance Raman analysis of intracellular vitamin B12 analogs in methanogenic archaea. *Anal Sci Adv*. 9. Januar 2022;3(5–6):165–73.
33. Iebba V, Totino V, Gagliardi A, Santangelo F, Cacciotti F, Trancassini M, u. a. Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota.
34. Cresci GA, Bawden E. The Gut Microbiome: What we do and don't know. *Nutr Clin Pract Off Publ Am Soc Parenter Enter Nutr*. Dezember 2015;30(6):734–46.
35. Mohammadzadeh R, Mahnert A, Duller S, Moissl-Eichinger C. Archaeal key-residents within the human microbiome: characteristics, interactions and involvement in health and disease. *Curr Opin Microbiol*. 1. Juni 2022;67:102146.
36. Hammer HF, Fox MR, Keller J, Salvatore S, Basilisco G, Hammer J, u. a. European guideline on indications, performance, and clinical impact of hydrogen and methane breath tests in adult and pediatric patients: European Association for Gastroenterology, Endoscopy and Nutrition, European Society of Neurogastroenterology and Motility, and European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition consensus. *United Eur Gastroenterol J*. 25. August 2021;10(1):15–40.
37. Mafra D, Ribeiro M, Fonseca L, Regis B, Cardozo LFMF, Fragoso Dos Santos H, u. a. Archaea from the gut microbiota of humans: Could be linked to chronic diseases? *Anaerobe*. Oktober 2022;77:102629.
38. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, u. a. Hydrogen and Methane-Based Breath Testing in Gastrointestinal Disorders: The North American Consensus. *Am J Gastroenterol*. Mai 2017;112(5):775–84.
39. Duller S, Vrbancic S, Szydlowski Ł, Mahnert A, Blohs M, Predl M, u. a. Targeted isolation of *Methanobrevibacter* strains from fecal samples expands the cultivated human archaeome. *Nat Commun*. 31. August 2024;15(1):7593.
40. Gottlieb K, Le C, Wachter V, Sliman J, Cruz C, Porter T, u. a. Selection of a cut-off for high- and low-methane producers using a spot-methane breath test: results from a large north American dataset of hydrogen, methane and carbon dioxide measurements in breath. *Gastroenterol Rep*. 1. August 2017;5(3):193–9.

41. Haftenberger M, Heuer T, Heidemann C, Kube F, Krems C, Mensink GB. Relative validation of a food frequency questionnaire for national health and nutrition monitoring. *Nutr J*. 14. September 2010;9:36.
42. Österreichische Nährwerttabelle ÖNWT - ÖNWT - Die österreichische Nährwerttabelle [Internet]. [zitiert 27. Juli 2025]. Verfügbar unter: <https://www.oenwt.at/>
43. BLS [Internet]. [zitiert 27. Juli 2025]. Verfügbar unter: <https://www.blsdb.de/>
44. Betz C, Mannsdörfer K, Bischoff SC. Validierung des IBS-SSS. *Z Für Gastroenterol*. Oktober 2013;51(10):1171–6.
45. Francis CY, Morris J, Whorwell PJ. The irritable bowel severity scoring system: a simple method of monitoring irritable bowel syndrome and its progress. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997;11(2):395–402.
46. Zhang J, Chiodini R, Badr A, Zhang G. The impact of next-generation sequencing on genomics. *J Genet Genomics*. 20. März 2011;38(3):95–109.
47. Wood DE, Salzberg SL. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biol*. 2014;15(3):R46.
48. Hu T, Chitnis N, Monos D, Dinh A. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Hum Immunol*. 1. November 2021;82(11):801–11.
49. Rizzo JM, Buck MJ. Key Principles and Clinical Applications of “Next-Generation” DNA Sequencing. *Cancer Prev Res (Phila Pa)*. 5. Juli 2012;5(7):887–900.
50. Voelkerding KV, Dames SA, Durtschi JD. Next-Generation Sequencing: From Basic Research to Diagnostics. *Clin Chem*. 1. April 2009;55(4):641–58.
51. Kieser S, Brown J, Zdobnov EM, Trajkovski M, McCue LA. ATLAS: a Snakemake workflow for assembly, annotation, and genomic binning of metagenome sequence data. *BMC Bioinformatics*. 22. Juni 2020;21(1):257.
52. Wood DE, Lu J, Langmead B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol*. 28. November 2019;20(1):257.
53. Lu J, Breitwieser FP, Thielen P, Salzberg SL. Bracken: estimating species abundance in metagenomics data. *PeerJ Comput Sci*. 2. Januar 2017;3:e104.
54. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*. 30. Juli 2015;3(1):31.
55. jenniferlu717. KrakenTools/kreport2mpa.py at master · jenniferlu717/KrakenTools [Internet]. GitHub. [zitiert 28. Juli 2025]. Verfügbar unter: <https://github.com/jenniferlu717/KrakenTools/blob/master/kreport2mpa.py>
56. Cassol I, Ibañez M, Bustamante JP. Key features and guidelines for the application of microbial alpha diversity metrics. *Sci Rep*. 3. Januar 2025;15:622.

57. Pallmann P, Schaarschmidt F, Hothorn LA, Fischer C, Nacke H, Priesnitz KU, u. a. Assessing group differences in biodiversity by simultaneously testing a user-defined selection of diversity indices. *Mol Ecol Resour.* November 2012;12(6):1068–78.
58. Mika J, Polanska A, Blenman KR, Pusztai L, Polanska J, Candéias S, u. a. A comprehensive evaluation of diversity measures for TCR repertoire profiling. *BMC Biol.* 14. Mai 2025;23:133.
59. Plassais J, Gbikpi-Benissan G, Figarol M, Scheperjans F, Gorochov G, Derkinderen P, u. a. Gut microbiome alpha-diversity is not a marker of Parkinson’s disease and multiple sclerosis. *Brain Commun.* 1. Juni 2021;3(2):fcab113.
60. Hagerty SL, Hutchison KE, Lowry CA, Bryan AD. An empirically derived method for measuring human gut microbiome alpha diversity: Demonstrated utility in predicting health-related outcomes among a human clinical sample. *PLoS ONE.* 2. März 2020;15(3):e0229204.
61. Lemos LN, Fulthorpe RR, Triplett EW, Roesch LFW. Rethinking microbial diversity analysis in the high throughput sequencing era. *J Microbiol Methods.* 1. Juli 2011;86(1):42–51.
62. Kim BR, Shin J, Guevarra RB, Lee JH, Kim DW, Seol KH, u. a. Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities. *J Microbiol Biotechnol.* 28. Dezember 2017;27(12):2089–93.
63. Ralls MW, Miyasaka E, Teitelbaum DH. Intestinal Microbial Diversity and Perioperative Complications. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2014;38(3):392–9.
64. Madigan KE, Bundy R, Weinberg RB. Distinctive Clinical Correlates of Small Intestinal Bacterial Overgrowth with Methanogens. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 1. Juli 2022;20(7):1598-1605.e2.
65. Hanišáková N, Vítězová M, Rittmann SKMR. The Historical Development of Cultivation Techniques for Methanogens and Other Strict Anaerobes and Their Application in Modern Microbiology. *Microorganisms.* Februar 2022;10(2):412.
66. Tanner RS, Wolfe RS. Nutritional requirements of *Methanomicrobium mobile*. *Appl Environ Microbiol.* März 1988;54(3):625–8.
67. Bougouin A, Ferlay A, Doreau M, Martin C. Effects of carbohydrate type or bicarbonate addition to grass silage-based diets on enteric methane emissions and milk fatty acid composition in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1. Juli 2018;101(7):6085–97.
68. Gonzalez-Ordenes F, Herrera-Soto N, Muñoz SM, Vallejos-Baccelliere G, Herrera SM, Aravena-Valenzuela I, u. a. Glycogen metabolism in methanogens: A key pathway for metabolic response to nutrient availability. *Biochem Biophys Res Commun.* 20. Dezember 2024;739:150978.
69. Santiago-Martínez MG, Encalada R, Lira-Silva E, Pineda E, Gallardo-Pérez JC, Reyes-García MA, u. a. The nutritional status of *Methanosarcina acetivorans*

- regulates glycogen metabolism and gluconeogenesis and glycolysis fluxes. *FEBS J.* 2016;283(10):1979–99.
70. Calder PC, Geddes R. Post mortem glycogenolysis is a combination of phosphorolysis and hydrolysis. *Int J Biochem.* 1990;22(8):847–56.
 71. Rosenvold K, Petersen JS, Lwerke HN, Jensen SK, Therkildsen M, Karlsson AH, u. a. Muscle glycogen stores and meat quality as affected by strategic finishing feeding of slaughter pigs. *J Anim Sci.* Februar 2001;79(2):382–91.
 72. Matijašić BB, Obermajer T, Lipoglavšek L, Grabnar I, Avguštin G, Rogelj I. Association of dietary type with fecal microbiota in vegetarians and omnivores in Slovenia. *Eur J Nutr.* 1. Juni 2014;53(4):1051–64.
 73. Ruengsomwong S, Korenori Y, Sakamoto N, Wannissorn B, Nakayama J, Nitisinprasert S. Senior Thai Fecal Microbiota Comparison Between Vegetarians and Non-Vegetarians Using PCR-DGGE and Real-Time PCR. *J Microbiol Biotechnol.* 28. August 2014;24(8):1026–33.
 74. Beam A, Clinger E, Hao L. Effect of Diet and Dietary Components on the Composition of the Gut Microbiota. *Nutrients.* 15. August 2021;13(8):2795.
 75. Scarborough P, Appleby PN, Mizdrak A, Briggs ADM, Travis RC, Bradbury KE, u. a. Dietary greenhouse gas emissions of meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans in the UK. *Clim Change.* 2014;125(2):179–92.
 76. Key TJ, Papier K, Tong TY. Plant-based diets and long-term health: findings from the EPIC-Oxford study. *Proc Nutr Soc.* 1. Mai 2022;81(2):190–8.
 77. McCambridge J, Witton J, Elbourne DR. Systematic review of the Hawthorne effect: New concepts are needed to study research participation effects. *J Clin Epidemiol.* März 2014;67(3):267–77.
 78. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N, Ferrari P, Norat T, Fahey M, u. a. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection. *Public Health Nutr.* Dezember 2002;5(6b):1113–24.
 79. Ubago-Guisado E, Rodríguez-Barranco M, Ching-López A, Petrova D, Molina-Montes E, Amiano P, u. a. Evidence Update on the Relationship between Diet and the Most Common Cancers from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Study: A Systematic Review. *Nutrients.* 13. Oktober 2021;13(10):3582.