

Aufgaben und Möglichkeiten der Isotopenverhältnisanalytik in der Herkunfts- und Authentizitätsuntersuchung von Fleisch

Positionspapier der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, erarbeitet von der Arbeitsgruppe Stabilisotopenanalytik, veröffentlicht in Lebensmittelchemie, 61, 105-106 (2007)

Die Kontrolle der Produktion und die Bestimmung der Herkunft von Fleisch sind besonders sensible Bereiche der Lebensmittelanalytik, vor allem nach der BSE-Krise und den verschiedenen "Gammelfleisch-Skandalen" der letzten Jahre. Nach der Aufstellung allgemeiner europäischer Rechtsnormen für den Verbraucherschutz im Lebensmittelbereich (Verordnung (EWG) Nr. 2081/92) mit Einführung der Qualitätsbezeichnungen "geschützte Ursprungsbezeichnung" und "geschützte geographische Angabe" wurden außerdem mit der Verordnung (EG) Nr. 1760/2000 ein verpflichtendes System zur Kennzeichnung und Registrierung von Rindern und mit der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 die Rückverfolgbarkeit verpflichtend vorgeschrieben; entsprechende Vorschriften gibt es auch für Fisch (Verordnung (EG) Nr. 104/2000). Die Verordnungen wurden schließlich durch die Definitionen von Bioprodukten bzw. den Kennzeichnungsvorschriften von Produkten des ökologischen Landbaus, (Verordnung EWG Nr. 2092/91) ergänzt.

Da die genannten Kennzeichnungselemente für Herkunftsangaben und ökologische Herstellung Qualitätsangaben sind, auf Grund deren höhere Preise erhalten werden können, ist mit falschen Bezeichnungen und Etikettenschwindel ein unrechtmäßiger Gewinn beim Verbraucher oder über Subventionsbetrug vom Staat zu erzielen. Für die Kontrolle entsprechender Angaben bzw. den Nachweis von irreführenden Angaben bezüglich der Herkunft und des Erzeugungsprozesses bei Fleisch gibt es verschiedene Verfahren, z. B. die Bestimmung von Biomarkern (definierte organische Inhaltsstoffe, Spurenelemente), genetische Methoden sowie die Analyse der Isotopenverhältnisse der Bioelemente. Das zuletzt genannte Verfahren ist das preiswerteste und oft das zuverlässigste, und es hat daher generelle Bedeutung gewonnen.

Bei der Stabilisotopenanalyse wird die Biomasse mit Methoden der Elementaranalyse aufgeschlossen; die entstehenden Messgase (H_2 , CO_2 , CO , N_2 und SO_2) werden in Isotopenverhältnis-Massenspektrometern ionisiert, und das Verhältnis der Isotope der Bioelemente wird über die Ionenströme der entsprechenden isotopologen Moleküle (z.B. $^{14}N_2/^{14}N^{15}N$, Massen 28/29) bestimmt [1]. Die Isotopencharakteristika einer Probe im natürlichen Häufigkeitsbereich werden in δ -Werten angegeben, das sind ihre Isotopenverhältnisse relativ zu jenen eines internationalen Standards.

Grundlage für die Zuordnung der Herkunft und der Entstehung von Lebensmitteln ist der Zusammenhang zwischen der Biosynthese und den Isotopenverhältnissen von Naturstoffen [2]. Die Isotopenverhältnisse der Bio-Elemente in Lebensmitteln werden zunächst durch die der jeweiligen Primärstoffe (H_2O , CO_2 , verschiedene N- bzw. S-haltige Verbindungen), dann durch Isotopeneffekte bei der Biosynthese festgelegt. Umgekehrt bewahren die Isotopenverhältnisse von Lebensmitteln Informationen über Ort und Bedingungen ihrer Entstehung. Da z.B. Wasserdampf gegenüber flüssigem Wasser immer an schweren Isotopen angereichert ist, sind Niederschläge umso "leichter", je weiter entfernt vom Ozean sie fallen (Kontinentaleffekt). Es ist auch zu berücksichtigen, dass lokales Wasser nicht nur Grundstoff für das an der Biomasse physikalisch gebundene Wasser, sondern auch für deren chemisch gebundene H- und O-Atome ist.

Der Kohlenstoff-Isotopengehalt pflanzlicher Biomasse wird vor allem durch Isotopeneffekte auf die Primärreaktionen der Photosynthese bestimmt; diese sind insbesondere für C_3 - bzw. C_4 -Pflanzen verschieden, sie werden aber auch durch örtliche klimatische Einflüsse moduliert. Den größten Einfluss auf das Stickstoff-Isotopenverhältnis von pflanzlicher Biomasse hat die Düngung am Ort der Entstehung, während das Schwefel-Isotopenverhältnis eher auf lokale geologische Gegebenheiten zurückgeht. Ein besonders wichtiger Indikator für örtliche geologische Besonderheiten bei der Entstehung von Biomasse ist außerdem das Verhältnis der Strontium-Isotope $^{87}Sr/^{86}Sr$.

In Nahrungsketten werden die Isotopencharakteristika pflanzlicher Biomasse auf Tiere übertragen [3]. Dabei beginnt die Nahrungskette für im Wasser lebende Tiere mit um ca. 8 o/oo "schwererem"

Kohlenstoff als für Landtiere, und unter diesen werden jene um so "schwerer", die einen größeren Anteil an Pflanzen mit C₄-Stoffwechsel (vor allem Mais) in der Nahrung haben. Meistens ergeben sich natürlich Mischwerte: So setzt sich das Körperwasser von Tieren aus dem Trinkwasser, dem Wasser in der Nahrung und dem bei deren Abbau entstehenden Oxidationswasser zusammen. Diesem Einfluss der Nahrung auf die Isotopencharakteristika tierischer Biomasse überlagern sich Verschiebungen bei deren Assimilation ("You are what you eat plus a few permille"). Im Allgemeinen beobachtet man für Fleisch eine Anreicherung von 1.5 – 3.0 o/oo an ¹⁵N und 1.0 – 2.0 o/oo an ¹³C gegenüber dem Mittelwert der Nahrung der Tiere. Diese Verschiebung hängt aber auch von der Art des Tieres, seinem Alter und seinem Ernährungszustand ab, sie ist für die einzelnen Gewebe etwas verschieden, und sie benötigt für die Erreichung eines konstanten Maximalwertes gegenüber der Nahrung individuelle Zeiten.

Wegen dieser komplexen Zusammenhänge bedarf es für die Herkunftszuordnung und die Authentizitätsprüfung unbekannter Proben der Prüfung möglich verschiedener Parameter und der Erarbeitung verschiedener Informationen, also des Einsatzes der Multielement-Isotopenverhältnisanalyse, und zur Beurteilung eines Produktes, der Verfügbarkeit von Vergleichproben sowie einer großen Erfahrung zur Interpretation der Daten. Deshalb werden zwischen verschiedenen Laboratorien Standardproben ausgetauscht; und so wird der Aufbau internationaler Datenbanken, auch für Fleisch, durch die EU gefördert. Mehrere Mitglieder der AG sind z.B. am EU-Projekt TRACE (TRACEability of Food Commodities in Europe, www.trace.eu.org) beteiligt. Vorteilhaft ist es auch, zur Herkunftszuordnung von Fleisch neben der Multielement-Isotopenverhältnisanalyse der fettfreien Trockenmasse ($\delta^2\text{H}$ -, $\delta^{13}\text{C}$ -, $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{34}\text{S}$ -, eventuell $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte) den $\delta^{18}\text{O}$ -Wert des Gewebewassers, den $\delta^2\text{H}$ - und den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert sowie eventuell zusätzlich das Fettsäurespektrum des Fettes zu bestimmen ("Multi-Komponenten-Analyse") und schließlich die Daten für authentische Proben statistisch auszuwerten und darzustellen ("Varianzanalyse").

Selbstverständlich sind nicht für jede Fragestellung alle möglichen Untersuchungen unabdingbar, aber vielfach liefern moderne Instrumente bei der Multielement- Isotopenanalyse bereits automatisch mehrere Werte in einem einzigen Analysengang.

Vor diesem Hintergrund und auf der Basis von ca. 30 Originalarbeiten [Beispiele 3-8] zur Herkunfts- und Authentizitätsuntersuchung von Fleisch mit Hilfe der Stabilisotopenanalytik können heute für die Leistungsfähigkeit der Methode folgende Feststellungen getroffen werden:

- 1) Die Isotopenanalytik erlaubt nicht eine weltweite absolute Herkunftszuordnung unbekannter Proben, was jedoch auch zunächst nicht erforderlich ist; sie ermöglicht aber grundsätzlich, Angaben über Herkunft und Erzeugung von Fleisch, insbesondere im Vergleich mit authentischen Proben oder mit Datenbanken, auf ihre Richtigkeit zu kontrollieren.
- 2) Die Zuordnung von Rind- und Lammfleisch zur Herkunft aus Europa, Argentinien, USA und Neuseeland ist alleine mit Hilfe der Multielement-Isotopenanalyse an der fettfreien Trockenmasse mit mindestens 80-proz. Sicherheit möglich. Für Proben innerhalb der genannten Bereiche ist von einer Wahrscheinlichkeit einer richtigen Zuordnung je nach Region zwischen 60 und 100 % auszugehen; zur Erhöhung der Sicherheit bei der Zuordnung ist hier aber häufig eine Kombination der Stabilisotopenanalytik mit anderen Untersuchungsverfahren (z.B. Bestimmung des Spurenelementmusters mit ICP-MS-Messung und/oder des Fettsäuremusters durch GC) wünschenswert.
- 3) Prüfbar sind auch Angaben über spezielle Tierhaltung. So ist z.B. die Unterscheidung zwischen echtem und gefälschtem Parmaschinken oder die Differenzierung zwischen spanischem, mit Eichelmast erzeugtem Schinken und Surrogaten möglich. Allgemein liegen aber für Schweine- und Geflügelfleisch bisher weniger Daten als für Rind- und Lammfleisch vor. Daten für Fleischwaren (Wurst u.ä.) sind bisher nicht verfügbar.
- 4) Die absolute Unterscheidung des Fleisches von Tieren aus ökologischer bzw. konventioneller Haltung ist nicht möglich; nachprüfbar sind aber Detailangaben über die Ernährung der Tiere, insbesondere bei Verfügbarkeit zusätzlicher Informationen. Wildlachs und andere freilebende Fische sind meist von jenen aus Zucht- und Haltung zu unterscheiden.

Literatur:

1. Sieper H-P, Kupka H-J, Williams T, Rossmann A, Rummel S, Tanz N, Schmidt H-L (2006) *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20:2521-2527
2. Schmidt H-L, Rossmann A, Stöckigt D, Christoph N (2005) *Chem. Unserer Zeit* 39:90-99
3. Schmidt H-L, Rossmann A, Rummel S, Tanz N (2007), *Stable Isotope Analysis for Meat Authenticity and Origin Check*, in Nollet LML, Toldrá F, *Handbook of Muscle Food Analysis*, CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton, Florida, USA, in press
4. Boner M, Förstel H (2004) *Anal. Bioanal. Chem.* 378:301-310
5. Schmidt O, Quilter JM, Bahar B, Moloney AP, Scrimgeour CM, Begley IS, Monahan FJ (2005) *Food Chem.* 91:545-549
6. Molzentin J, Meisel H, Lehmann I, Rehbein H (2007) *Eur. Food Res. Technol.* 224:535-543
7. Rossmann A, Schlicht C. (2007) *Fleischwirtschaft*, im Druck
8. Heaton K, Kelly SD, Hoogewerff J, Woolfe M (2007), *Food Chem.*, in press