

Molekularbiologische Methoden

Selbst kleinste Unterschiede zwischen Individuen sind im genetischen Code der Erbsubstanz (DNA) enthalten. Die meisten Lebensmittel werden aus pflanzlichen oder tierischen Rohstoffen gewonnen und enthalten je nach Verarbeitungsgrad teilweise noch erhebliche Mengen charakteristischer DNA-Sequenzen. So haben eng verwandte Pflanzen und Tiere oft gleiche funktionelle Einheiten (Gene), die in Proteine umgesetzt werden, wie etwa das Gliadin-Gen des Weizens. Doch innerhalb dieser Gene kann es Unterschiede der DNA-Sequenz geben. Darauf aufbauend werden heute viele molekularbiologische Methoden, insbesondere basierend auf der Polymerasekettenreaktion (PCR) auch zur Echtheitsbestimmung in der Lebensmitteluntersuchung eingesetzt. Besonders, wenn eng verwandte Arten oder auch Unterarten zu deutlich unterschiedlichen Preisen gehandelt werden, ist die Gefahr der Verfälschung groß.

Klassische Systematik und Taxonomie des Tier- und Pflanzenreichs

Carl von Linné hat bereits 1735 die heute noch gültigen Grundlagen zur systematischen Einordnung des Tier- und Pflanzenreichs geschaffen. Die typische, sogenannte binäre Bezeichnung von Arten mit Gattung und Art ist nach wie vor gültig: Beispiel: Hartweizen = *Triticum durum*.

Organismen werden wie folgt eingeordnet:

Taxon	Beispiel
Reich	Pflanzen
Abteilung	Bedecktsamer
Unterabteilung	
Stamm	
Klasse	Einkeimblättrige
Ordnung	Süßgräßartige
Familie	Süßgräser (<i>Poaceae</i>)
Gattung	Weizen (<i>Triticum</i>)
Art	Hartweizen (<i>T. durum</i>) Weizen (<i>Triticum aestivum</i>)
Unterart (Subspezies)	Dinkel (<i>T. aestivum ssp. spelta</i>) Gewöhnlicher Weichweizen (<i>T. aestivum ssp. vulgare</i>)

Begehrter Dinkel

Dinkel (*Triticum aestivum ssp. spelta*; auch als Spelz bezeichnet) erfreut sich als traditionelle Getreidesorte nicht nur im Bio-Sektor zunehmender Beliebtheit. Aufgrund der geringeren Erträge und Anbauflächen sowie der aufwendigeren Aufarbeitung (Entfernung der Spelzen) hat Dinkel am Markt einen höheren Preis als der eng verwandte gewöhnliche Weizen (*T. aestivum ssp. vulgare*).

Verdachtsmomente wurden an uns herangetragen, dass Dinkel in Mühlen durch herkömmlichen Weizen verschnitten wird und als „Dinkelmehl“ verarbeitet wird.

Basierend auf ein publiziertes Verfahren haben wir eine PCR-basierte Nachweismethode eingeführt und bei den eingetragenen Dinkelsorten sowie bei Wei-

zen-Referenzmaterial getestet. Nachgewiesen werden Weizen-spezifische Sequenzen auf dem gamma-Gliadin-Gen.

Abbildung: Dinkel



Allerdings sind dem Nachweis Grenzen gesetzt: Bei einigen neueren Dinkelsorten wurde Weizen eingekreuzt. Diese Sorten haben die äußerlichen Eigenschaften von Dinkel (etwa die anhaftenden Spelzen), enthalten jedoch ebenfalls die für die Subspezies *vulgare* von *T. aestivum* typischen DNA-Sequenzen des gamma-Gliadin-Gens. Dazu zählt beispielsweise die Sorte Alkor.

Zusätzliche Anhaltspunkte erhält man über das Fettsäuremuster. Dazu wird besonders das Verhältnis der Fettsäuren C18:1 cis9 (Ölsäure) zu C 16:0 (Palmitinsäure) herangezogen.

Dennoch muss in Verdachtsfällen noch vor Ort ermittelt werden, ob die Verwendung neuerer Dinkelsorten die Ursache für den Befund ist.

Verunreinigung durch Weizen - auch bei Hartweizen ein Thema



Aufgrund seiner typischen Kocheigenschaften ist Hart- oder Durumweizen (*Triticum durum*) für die Herstellung von Nudeln unentbehrlich. Er enthält besonders viel Kleberprotein und weniger Stärke als herkömmlicher Weichweizen. Da Hartweizen warmes und trockenes Klima benötigt, kann er hierzulande nur sehr eingeschränkt angebaut werden. Hauptanbaugebiet in Europa ist Italien, außerdem wird Durumweizen aus den USA und Kanada importiert. Die Verwendung eines möglichst sortenreinen Hartweizens ist wichtiges Qualitätskriterium bei Teigwaren, was auch entsprechend beworben wird. Zwar gibt es keine rechtlich festgelegten Grenzwerte für Fremdgetreide, viele Spezifikationen sehen jedoch maximale Anteile von ca. 1 bis 3 Prozent als tolerierbar an.

Quantifizierung von Weichweizenanteilen möglich

Nicht ganz so schwierig wie bei Dinkel ist die molekularbiologische Differenzierung der unterschiedlichen Spezies *Triticum durum* und *Triticum aestivum*. *T. aestivum* besitzt im Gegensatz zu Hartweizen einen sechsfachen Chromosomensatz, während Hartweizen nur tetraploid ist. Ein Gen in einem dieser zusätzlichen Genome, nämlich das sogenannte Puroindolin-Gen aus dem 5D-Chromosom des Weichweizens, wird daher zum Nachweis von Weichweizen verwendet. Am CVUA steht ein sogenanntes Duplex-real-time PCR Verfahren zur Verfügung. Dabei wird die Menge des Puro-Indolins zu einem Gen, welches in beiden Weizenarten vorkommt, ins Verhältnis gesetzt. Die Methode eignet sich auch zur Bestimmung des Weichweizenanteils bei Teigwaren, die - wie heute üblich - bei höheren Temperaturen getrocknet worden sind.

Verfälschungen bei Basmati

Zu maximal 7 Prozent darf Fremdreis nach einem *Code of Practice* in Basmati, einem wertvollen Duftreis vom Fuße des Himalayas, enthalten sein. Auch sind nur bestimmte Sorten für den Anbau erlaubt.

Eine PCR-basierte Methode (Köppel et al, 2013) wird zur Überprüfung von Proben des Handels eingesetzt. Auffällige Befunde, d.h. gemessene Anteile von Fremdreis über 10 % können mit weiteren molekularbiologischen Verfahren bestätigt werden.



Dem Pferd auf der Spur



Die Verwendung von Pferdefleisch ist grundsätzlich möglich, jedoch ist von Verbrauchertäuschung auszugehen, wenn Pferdefleisch als teilweiser Ersatz für Rindfleisch eingesetzt wird, ohne in der Kennzeichnung hierüber zu informieren.

Für den Nachweis von Pferdefleisch werden vor allem immunologische (ELISA) und molekularbiologische bzw. DNA-analytische (PCR, Real-Time-PCR) Verfahren eingesetzt. Dazu wird beim PCR-Verfahren in einem ersten Arbeitsschritt die Erbsubstanz DNA aus der Lebensmittelprobe extrahiert, in der dann in einem weiteren Schritt die für die jeweilige Tierart spezifischen DNA-Sequenzen nachgewiesen werden. So können z.B. mit diesem Verfahren parallel die Tierarten Pferd, Rind, Schwein und Schaf nachgewiesen werden.

Lachs, Seezunge und Co. - Alles echt?

Seezunge und vor allem Lachsprodukte sind derzeit gefragte Produkte. Aber sind die teilweise teuren Spezialitäten auch „echt“?

Eine ständig wachsende Nachfrage und die Möglichkeiten des globalen Handels haben zu einer starken Zunahme von unterschiedlichen Fischarten auf dem deutschen Markt geführt.

Für den Verbraucher muss jedoch die Fischart klar erkennbar sein, damit er eine fundierte Kaufentscheidung treffen kann. Das CVUA Freiburg überprüft regelmäßig Produkte in Bezug auf die richtige Artenbezeichnung. Die Bestimmung der Fischarten erfolgt mittels molekularbiologischer Methoden (PCR und DNA-Sequenzierung).

Alles Lachs?

Lachs gehört zu den beliebtesten Speisefischen. Zu den Lachsen zählt man die Gattungen *Salmo*, *Salmothymus* und *Oncorhynchus* aus der Familie der Forellenfische (Salmonidae) innerhalb der Ordnung

der Lachsartigen. Wichtigste Vertreter sind der atlantische Lachs (*Salmo salar*) und die pazifischen Lachse (*Oncorhynchus*). Viele Lachse kommen heute aus sogenannten Aquakulturen als preiswerte Tiefkühlware in den Handel, die in Anlehnung an die teureren Wildlachse als „Wildwasserlachs“ oder „Fjordlachs“ bezeichnet sind. Optisch lassen sich Zucht- und Wildlachs für viele Verbraucher jedoch nur am ganzen Tier unterscheiden.

Zur Unterscheidung dieser Arten wird am CVUA Freiburg seit einigen Jahren eine DNA-Analysemethode eingesetzt, die auf den molekularbiologischen Nachweis hochkonservierter Sequenzen aus der mitochondrialen DNA mit anschließender DNA-Sequenzierung beruht. Mitochondrien sind Zellorganellen, die der Energiegewinnung in der Zelle dienen und ein relativ kleines Genom besitzen. Diese Technik erlaubt die Bestimmung der meisten Fischarten in nativen, tiefgekühlten oder stark verarbeiteten Lebensmitteln.



Tierartendifferenzierung bei Fleischerzeugnissen - Verfälschungen auf der Spur

Verfälschungen und Fehletikettierungen bei Erzeugnissen aus Rind, Schwein, Huhn, Pute, Schaf, Ziege, Pferd usw. können mit Hilfe von DNA-analytischen Methoden zuverlässig auch bei Anteilen im Bereich von 1 % und darunter sowie bei erhitzten und stärker verarbeiteten Produkten, beispielsweise in Hühnerbouillons oder Geflügelpasteten, nachgewiesen werden.

Mit Hilfe von empfindlichen, spezifischen Real-time PCR-Verfahren werden Fleischerzeugnisse auf ihre Bestandteile untersucht und auch der relative Mengenanteil der jeweiligen tierart-spezifischen DNA in diesen Erzeugnissen kann in der Regel bestimmt werden. Möglich ist die Bestimmung des prozentualen Anteils einer Tierart am Gesamtanteil des tierischen Gewebes, nicht jedoch die Bestimmung des Fleischanteils am Gesamterzeugnis.