

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 zählen beispielsweise die Sorten Alkor, Sirino oder Schwabenspelz.

In Kooperation mit dem LTZ Karlsruhe versuchen wir daher auch, eine Differenzierung über das Proteinmuster zu etablieren, um ggf. auch einzelne Sorten differenzieren zu können.

Derzeit 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-Indolin-Gens 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.

Kaviar, Lachs, Seezunge und Co. - Alles echt?

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

Alles Lachs?

Lachs gehört heute 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 pazifische 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 anschließendem Restriktions Fragment Längen Polymorphismus (RFLP) beruht. Mitochondrien sind Zellorganellen, die der Energiegewinnung in der Zelle dienen und ein relativ kleines Genom besitzen. Diese Technik erlaubt die Bestimmung der meisten Lachsartigen Fische einschließlich Forellen, Felchen und Äschen in nativen, tiefgekühlten oder stark verarbeiteten Lebensmitteln.



Untersuchung von Kaviar

Zu den teuersten Genussmitteln gehört sicherlich der aus dem Rogen von Stören gewonnene Kaviar. Der „Echte Kaviar“ wird aus unreifen, gesalzene Stör-
eiern hergestellt. Der Preis des Produktes hängt von der Störart, der „Korngröße“, dem spezifischen Geschmack und anderen Faktoren ab. Die Störe werden überwiegend im Kaspischen und Schwarzen Meer gefangen. Vor allem Überfischung und Umweltzerstörung haben in den letzten Jahren zu einer starken Reduzierung der Störbestände und damit einhergehender Verknappung und Verteuerung von „Wildkaviar“ geführt. Mittlerweile existieren strenge Quotenregelungen um den Fortbestand der Störe zu sichern. Da „Zuchtkaviar“ (Zucht von Stören zur Kaviarproduktion) sowie alternative Rogenerzeugnisse von Lachs und Schellfischen (Dorschartige Fische) bei weitem nicht die Bedeutung von „Wildkaviar“ erreichen, floriert der Handel mit illegalen oder gefälschten Kaviarprodukten. Zu Bestimmung der Störarten für die Kaviarherstellung werden ebenfalls DNA-analytische Methoden eingesetzt. Aus den Fischeiern wird dabei die DNA extrahiert und wie bei der Bestimmung der Lachsarten die mitochondriale DNA mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) untersucht. Bei nicht ausreichend gekühlten und oder zu lange gelagerten Kaviarprodukten kann die DNA jedoch schon stark fragmentiert sein.

Im Rahmen einer Schwerpunktaktion wurden Fischrogenerzeugnisse und Kaviarimitate untersucht. Die Bandbreite der Fischarten, deren Rogen zur Kaviar verarbeitet wird, hat in den letzten Jahren zugenommen. Neben dem Klassiker in Deutschland, dem sog. „Deutschen Kaviar“, der überwiegend aus Seehasenrogen hergestellt wird, dominierten Lachskaviar und Forellenkaviar sowie der aus dem Rogen von Lodden (kleinen zu den Lachsartigen gehörenden Meeresfischen) gewonnene „Caviar aus Capelinrogen“.

Auch kaviarähnliche Erzeugnisse wurden untersucht. Derartige Produkte werden aus einer unter Verwendung von Fischbestandteilen und pflanzlichen Zutaten hergestellten, gefärbten und kaviarähnlich ausgeformten Masse hergestellt. Einige dieser Erzeugnisse waren wie echter Kaviar aufgemacht, inclusive der Gestaltung der für echten Kaviar üblicherweise verwendeten Gläserdeckel. Andere Produkte waren klar als Kaviar-Ersatz gekennzeichnet.

Die deklarierte Tierart wurde mittels PCR überprüft und weiter untersucht, wie sich echte Fischrogenerzeugnisse und Imitate voneinander unterscheiden lassen.

Bei den echten Fischrogenerzeugnissen konnte die angegebene Tierart regelmäßig bestätigt werden. Bei den Imitaten dagegen konnte keine Fisch-DNA

extrahiert werden

Sensorisch ließen sich die Imitate von den echten Rogenerzeugnissen gut unterscheiden. Im Aussehen zwar ähnlich, war der Aufbau des Fischrogens mit Hülle und flüssigerem Inhalt im „Erfühlen“ bzw. im „Biss“ deutlich wahrnehmbar. Die einzelnen Körner der Imitate dagegen stellten sich als glasig-kompakte Masse von fest-elastischer Konsistenz dar, erinnerten in Geruch und Geschmack allerdings deutlich an gesalzene Fischrogen. Insofern kann eine Unterscheidung für wenig geübte Verbraucher schwierig sein, vor allem, wenn Deklaration und Aufmachung des Produktes den Eindruck erwecken, als handle sich bei dem Inhalt um Kaviar, zumindest aber um Fischrogen

Als außerordentlich gut geeignet für die Abgrenzung echter Fischrogenerzeugnissen von Imitaten erwies sich die histologische Untersuchung. Durch ihren typischen Aufbau ließen sich die Körner des Fischrogens gut von den homogenen, mit schwarzen Partikeln durchsetzten Imitatkügelchen unterscheiden.

Tierartendifferenzierung bei Fleischerzeugnissen- Verfälschungen auf der Spur

Verfälschungen und Fehletikettierungen bei Erzeugnissen aus Rind, Schwein, Huhn, Pute, Schaf, Ziege und Pferd 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 bestimmt werden. Möglich ist die Bestimmung des prozentualen Anteils einer Tierart am Gesamtanteil des tierischen Gewebes, nicht jedoch die Bestimmung des Fleischanteils am Gesamterzeugnis.