

Aus den Arbeitsgruppen

Stabil seit 25 Jahren

AG Stabilisotopenanalytik: Vom Nischenverfahren zum wertvollen Werkzeug der Lebensmittelanalytik

Lebensmittel bestehen in der Regel aus organischem Material mit den Elementen Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Schwefel - alles Elemente, die in der Natur mit charakteristischen Verhältnissen ihrer stabilen Isotope vorkommen. Ausgehend von der LChG-Arbeitsgruppe (AG) Fruchtsäfte, die sich bereits in den 1980er-Jahren mit ersten isotopenanalytischen Methoden zur Authentizitätsprüfung befasste, wurde 2001 die AG Stabilisotopenanalytik als eigenständige AG ins Leben gerufen und beschäftigt sich nun seit 25 Jahren mit dem Einsatz natürlicher Isotopenverhältnisse zur Prüfung der Authentizität von Lebensmitteln.

Die AG vereint Experten aus Industrie, Handelslaboren, Universitäten, Bundesbehörden und staatlichen Überwachungseinrichtungen, die sich regelmäßig über Isotopenwerte verschiedener Lebensmittel und die Weiterentwicklung der Methode austauschen. Dieser interdisziplinäre Ansatz hat entscheidend zur erfolgreichen Arbeit der AG beigetragen.

Allgemeine Zielsetzungen der AG sind:

- Optimierung und Standardisierung von Messverfahren
- Bereitstellung und Etablierung von Referenzmaterialien
- Erstellung von wissenschaftlichen Positionspapieren zu Methoden und Beurteilungsgrundlagen
- Austausch und Zusammenarbeit mit anderen LChG-Arbeitsgruppen, Arbeitsgemeinschaften für die Stabilisotopenanalytik des CEN, DIN, und § 64 LFGB sowie mit dem nationalen Referenzzentrum für authentische Lebensmittel (NRZ-Authent)
- Generierung und Sammlung von grundlegenden Daten zur Beurteilung von Stabilisotopenverhältnissen
- Unterstützung und wissenschaftliche Beratung beim Aufbau von Datenbanken
- Bereitstellung von Informationen und Fortbildungen

Stabile Isotope – wertvolle Informationsträger in Lebensmitteln

Der Einsatz von Methoden der Stabilisotopenanalytik ist eng verknüpft mit Fragestellungen zur Authentizität von Lebensmitteln, einhergehend mit dem Schutz vor Irreführung und Täuschung bei der Kennzeichnung und Aufmachung von Lebensmitteln.

Die Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS) und die Deuterium-Kernmagnetische Resonanzspektroskopie (^2H -NMR) nutzen das Prinzip, dass sich die schwereren Isotope bei physikalischen Prozessen oder bei biochemischen Reaktionen träger als die leichteren Isotope verhalten. Daraus resultieren minimale Fraktionierungen im Stabilisotopenverhältnis, d. h. dem Mengenverhältnis des schweren zum leichten Isotops. Die Stabilisotopenverhältnisse ermöglichen Rückschlüsse u. a. auf die geografische Herkunft, die Produktionsweise (z. B. Bio), die Mechanismen der Photosynthese und damit des Pflanzentyps oder technologische Verfahren. Ebenso können über Stabilisotopenverhältnisse Stoffe, die nicht aus dem originären Rohstoff stammen, nachgewiesen werden. Zur Beurteilung der Stabilisotopenverhältnisse von Lebensmittelinhaltsstoffen wie Wasser, Zucker oder Aromastoffen sowie der Einordnung einer geografischen Herkunft werden Messwerte von Referenzproben, z. B. in einer Datensammlung, mit denen einer zu überprüfenden Probe verglichen.

Meilensteine der AG

1. Standardisierung

• Methodenentwicklungen

Innerhalb der AG werden regelmäßig laborübergreifende Methodenentwicklungen und Qualitätssicherungen durchgeführt. Diese dienen unter anderem der Harmonisierung von Methoden sowie der Ermittlung von Messunsicherheiten. Ziel ist es dabei, die Ergebnisse weiteren Anwendern zur Verfügung zu stellen und die Arbeiten möglichst zu veröffentlichen. Beispielsweise wurde eine einheitliche Methode zur Gewinnung der Proteinfraction aus Milch entwickelt.

• Vergleichsstudien

Laborübergreifend vergleichbare Ergebnisse sind entscheidend für den Einsatz analytischer Methoden. Das Angebot an Laborvergleichsuntersuchungen für die Stabilisotopenanalytik ist jedoch begrenzt. Insbesondere im Rahmen des AG-internen kleinen Proficiency Tests (KPT) werden seit 2012 regelmäßig mehrmals jährlich Vergleichsmessungen für verschiedenste Materialien durchgeführt. Hierbei werden Wasser oder komplexe Proben wie Algen, Kollagene, Lebensmittel (z. B. Nudeln, Shrimps) mit dem Ziel untersucht, auch Isotopenverhältnisse vergleichbar zu messen, die nicht im „gewöhnlichen“ Messbereich des Gerätes liegen, und somit die IRMS herauszufordern.

• Referenzmaterialien

Ausgewählte Materialien werden z. B. im KPT über mehrere Jahre hinsichtlich der Elemente H, O, C, N und S isotopisch charakterisiert und als Referenzma-

terialien innerhalb und außerhalb der AG zur Verfügung gestellt. Beispielsweise wurde 2018 das „Casein Iso 1“ als Referenzmaterial eingeführt. 2024 haben sich die AG-Mitglieder darauf verständigt, weitere Referenzmaterialien wie Kollagen und Spirulina mehrfach im Jahr zu messen, um ausreichend viele Messwerte für verlässliche Isotopenwerte zu erhalten.

2. Wissenstransfer

• Veranstaltungen

2003: GDCh-Kurs zur „Stabilisotopenanalytik in der Authentizitätsprüfung und der Herkunftszuordnung von Lebensmitteln und deren Inhaltsstoffen“ für Labormitarbeiter aus Überwachung und Industrie.

2020: NRZ-Authent Fachgespräch „Stabilisotopenanalytik“, unterteilt in zwei Themenbereiche:
- Datenschutzrechtliche Aspekte sowie Fragen zur Haftung und Verwertbarkeit der Ergebnisse einer Datenbank
- Erfahrungen und Herausforderungen im Umgang mit Datenbanken und Lösungsansätze für die Erstellung einer Datenbank.

2024: Poster der AG bei den 52. Lebensmittelchemietagen in Freising.

2025: Poster der AG auf der Tagung des Regionalverbands Südwest der LChG in Freiburg.

• Positions- und Grundlagenpapiere [1]

2005: Aktueller Stand der Möglichkeiten zur Unterscheidung von Nahrungsmitteln aus konventioneller bzw. ökologischer Produktion durch Isotopenverhältnisanalyse

2007: Aufgaben und Möglichkeiten der Isotopenverhältnisanalytik in der Herkunfts- und Authentizitätsuntersuchung von Fleisch

2009: Möglichkeiten und Grenzen der Sauerstoff-Isotopenanalyse von Wasser in der Herkunftsbestimmung von Lebensmitteln

2010: Herkunft und Authentizität von Vanillearomen (aktualisiert 2022)

2018: Intra and inter laboratory reference materials for multi element stable isotope analysis in food authentication

2020: Isolierung der Proteinfraction aus Milch zur Analyse der Stabilisotopenverhältnisse

2022: Vanillearomen: Herkunft, Analytik und Charakterisierung der Vanillebestandteile

• Publikationen:

2023: Überprüfung der Authentizität von Vanillearomen[2]

3. Datenaustausch und -sammlungen

• Datenaustausch

Innerhalb der AG werden Daten zu verschiedenen Lebensmitteln und Fragestellungen ausgetauscht und diskutiert. Aufgrund fehlender Harmonisierung der Me-

thoden, EDV-technischer Limitierungen und nicht zuletzt Vorgaben zum Datenschutz besteht eine Rechtsunsicherheit über die Verwendung der Daten. Dennoch ist dieser interne Austausch von Daten sehr wertvoll für die Mitglieder. Die in über 25 Jahren gewonnenen Erfahrungen werden zudem auch in anderen wissenschaftlichen Gremien geteilt und können dort wesentlich zum Aufbau von Datensammlungen beitragen.

• Datensammlung Fruchtsäfte

Bereits bei Gründung der AG im Jahr 2001 wurde vereinbart, eine Datenbank mit Stabilisotopenverhältnissen von authentischen Apfelsaft-Proben aufzubauen. Die Proben wurden überwiegend vom Schutzverband der Fruchtsaftindustrie (SGF International e. V.) zur Verfügung gestellt. Die Stabilisotopenverhältnisse wurden von Mitgliedern der AG bestimmt und die Ergebnisse in einer internen Apfelsaft-Datensammlung der AG erfasst. Die Daten stehen den teilnehmenden Mitgliedern der AG zur Verfügung, um z. B. Prüfungen auf Herkunft, Herstellung (Direktsaft vs. aus Konzentrat) oder Zuckerzusatz durchzuführen. Gerade vor dem Hintergrund immer wieder auftretender extremer klimatischer Bedingungen in einzelnen Erntejahren ist geplant, diese Arbeit fortzuführen und auf andere Fruchtsäfte wie Orangensäfte und Granatapfelsäfte auszuweiten.

4. Kooperationen

• LChG

In Zusammenarbeit mit der AG Aromastoffe ist ein wichtiges Grundlagenpapier der Lebensmittelchemischen Gesellschaft zum Thema „Vanillearomen: Herkunft, Analytik und Charakterisierung von Vanillebestandteilen“ entstanden.

• Normungs-AGs

Einige Mitglieder der AG sind in den Arbeitsgemeinschaften für die Stabilisotopenanalytik des CEN, DIN und § 64 LFGB vertreten. Durch wesentliche Vorarbeiten und Abstimmungen leistet die AG einen wichtigen Beitrag für diese Gremien.

Durch ihre vielfältigen Arbeiten hat die AG Stabilisotopenanalytik entscheidend dazu beigetragen, dass die Methode heute ein unverzichtbares Werkzeug der Lebensmittelanalytik ist.

Beispiele aus der analytischen Arbeit mit Stabilisotopenverhältnissen

Die Beispiele zeigen, wie vielfältig diese komplexe Analytik in unterschiedlichen Anwendungsbereichen eingesetzt werden kann, um die Herkunft oder Verfälschung von Lebensmitteln zu prüfen.

Süßer Betrug im Visier: Honiganalytik mit stabilen Isotopen

Honig ist ein beliebtes Naturprodukt, aber leider auch Zielscheibe raffinierter Lebensmittelverfälschung.

Gängig war lange die Streckung mit billigen Zuckersirupen aus Mais oder Zuckerrohr. Die darin enthaltenen sogenannten C4-Zucker unterscheiden sich in ihrer Kohlenstoffisotopen-Zusammensetzung deutlich von Honig, der aus sogenannten C3-Pflanzen stammt. Der Unterschied entsteht durch zwei verschiedene Fotosynthesewege, die Pflanzen je nach Anpassung an ihre Umwelt nutzen: C3-Pflanzen wie Raps oder Sonnenblumen fixieren CO₂ anders als C4-Pflanzen wie Mais oder Zuckerrohr. Da Bienen beim Sammeln von Nektar fast ausschließlich auf C3-Pflanzen zurückgreifen, ist Honig ein typisches C3-Produkt – und genau das macht ihn isotopenanalytisch klar von Sirupen aus Mais oder Zuckerrohr abgrenzbar.



Seit den späten 1990er Jahren hat sich die EA-IRMS (Elementaranalyse – Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie) als zuverlässige Methode etabliert, die zudem als offizielle AOAC-Methode (AOAC 998.12) anerkannt ist. Sie misst den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Honigs sowie separat den der Proteinfraction, die aus dem Pollen- und Enzymanteil des Honigs stammt. Da beide ursprünglich aus der gleichen Nahrungsquelle stammen, sollten sie einen vergleichbaren Isotopenwert aufweisen. Wird allerdings C4-Zuckersirup zugesetzt, verschiebt sich der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Honigs, während der Wert der Proteinfraction unverändert bleibt. Ist der Unterschied größer als 1,0 ‰ wird der Honig als verfälscht eingestuft.

Diese Methode ist so erfolgreich, dass offensichtliche C4-Verfälschungen heute selten geworden sind. Trotzdem wird die Analyse weiterhin regelmäßig von Behörden und Servicelaboren eingesetzt, um einen hohen Standard der Produktsicherheit zu gewährleisten.

Moderne Weiterentwicklungen wie die LC-IRMS (Liquid Chromatography – IRMS) analysieren gezielt einzelne Zuckerkomponenten im Honig. Dadurch kann C4-Zucker heute noch empfindlicher nachgewiesen werden. In der Praxis wird häufig eine Kombination aus EA- und LC-IRMS angewendet, um C4-

Zuckerverfälschungen mit hoher Sicherheit aufzudecken. Ein Nachweis der Verfälschung mit C3-Zuckern wie Rüben- oder Reissirup ist mit den genannten Methoden nur in sehr begrenztem Umfang möglich. Daher greift man auf ergänzende Untersuchungsverfahren zurück, die diese Lücke schließen sollen.

Vanille – oft verfälscht, sicher erkannt

Vanille und Vanillin aus der Vanilleschote sind überall beliebt und werden gern zum Beispiel in Backwaren, Speiseeis oder Süßwaren eingesetzt. Oft wird mit einer Vanilleblüte oder einer Vanilleschote auf der Verpackung auf dieses beliebte und teure Naturprodukt als Lebensmittelzutat hingewiesen.



Vanillin kann neben der Extraktion aus der Vanilleschote auch biotechnologisch aus anderen Quellen wie der Ferulasäure oder auch synthetisch hergestellt werden. Diese alternativen Herstellungsmöglichkeiten sind preislich deutlich günstiger und bieten eine höhere Verfügbarkeit von Vanillin. Um zu überprüfen, ob der eingesetzte Vanilleextrakt oder das eingesetzte Vanillin tatsächlich aus der Vanilleschote stammt, wird in der Praxis vor allem das Kohlenstoffisotopenverhältnis ($\delta^{13}\text{C}$) herangezogen. Wenn der Aromastoff Vanillin als Reinstoff vorliegt, wird dieser direkt mittels Elementaranalysator (EA-IRMS) umgesetzt. Bei komplexen Matrices wie Aromen oder Lebensmitteln erfolgt zunächst die Extraktion des Vanillins aus der Matrix. Der Extrakt wird gaschromatografisch getrennt, online über einen Reaktor zu CO₂ umgesetzt und dem IRMS zugeführt (GC-C-IRMS). Basierend auf den in der Literatur veröffentlichten mehr als 120 Kohlenstoffisotopendaten für Vanillin, das aus der Vanilleschote stammt, liegt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert im Bereich von –14,6 bis –21,5 ‰.[2] Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von biotechnologisch und synthetischem Vanillin unterscheidet sich signifikant von dem des natürlichen Vanillins, sodass eine Differenzierung anhand des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes möglich ist.

Wein: Isotopenprofile als Schlüssel zur Herkunfts- und Echtheitskontrolle

Die Qualität und die sensorischen Eigenschaften von Wein werden maßgeblich von der geografischen Herkunft, klimatischen Bedingungen, Rebsorte, Erntezeitpunkt sowie Kellertechnik und Lagerung bestimmt. Für Verbraucher sind Herkunftsangaben wichtige Qualitätsmerkmale. Die Isotopenzusammensetzung von Wasserstoff, Sauerstoff und Kohlenstoff im Wein reflektiert die natürlichen Wachstumsbedingungen der Trauben, insbesondere deren Wasseraufnahme und Fotosynthese. Diese Muster bleiben während der Gärung weitgehend erhalten. Die Zugabe von Fremdwasser verändert das Sauerstoff-Isotopenverhältnis und lässt sich mittels IRMS nachweisen. Fremdzucker aus C4-Pflanzen wie Mais beeinflusst das Kohlenstoff-Isotopenverhältnis und ist ebenfalls erkennbar.



Da die Isotopenverhältnisse stark von klimatischen und geografischen Faktoren abhängen, variieren sie charakteristisch zwischen Weinbauregionen. Zur genaueren Prüfung der Herkunft wird daher die IRMS sowie ^2H -NMR eingesetzt. Über diese Methoden können Zusätze von Fremdwasser, Fremdzucker aber auch die engere geografische Herkunft oder der Jahrgang nachgewiesen werden. Die Methoden der Stabilisotopenanalytik für Wein sind von der EU-Kommission und der Internationalen Organisation für Rebe und Wein (OIV) als Referenzmethoden anerkannt.

Seit 1991 werden entsprechend einer amtlichen Verordnung für die EU-Weindatenbank jährlich mehr als 1000 authentische Referenzweine in den weinbaubetriebenden Mitgliedstaaten bereitgestellt. Über den Vergleich mit Referenzwerten aus dieser Datenbank können Fragestellungen zur Herkunft und Echtheit eines Weines beantwortet werden.

Eier – echt regional

Die Wasser- und Futtergrundlage der Legehennen prägen die Stabilisotopenverhältnisse der Eier. Erhal-

ten Legehennen identisches Tränkewasser und Futter, wie dies innerhalb eines Stalls zu erwarten ist, so variieren die Stabilisotopendaten der Eier aus einem Stall nur sehr wenig.



Darüber hinaus stehen die Isotopenverhältnisse von Wasserstoff und Sauerstoff des Wassers in engem Zusammenhang mit den vorherrschenden klimatischen Bedingungen und können charakteristisch für die geografische Herkunft sein. Für eine Differenzierung ist Voraussetzung, dass sich die Isotopenverhältnisse der verschiedenen Herkünfte ausreichend deutlich voneinander unterscheiden.

Die Beurteilung der Herkunftsangabe erfolgt anhand von Vergleichsdaten, idealerweise von Proben mit sicher bekannter Herkunft. Nicht nur die Eier selbst, sondern auch Tränkewasser und Futter werden in die Beurteilung einbezogen. Für die Authentizitätsprüfung sind betriebsgenaue, aktuelle authentische Vergleichsproben besonders aussagekräftig.

Bio-Lachs – Fischmehl macht den Unterschied

Die Produktion von Bio-Lebensmitteln unterliegt besonderen Vorgaben. So gelten in der Tierhaltung erhöhte Platzanforderungen für Individuen sowie u. a. ein Verwendungsverbot für Pestizide oder synthetische Düngemittel im pflanzlichen Futterbau. Im Bereich der Aquakultur umfassen die Vorgaben zur artgerechten Haltung karnivorer Fischarten, wie dem in Deutschland sehr beliebten Atlantischen Lachs, darüber hinaus den Einsatz von Futtermitteln tierischen Ursprungs. Bis 2022 forderte die EU-Ökoverordnung hier einen Mindestanteil von 40 % Fischmehl und Fischöl. Seit 2023 gilt eine ressourcenabhängige Prioritätenliste der einzusetzenden Futtermittel, deren erste vier von fünf Positionen allerdings ausschließlich tierische Erzeugnisse aquatischen Ursprungs enthalten und somit weiterhin eine vergleichbare Fütterung gewährleisten.



Im Gegensatz zu den hohen Haltungsstandards in der ökologischen Aquakultur ermöglicht die konventionelle Lachszeit eine erhebliche Senkung der Produktionskosten insbesondere durch den Austausch tierischer Futtermittelkomponenten gegen pflanzliches Protein und Pflanzenöle. Um Verbraucher vor falsch deklarierter konventioneller Ware zu schützen, kann Bio-Lachs anhand der Isotopenanalyse von Stickstoff und Kohlenstoff identifiziert werden.

Da sich die schwereren Isotope in der Nahrungskette stufenweise anreichern, weist tierisches Protein höhere $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auf als pflanzliches Protein. Die Isotopensignatur der Nahrung spiegelt sich ebenso in tierischen Lebensmitteln wider. So zeigt Bio-Lachs aufgrund des stärkeren Einsatzes tierischer Futtermittelkomponenten gegenüber Lachs aus konventioneller Produktion signifikant erhöhte Isotopenwerte, die auch bei verarbeiteten Erzeugnissen eine Unterscheidung anhand von $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$ ermöglichen.

Neue Herausforderungen

Um die Herkunft von Holz sowie Hoch-Risiko-Produkten wie Rindfleisch, Soja, Kaffee, Kakao und Palmöl im Rahmen der neuen EUDR (EU-Entwaldungsverordnung) zu überprüfen, kann die Stabilisotopenanalyse herangezogen werden. Dadurch kann die Arbeitsgruppe ihre Fachkompetenz auch in Zukunft gezielt und vielseitig einbringen.

Stabil – nicht nur in den Isotopen

Die Stabilisotopenanalytik ist über die Jahre von einer Nischenmethode zu einem unverzichtbaren Werkzeug der Lebensmittelanalytik geworden. Durch den ständigen Austausch zwischen Forschung, Industrie und Überwachung bleibt die AG Stabilisotopenanalytik auch für zukünftige Herausforderungen in der Lebensmittelaufentzität bestens aufgestellt.

Unser Dank gilt allen früheren Mitgliedern der AG, vor allem den Gründungsmitgliedern mit dem ersten Obmann Prof. Dr. Hanns-Ludwig Schmidt.

Literatur:

- [1] <https://www.gdch.de/netzwerk-strukturen/fachstrukturen/lebensmittelchemische-gesellschaft/arbeitsgruppen/stabilisotopenanalytik.html>
- [2] Lebensmittelchemie 77 (5) 130-131 (2023)

(Bilder: Lachs: Laura Lüders, Landeslabor Schleswig-Holstein; weitere Stefan Bindereif, FoodQS GmbH)

Kontakt:

Dr. Antje Schellenberg
Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
Sachgebietsleiterin LH 1
Lebensmittel nicht tierischen Ursprungs,
Überprüfung der Herkunft und Echtheit von Lebensmitteln, EU-Geoschutz
Veterinärstraße 2
85764 Oberschleißheim
www.lgl.bayern.de
Tel.: 09131/6808-5586
E-Mail: antje.schellenberg@lgl.bayern.de

doi: <https://doi.org/10.1002/lemi.202600204>



Sitzung der AG am 9. April 2025: hintere Reihe von links nach rechts: B. Horvath, P. Schodder, A. Roßmann, M. Gimpel, P. Rinke, M. Schröder, W. Armbruster, F. Birk, S. Bindereif; vordere Reihe von links nach rechts: L. Meier, S. Hangarther, O. Krenz, A. Prätzel, E. Annweiler, A. Schellenberg, L. Lüders; abwesend: M. Boner, J. Molkentin