

Neue Analysemethoden gegen Lebensmittelbetrug und Täuschung

Dr. Eva Annweiler, Vanessa Schilling, Hans-Ulrich Waiblinger (CVUA Freiburg),
Dr. Sandra Weber, Prof. Dr. Thomas Kuballa (CVUA Karlsruhe)

Ein erstes Forschungsprojekt „Food Fraud - Analytik gegen Lebensmittelbetrug und Täuschung“ wurde jetzt an den Chemischen und Veterinäruntersuchungsämtern Baden-Württembergs abgeschlossen. Besonders im Fokus standen Lebensmittel, die aufgrund spezieller Auslobungen, wie regionale Herkunft, Haltungsform oder Sortenangabe von Verbrauchern in Baden-Württemberg besonders geschätzt werden – und für diese Verbraucher auch bereit sind, einen höheren Preis zu bezahlen. Darunter einige Lebensmittel, die unter den Top 10 mit dem größten Verfälschungsrisiko stehen, wie Bio-Lebensmittel (stellvertretend wurde hier die Differenzierung von bio/konventionellen Eiern untersucht) sowie Honig und Kaffee. Äpfel und Spargel regionaler Herkunft sind in Baden-Württemberg sehr beliebt und wurden ebenfalls untersucht. Auch die Authentizitätsprüfung von Säuglingsmilchpulver sowie der schnelle Nachweis von Dopingstoffen in Nahrungsergänzungsmitteln waren Projektbestandteil.

Forschungsprojekt

Das Forschungsprojekt „Food Fraud - Analytik gegen Lebensmittelbetrug“ wurde vom Ministerium für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz Baden-Württemberg (MLR BW) gefördert. Projektbeginn war August 2018. Zur Unterstützung der Überwachungsbehörden bei der Aufdeckung von Lebensmittelbetrug sowie zum Schutze des Verbrauchers vor Täuschung durch Verfälschung und Fehldeklaration sollen Methoden entwickelt und in den Untersuchungseinrichtungen der Lebensmittelüberwachung Baden-Württembergs etabliert werden. Besonders die zentral für das Land tätigen Labore für NMR-Analytik (CVUA Karlsruhe) sowie Stabilisotopen-Massenspektrometrie (CVUA Freiburg) sind beteiligt. Das MLR BW hat die Fortführung des Projekts bis Ende 2021 bewilligt.

Verfälschungen von Lebensmitteln werden immer besser. Lebensmittel enthalten teilweise sortenspezifische Substanzen (sog. Markersubstanzen). Diese können bei der Lebensmittelüberwachung als zuverlässiges Kriterium für die Überprüfung von Lebensmitteln mit besonderer Auslobung herangezogen werden. Allerdings kann Lebensmittelbetrug etwa durch die Zugabe von Markersubstanzen perfekt verschleiert werden. Etablierte Analyseverfahren, die auf die gezielte Detektion solcher Markersubstanzen ausgelegt sind, erreichen dabei häufig ihre Grenzen.

Es ist erforderlich, neue, umfassendere Untersuchungsmethoden, die den chemischen Fingerprint spezifischer Lebensmittel erfassen, in die Routine der amtlichen Überwachung zu etablieren, um Food Fraud gezielter entgegenzuwirken.

Unter *Food Fraud* versteht man das Inverkehrbringen von Lebensmitteln, mit dem Ziel, durch vorsätzliche Täuschung einen finanziellen oder wirtschaftlichen Vorteil zu erlangen.

Dazu zählen:

- falsche oder irreführende Auslobungen (z.B. zur ökologischen Erzeugung, zur Qualitätsstufe oder zur geographischen Herkunft)
- der Austausch wertvoller Inhaltsstoffe durch billigere Ersatzstoffe
- das Hinzufügen unerlaubter Zusätze

Durch die Globalisierung von Warenströmen ist Food Fraud zu einem immensen Problem geworden. Je komplexer die Lieferkette, desto einfacher ist es, eine Verfälschung zu verschleiern.



Anforderungen an die Analytik

Die Analytik von Merkmalen wie Qualitätsstufe, Herkunft oder der Unterscheidung zwischen bio und konventionell erfordert neue Untersuchungsmethoden und Herangehensweisen in der Lebensmittelüberwachung:

- Verknüpfung von Ergebnissen, die durch Anwendung verschiedener Untersuchungsmethoden erhalten wurden;
- sog. multivariate Datenanalyse;
- nicht-zielgerichtete Analysenverfahren sind komplex und erfordern langfristige Optimierungs- und Verifizierungsstrategien;
- authentische Lebensmittelproben: Um verlässliche analytische Verfahren zu entwickeln, ist es essenziell, ausreichend authentische Proben zur Verfügung zu haben;
- die Einbeziehung von Prozesskontrollen (Ermittlungen vor Ort) kann häufig erforderlich sein.

Äpfel – Herkunft

Hohe Ernteausfälle durch Frostschäden während der Apfelblüte im Jahr 2017 gaben Anlass, die regionale Herkunftsangabe bei Äpfeln zu prüfen. Hierbei führten sowohl die Marktüberwachung als auch die Lebensmittelüberwachung verstärkte Kontrollen durch.

Insgesamt wurden 62 Apfelproben der Ernte 2017 untersucht. Neben baden-württembergischen Referenz-Proben standen zusätzlich Proben aus Niedersachsen, Südfrankreich und Südtirol zur Verfügung.

Zum Einsatz kamen dabei die Stabilisotopenmassenspektrometrie (IRMS, s. Infobox rechts), die Elementanalytik und die Kernresonanzspektroskopie (NMR, CVUA Karlsruhe, s. auch s. 6).

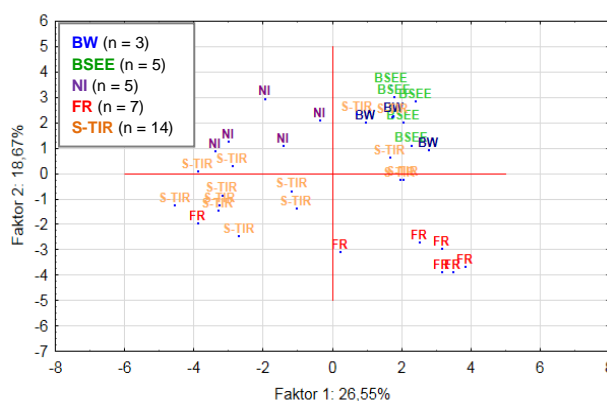
Die alleinige Differenzierung von Äpfeln nach ihrer Herkunft mittels Stabilisotopenanalytik ist nicht zufriedenstellend. Im Zuge des Projekts wurden erste Untersuchungen mittels NMR- und Elementanalytik erprobt. Durch Kombination der experimentellen Ergebnisse unterschiedlicher Analyseverfahren (IRMS, NMR, Elementaranalyse) konnte nach anschließender multivariater Auswertung eine verbesserte Unterscheidung der Herkunft bei Äpfeln erreicht werden (siehe Grafik). Für ein robustes Modell besteht allerdings noch weiterer Forschungsbedarf.



Infobox Stabilisotopenanalytik (IRMS)

IRMS - Isotope-Ratio Mass Spectrometry (Stabilisotopen-Massenspektrometrie)

Unsere Nahrung ist im Wesentlichen aus den chemischen Elementen Sauerstoff, Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel (O, H, C, N, S) aufgebaut. Die genannten Elemente bestehen aus einer leichten und einer schweren Atomsorte (= Isotop) in einem bestimmten globalen Mischungsverhältnis, das aber ortsbedingt durchaus variieren kann. Diese geringfügigen Variationen der Stabilisotopenverhältnisse lassen sich sehr genau messen und erlauben Rückschlüsse auf Erzeugungsregionen, Rohstoffverwendung sowie Herstellungs- und Anbaumethoden.



Grafik: Statistische Auswertung (Hauptkomponentenanalyse) der Referenzproben - Auswertung der IRMS-Daten, ¹NMR-Daten und Elemente nach Herkunft (BW: Baden-Württemberg (ohne Bodensee); BSEE: Bodensee; NI: Niedersachsen; FR: Südfrankreich; S-TIR: Südtirol).

Spargel – Herkunft

Spargel stellt ein Produkt dar, bei dem die regionale Herkunft eine besondere Bedeutung erfährt. Dies spiegelt sich in der hohen Nachfrage nach heimischem Spargel durch die Verbraucher wider.

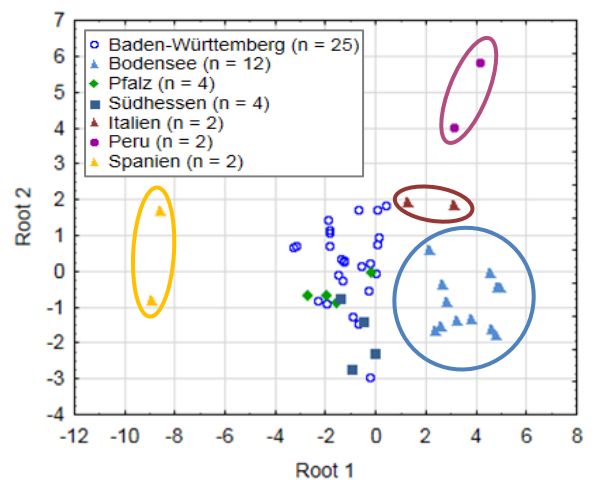
Im Rahmen des Projekts sollte für Spargel durch die Einbeziehung weiterer Parameter die Beurteilungsgrundlage erweitert werden. Die Spargelkampagne 2019 erfolgte in Kooperation mit dem Landeskontrollteam Lebensmittelsicherheit (LKL) Baden-Württemberg und ausgewählten Lebensmittelüberwachungsbehörden. Dadurch wurde die Rückverfolgung anhand von Kontrollen vor Ort und anhand von Dokumenten intensiviert.



Die Routineanalytik bei der Herkunftsüberprüfung von Spargel umfasste bisher die Sauerstoffisotopenverhältnisse im Spargelwasser sowie die Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff, Stickstoff und Wasserstoff in der Proteinfraction des Spargels. Im Zuge des Projekts wurde der Untersuchungsumfang um mehrere Parameter erweitert (Sauerstoff in der Cellulosefraktion, Wasserstoff in der Wasserfraktion, Schwefel in der Proteinfraction).

Die zusätzlichen Untersuchungsparameter bewirkten eine verbesserte Differenzierung von regionalem Spargel gegenüber Spargel ausländischer Herkunft (s. Grafik). Die neuen Parameter müssen durch Erweiterung der Datenbasis und die langfristige Aufnahme in das Untersuchungsspektrum erprobt werden.

Als sehr sinnvoll hat sich auch die enge Verknüpfung der Betriebs- und Dokumentenkontrolle der Lebensmittelüberwachungsbehörden mit den analytischen Ergebnissen gezeigt.



Grafik: Spargel: Statistische Auswertung (Lineare Diskriminanzanalyse) über die Parameter Sauerstoff und Wasserstoff (Wasserfraktion), Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel (Proteinfraction) sowie Sauerstoff (Cellulosefraktion) zur Herkunfts-differenzierung; Referenzproben und Handelsproben Ernte 2019.

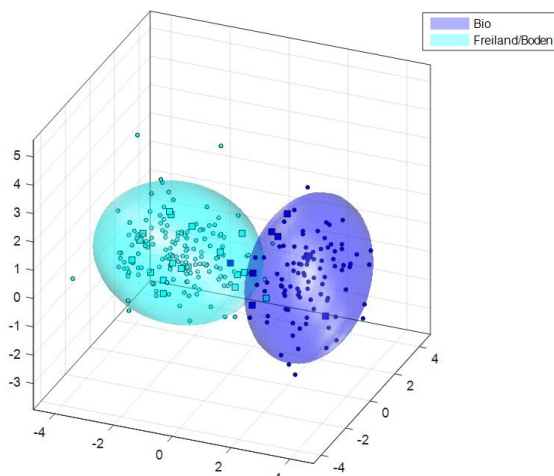
Eier – Differenzierung bio /konventionell sowie Überprüfung Herkunftsangabe

Aufbauend auf Ergebnissen aus früheren Forschungsprojekten werden bei der Untersuchung von Eiern derzeit sowohl die Stabilisotopenmethode als auch die NMR-Analytik in der Praxis der Lebensmittelüberwachung etabliert:

Bio/konventionell

In der europäischen Union gibt es verschiedene Haltungsformen, wie die ausgestaltete Käfighaltung oder Kleingruppenhaltung, die Bodenhaltung, die Freilandhaltung und die ökologischen Haltungsformen. Dabei steigt insbesondere die Nachfrage nach ökologisch erzeugten Eiern. Ein Trend, der sich auch bei vielen anderen Lebensmitteln zeigt. Der Verbraucher ist bereit, für eine möglichst artgerechte Tierhaltung einen höheren Preis zu zahlen. Durch den Erzeugercode auf dem Ei (s. Bild rechts) bzw. die Kennzeichnung auf der Verpackung ist die Art der Haltung für jedes Ei angegeben. Betrügerische Absichten, etwa eine Änderung des Codes, können jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Im Rahmen einer Dissertation wurde ein NMR-Verfahren entwickelt, um ökologisch von konventionell erzeugten Hühnereiern zu unterscheiden (s. Grafik). Die auf der ^1H NMR (s. a. S. 6) und multivariaten Datenanalyse beruhende Methode wird derzeit in die Routine der Lebensmittelüberwachung etabliert. Dabei soll das Modell künftig durch weitere Proben aus ganz Deutschland sowie idealerweise aus ganz Europa erweitert werden.



Grafik: Vorhersagemodell, welches eine richtige Zuordnung von rund 93% der biologischen Proben zulässt (Bild: sog. Wolkenmodell).

Zur Differenzierung zwischen ökologisch und konventionell erzeugten Eiern wird auch der Nachweis des synthetischen Farbstoffs Canthaxanthin im Eigelb herangezogen.

Überprüfung der Herkunftsangabe

Insbesondere bei unverarbeiteten Eiern spielt die regionale Herkunft für viele Verbraucher eine wesentliche Rolle. Durch den Erzeugercode-Stempel kann jedes einzelne Ei bis zum Erzeuger zurückverfolgt werden. Vorausgesetzt, der aufgedruckte Stempel ist korrekt.

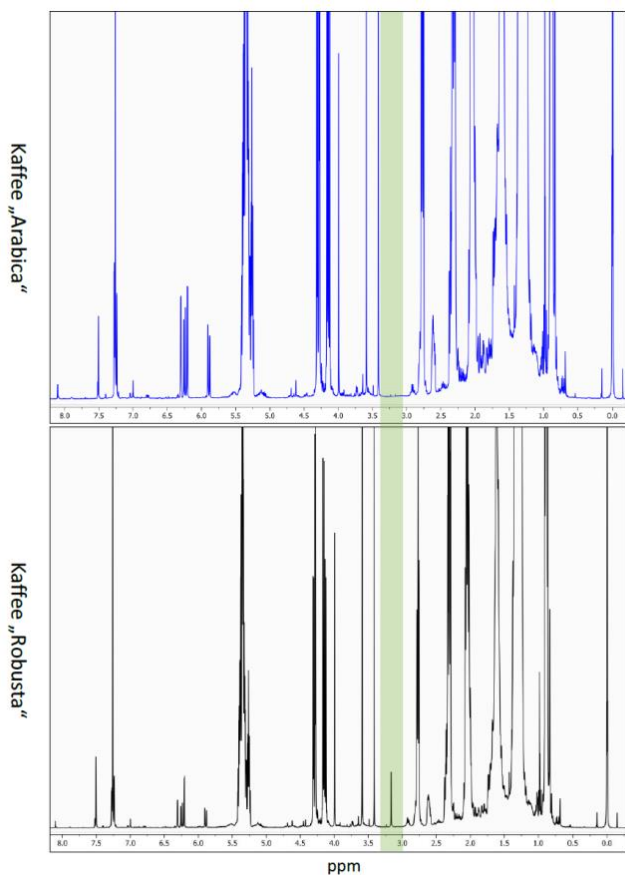


Für die Beurteilung der Herkunftsangabe bei Eiern sind die **Stabilisotopen-Verhältnisse** von Wasserstoff und Sauerstoff charakteristische Untersuchungsparameter. Diese werden im Eiklar bestimmt. Hiervon werden die Wasserfraktion sowie der Trockenrückstand analysiert. Bewährt hat sich die Absicherung von auffälligen Isotopendaten über die Entnahme einer Referenzprobe Eier und Tränkwasser direkt vom Legehennenhof. So können natürliche Variabilitäten der Isotopendaten innerhalb einer Region oder Abweichungen durch eine spezielle Wasserversorgung erkannt und in der Beurteilung berücksichtigt werden. Das Isotopenverhältnis der Wasserfraktion des Eies wird vom Tränkwasser geprägt, so dass bei bekannten Isotopendaten des Tränkwassers ein Erwartungsbereich berechnet werden kann, in dem die Isotopendaten der Wasserfraktion des Eies liegen sollten.

Die im Rahmen des Forschungsprojekts erarbeitete interne Datenbank dient als Grundlage zur Beurteilung der Herkunft von Eiern in der Praxis der Lebensmittelüberwachung. Sie muss ständig geprüft und aktuell gehalten werden. Dabei sollen die verschiedenen Regionen repräsentativ erfasst sein.

Kaffee – Opson VIII / Herkunft

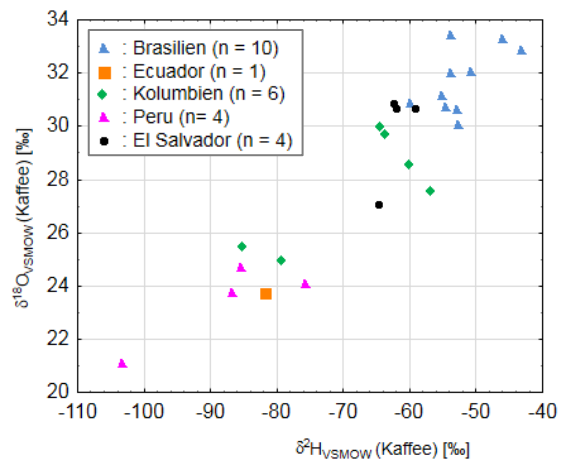
Der Nachweis einer Verfälschung von Arabica- mit Robusta-Bohnen mittels NMR-Spektroskopie wurde am CVUA Karlsruhe etabliert und die hohe analytische Qualität im Rahmen eines internationalen Projekts zur Bekämpfung von Lebensmittelbetrug (OPSON VIII, 2019) auch für andere Staaten unter Beweis gestellt. Verfälschungen von Robusta-Kaffeebohnen in Arabica-Kaffee lassen sich dabei anhand des für Robusta-Bohnen charakteristischen 16-O-Methylcafestol-Signals schnell und eindeutig nachweisen (s. Grafik).



Grafik: ^1H NMR-Spektrum eines Kaffee „Arabica“ (oben, enthält kein 16-OMC) und eines Kaffee „Robusta“ (unten, 16-OMC ist enthalten). Das 16-OMC Signal bei $\delta = 3,17$ ppm ist durch einen grünen Balken markiert.

Des Weiteren hat das CVUA Freiburg im Rahmen von OPSON VIII an einem vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) koordinierten Screening von Kaffee mittels Stabilisotopenanalytik zur Herkunftsregionen teilgenommen.

Durch das BVL erfolgte mittlerweile eine erste Auswertung der Ergebnisse aller beteiligten Untersuchungslabore. In die Auswertung sind insgesamt 161 Proben von geröstetem Kaffee unterschiedlicher Herkunftsregionen eingeflossen, von denen 25 am CVUA Freiburg analysiert wurden. Mittels einfacher grafischer Darstellung der Ergebnisse konnte bereits eine Differenzierung der geografischen Herkunft erreicht werden.



Grafik: Korrelation der Isotopenverhältnisse des Sauerstoffs ($\delta^{18}\text{O}$) und des Wasserstoffs ($\delta^2\text{H}$) der Kaffeeproben (BVL 2019, Analyse CVUA Freiburg); Differenzierung der Herkunftsregion.



Honig – Authentizität

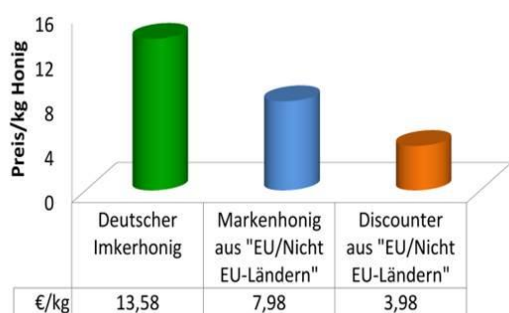
Honig ist ein naturbelassenes Lebensmittel. Die Qualitätsanforderung und Kennzeichnung wird durch die Honigverordnung streng geregelt und durch die Leitsätze für Honig ergänzt.

Auszug aus der Honigverordnung

- Honig dürfen keine anderen Stoffe als Honig zugefügt werden.
- Honig darf keine künstliche Veränderung des Säuregrads aufweisen.
- Honig dürfen weder Pollen noch andere honig-eigene Stoffe entzogen werden. Werden Pollen entzogen, ist dieser Honig als gefilterter Honig zu kennzeichnen.
- Die Unterschiede in Geschmack und Aroma werden von der jeweiligen botanischen Herkunft bestimmt.



Auf dem Markt erzielen ausgelobte Sortenhonige höhere Preise (s. Grafik), weshalb Verfälschungen bzw. falsche Deklarationen wirtschaftlich lukrativ sein können. Zudem befindet sich Honig unter den Top 10 der Lebensmittel mit dem höchsten Verfälschungsrisiko.



Grafik: Marktpreise 2018 für Honig. (Internetrecherche vom Oktober 2018)

Die botanische und geographische Herkunft eines Honigs lässt sich prinzipiell durch klassische analytische Verfahren wie Sensorik, Farbe, Pollenanalytik, elektrische Leitfähigkeit und Konzentrationsbestimmung der Haupt- und Minorzucker bestimmen. Honige sind aber immer häufiger so geschickt gefälscht, dass die klassischen Verfahren nicht mehr

ausreichen, um Verfälschungen zu erkennen. Die NMR-Technik (s. Infokasten) erfasst das gesamte chemische Metabolom. Mit diesem „Fingerprint des Honigs“ werden alle enthaltenen Inhaltsstoffe wie unterschiedliche Zucker, Aminosäuren, freie Säuren usw. erfasst. Da der Fingerprint bzw. die Zusammensetzung eines Honigs trachtspezifisch ist, ermöglicht dieses Verfahren eine Überprüfung durch alle im Honig vorkommenden Inhaltsstoffe aus einer Messung heraus.

NMR Analytik

Die Kernresonanzspektroskopie, kurz NMR-Spektroskopie, wird zur Strukturaufklärung organischer und anorganischer Moleküle und zur Quantifizierung eingesetzt. Basis hierfür ist das Verhalten von einigen Atomkernen in einem äußeren Magnetfeld (B_0). Atomkerne mit ungeradzahlgiger Kernladung besitzen einen Kernspin, durch den sie sich in einem magnetischen Feld in Abhängigkeit ihres magnetischen Momentes parallel oder antiparallel zu Feld B_0 ausrichten (z.B. ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P). Dieses Verhalten ist für jede Kernsorte charakteristisch.

In der NMR-Spektroskopie wird der betrachtete Atomkern (z.B. Protonen im ^1H NMR) anhand der chemischen Umgebung im Molekül durch eine charakteristische Signalstruktur und bestimmte chemische Verschiebung eindeutig charakterisiert. Die Intensität eines NMR-Signals ist proportional zur Anzahl der Atomkerne, die dieses generieren. Dadurch erzeugen alle Inhaltsstoffe entsprechende Signale, die direkt für eine Quantifizierung verwendet werden können, ohne dass eine aufwändige Kalibrierung mit diesen Analyten notwendig ist.

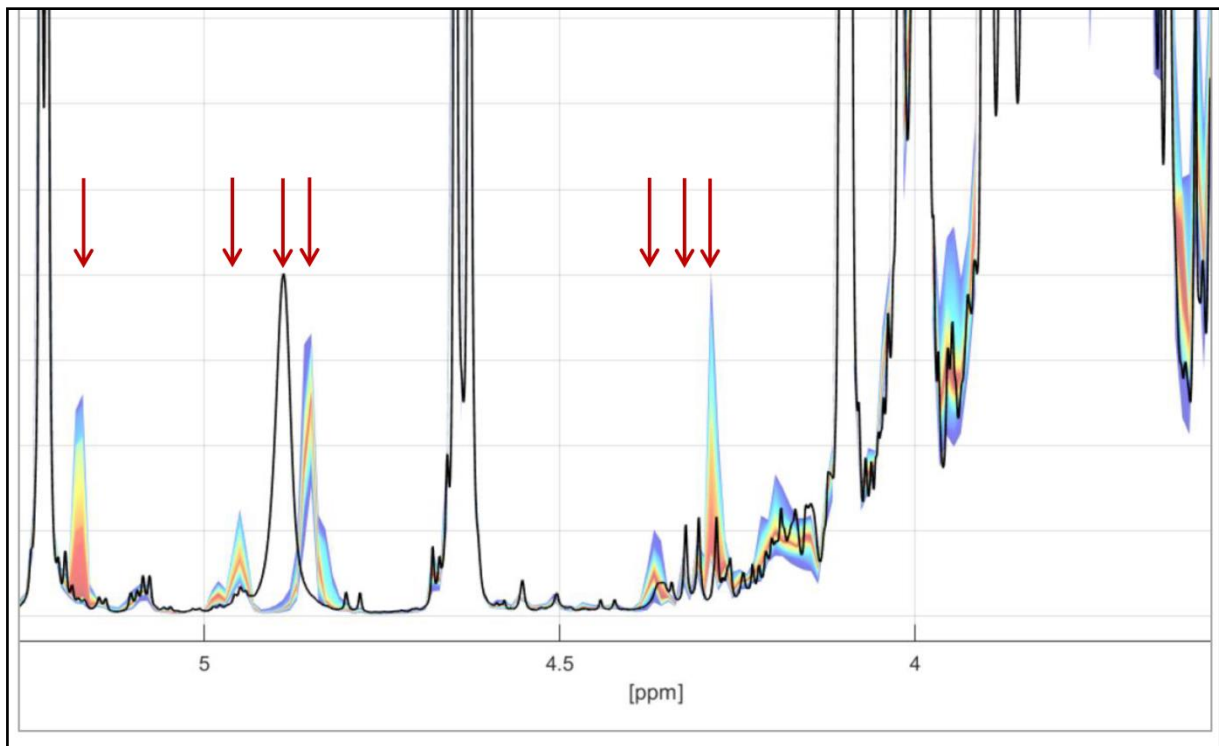
Durch diese direkte Proportionalität der Inhaltsstoffe und den daraus resultierenden quantitativen Signalen liefert die NMR-Spektroskopie einen „Fingerprint“ eines Lebensmittels, der bei der Authentizitäts- und Herkunftsüberprüfung tierischer und pflanzlicher Lebensmittel eingesetzt werden kann.

In dem Projekt wurde ein NMR-Verfahren erarbeitet, bei dem aus einem einzigen NMR-Spektrum später die Qualität des Honigs beurteilt und gleichzeitig die Sortenangabe (sog. Trachtenmodell) überprüft werden kann. Um Honigfälschungen gezielter auf die Spur zu kommen, wurde als gemeinsames Projekt des Speziallabors für Honig am CVUA Freiburg und des NMR-Labors am CVUA Karlsruhe am Aufbau einer NMR-Fingerprint Methode gearbeitet. Es wird angestrebt, die Anzahl authentischer, trachttypischer Proben durch eine Intensivierung der Probenkoordination zu verbessern und somit die Basis für den Ausbau des Trachtenmodells zu schaffen.

Honig (Forts.)

Wie Honigverfälschungen mittels einer NMR-Untersuchung erkennbar sind, zeigt die nachfolgende Auswertung.

Die Grafik zeigt beispielsweise einen gefälschten Waldhonig, der die klassischen analytischen Verfahren (Sensorik, elektrische Leitfähigkeit) bestanden hat. Das schwarze NMR Spektrum zeigt die Fälschung im Vergleich zu 30 authentischen Waldhonigen. Die Fälschung zeigt in mehreren Signalbereichen einen für Waldhonig atypischen Signalverlauf (zur Verdeutlichung durch rote Pfeile gekennzeichnet).



Grafik : Fälschlicherweise als Waldhonig ausgelobter Honig. Ein Vergleich mit authentischen Waldhonigproben zeigt deutliche Unterschiede im Zuckerbereich der NMR Spektren.

Nahrungsergänzungsmittel – verbotene Stoffe

Im Fokus des Projekts stehen zwei Gruppen an Nahrungsergänzungsmitteln (NEM) für Sportler: Sog. „Pre-Workout-Booster“ und „Fat Burner“. Dabei handelt es sich bei Ersterem um Produkte, die kurz vor dem Sport eingenommen werden sollen, um die Leistung zu steigern und/oder den Stoffwechsel anzukurbeln. Letztere sind Produkte, die bei einer Gewichtsabnahme unterstützend wirken sollen. Eine Verfälschung mit Stimulanzien ist für die Hersteller attraktiv: Die Verbraucher dieser Produkte erwarten schnelle Resultate. Die Kurzzeit-Effekte durch den alleinigen Einsatz von rechtskonformen NEM sind eher gering. Durch die nichtdeklarierte Zugabe spezieller Substanzen als pharmakologische Wirkstoffe in bestimmten Konzentrationen kann die Effizienz gesteigert werden.

Der weltweite jährliche Umsatz mit NEM beträgt mehrere Milliarden Dollar. Sie sind frei verkäuflich, nicht zulassungspflichtig und stellen daher eine besondere Gefahr für unerlaubte Zusätze dar. Oftmals sind bei den zugesetzten Substanzen die genauen pharmakologischen Wirkungen und somit Auswirkungen auf die Gesundheit nicht vollständig erforscht. Unerwünschte Nebeneffekte bis zu schweren Vergiftungen sind möglich. Zusätze von Stimulanzien sind verboten. In Nahrungsergänzungsmitteln werden immer wieder gefährliche Stoffe nachgewiesen. Die etablierten Analysen sind mitunter zeitaufwändig und schwierig.

Anhand eines NMR-Verfahrens ist es nach derzeitigem Entwicklungsstand möglich, Hinweise auf gefährliche Stoffe wie DMAA, DMBA, DMHA, PEA, MPEA, EPH, SYN und YOH zu erhalten. Eine Quantifizierung der genannten Analyten, die teilweise auch auf der WADA-Liste für verbotene Dopingstoffe stehen, wurde im Rahmen des Projektes entwickelt.

Im Anschluss wird angestrebt, das Verfahren bei der routinemäßigen Untersuchung von Nahrungsergänzungsmitteln für DMAA, DMBA, DMHA, PEA; MPEA, EPH, SYN und YOH einzusetzen. Etablierte Verfahren sind sehr zeitaufwendig. Bereits ein leicht durchzuführendes Screening würde die Arbeit erleichtern.

Säuglingsnahrung – Authentizität



Food Fraud macht auch nicht vor sensiblen Verbrauchergruppen wie Neugeborenen und Babys halt. 2008 wurden für den Export bestimmte Babymilchpulver mit dem Kunststoff Melamin gefälscht, um einen erhöhten Proteingehalt des Produkts vorzutäuschen. Nach der derzeit etablierten Methode werden bei der Bestimmung des Proteingehalts organische Stickstoffverbindungen wie Melamin fälschlicherweise miterfasst. In dem Projekt wurde an der Entwicklung einer Methode weitergearbeitet, um Verfälschungen durch organische Stickstoffverbindungen wie Melamin, Harnstoff, und ähnliche Substanzen zu identifizieren und quantifizieren.

Die Methode befindet sich noch im Anfangsstadium der Methodenentwicklung. Des Weiteren ist eine Methode zur Bestimmung der Fettsäureverteilung mittels ^{13}C NMR-Spektroskopie in Arbeit. Die bisherigen Untersuchungen sind sehr vielversprechend und wichtig, um Säuglinge und Kleinkinder als sensible Verbrauchergruppe optimal schützen zu können. Für die Entwicklung der Methode besteht jedoch noch weiterer Forschungsbedarf.