

# BÖLN

Bundesprogramm Ökologischer Landbau  
und andere Formen nachhaltiger  
Landwirtschaft

## Methoden für die Unterscheidung von ökologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln - Literaturstudie -

**FKZ: 08OE004**

**Projektnehmer:**

FiBL Deutschland e.V.  
Kasseler Straße 1a, 60486 Frankfurt am Main  
Tel.: +49 69 7137699-0  
Fax: +49 69 7137699-9  
E-Mail: [info.deutschland@fibl.org](mailto:info.deutschland@fibl.org)  
Internet: <http://www.fibl.org>

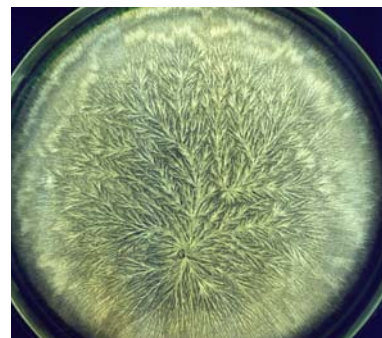
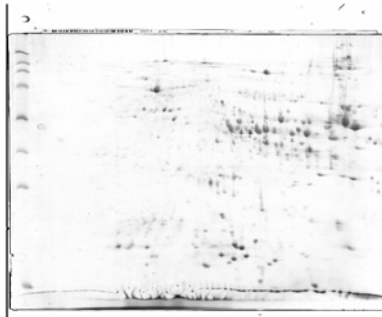
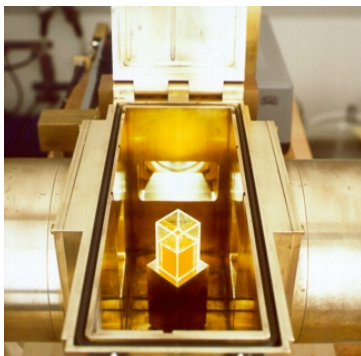
**Autoren:**

Landbau, Bettina; Boner, Markus; Hofem, Sabine; Langenkämper, Georg; Niehaus, Karsten; Mende, Gudrun

Gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz  
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger  
Landwirtschaft (BÖLN)

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

## Methoden für die Unterscheidung von ökologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln



**Bettina Landau**

**Mit Inputs von Markus Boner, Sabine Hofem, Georg Langenkämper, Karsten Niehaus und Gudrun Mende**

**Januar 2011**

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau

Projekt Nr.: **08OE044**

# Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	3
1 Zusammenfassung	4
2 Hintergrund, Ziel und Aufbau der Studie	6
3 Beschreibung und Bewertung von ausgesuchten analytischen Methoden	7
3.1 Stabilisotopenanalytik	7
3.1.1 Stickstoff ( $\delta^{15}\text{N}$ )	7
3.1.2 Kohlenstoff ( $\delta^{13}\text{C}$ )	11
3.2 Protein-Profiling	15
3.3 Metabolom-Profiling	19
3.4 Kombination von Parametern aus unterschiedlichen Analytikmethoden	24
3.4.1 Stabilisotopenanalytik und Fettsäureanalytik	24
4 Beschreibung und Bewertung der untersuchten ganzheitlichen Methoden	32
4.1 Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (FAS)	32
4.2 Biokristallisation	39
5 Übersicht der differenzierenden Methoden	42
6 Literatur	60
7 Anhang	67
7.1 Kriterien	67
7.2 Fragebogen	68

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Extensive Rinderhaltung auf der Weide	12
Abbildung 2: Zweidimensionale Auftrennung von Weizenkornproteinen durch 2D-Gelelektrophorese. Rechts das Gel einer biologisch-dynamischen Probe; links das Gel einer konventionell-mineralischen Probe (Quelle: Langenkämper & Bonte, 2010).	17
Abbildung 3: Auftrennung der Metabolite (Metaboliten-Profilung) aus Weizen der Sorte "Runal" des DOK-Anbauversuchs über Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS). Getreide aus biologisch-dynamischem Anbau wurde verglichen mit Getreide aus konventionellem Anbau. Die Proben wurden extrahiert und mit Hilfe der GC-MS analysiert. In wesentlichen Inhaltsstoffen stimmen die Proben überein. In einigen Analyten zeigen sich jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Proben (Quelle: Zörb et., 2009)	21
Abbildung 4: Der Gehalt an $\alpha$ -Linolensäure (C18:3 $\omega$ 3) und das Isotopenverhältnis von Kohlenstoff ( $\delta^{13}\text{C}$ ) schwanken jahreszeitlich stark im Fett von deutscher Kuhmilch (Quelle: Molkentin, Alimenta 21/2008)	26
Abbildung 5: Der Gehalt an $\alpha$ -Linolensäure (C18:3 $\omega$ 3) und der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von Kuhmilchfett korrelieren stark negativ. Aus den Ergebnissen lassen sich ganzjährig gültige Grenzwerte zur Identifizierung von deutscher Biokuhmilch ableiten (Quelle: Molkentin, Alimenta 21/2008).	26
Abbildung 6: Eidotter im Messgerät für Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (Quelle: J. Strube und G. Mende, KWALIS)	32
Abbildung 7: Schematische Darstellung der Messanlage für Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (Quelle: J. Strube und G. Mende, KWALIS)	33
Abbildung 8: Zeitschema des Messablaufs der Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (Quelle: J. Strube und G. Mende, KWALIS)	34
Abbildung 9: Kristallbild Karotten aus biologischem Anbau (Quelle: Uwe Geier, Forschungsinstitut am Goetheanum, Dornach)	39

# 1 Zusammenfassung

Bioprodukte werden heute immer stärker international und über komplexe Wertschöpfungsketten produziert und gehandelt. Dadurch werden Kontrollen, welche die Authentizität der Bio-Produkte zuverlässig gewähren, immer schwieriger. Höhere Preise für Bioprodukte waren in der Vergangenheit zudem Motivation hinter einzelnen Betrugsfällen in der Biobranche. Aus diesem Grund braucht es weitere Methoden, welche die Kontrollen der Zertifizierungsstellen unterstützen und ergänzen. Außer dem analytischen Nachweis von chemisch-synthetischen Pestizidrückständen, der bereits seit geraumer Zeit in der Praxis etabliert ist, gibt es weitere analytische und ganzheitliche Methoden, welche biologische und konventionelle Lebensmittel differenzieren können.

Vor diesem Hintergrund war es das Ziel der Studie, die bestehenden oder in der Entwicklung befindlichen differenzierenden Methoden zur Unterscheidung biologisch von herkömmlich erzeugten Nahrungsmitteln zu beschreiben und ihre Praxistauglichkeit zu bewerten. Hierfür wurden eine umfangreiche Literaturstudie sowie ergänzende Expertengespräche durchgeführt.

**Bei Lebensmitteln tierischen Ursprungs** sind die Fettsäureanalytik und die Stabilisotopenanalytik (alleine oder in Kombination) vielversprechend für die Differenzierung von konventionellen und biologischen Produkten wie z. B. Kuhmilch, Kuhmilchprodukte, Hühnereiern und Lachs. Bei der Unterscheidung von ökologisch erzeugtem und konventionellem Rindfleisch reicht die Stabilisotopenanalytik alleine nicht aus, jedoch liefert sie wichtige Hinweise auf den Anteil an Kraftfutter in der Fütterung der Rinder. Andere erfolgversprechende Methoden sind die Analytik der Isomere des Carotins Astaxanthin für die Diskriminierung von Wildlachs, konventionellen und biologischen Zuchtlachses und die Überprüfung der korrekten Anwendung von Tetracyclin-Antibiotika in der Schweine- und Geflügelhaltung anhand von Fluoreszenzmikroskopie von Knochenschnitten. Die Praxistauglichkeit der Stabilisotopenanalytik, der Analytik von Carotinisomeren, der Fettsäureanalytik und der Fluoreszenzmikroskopie wird erleichtert durch die Verbreitung der Analysegeräte und die Tatsache, dass viele Praxislaboratorien mit den Methoden arbeiten. Die Robustheit der identifizierten Parameter muss in manchen Fällen noch erhöht werden.

**Bei den pflanzlichen Lebensmitteln** werden in der Praxis biologisch erzeugte und konventionelle Produkte häufig mit dem Nachweis von chemisch-synthetischen Pflanzenschutzmitteln unterschieden. Andere Methoden für die Differenzierung zwischen biologischen und konventionellen Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs machen sich die Unterschiede zwischen den Anbausystemen, welche sich auf die Stoffwechselprodukte (Proteom, Metabolom, Inhaltstoffe) und in den Verhältnissen der Stabilisotope auswirken, zu Nutze. Bei den meisten vielversprechenden Methoden für die Differenzierung von pflanzlichen Produkten aus biologischen und konventionellen Anbausystemen braucht es noch weiterführende Untersuchungen, um die Robustheit der Parameter zu erhöhen.

Folgende differenzierende Methoden können aus heutiger Sicht als erfolgversprechend für eine Etablierung in der Praxis angesehen werden:

Die **Stabilisotopenanalytik** eignet sich generell gut für die Praxis, da der Zeit- und Kostenaufwand bei der Analyse relativ gering sind. Allerdings sind Isotopenmassenspektrometer noch nicht so verbreitet in den Praxislaboratorien wegen ihres hohen Anschaffungswertes. Eine weitere wichtige Voraussetzung sind die Referenzdatenbanken für jedes Produkt. Diese Voraussetzung ist z. B. bei Hühnereiern und bei Tomaten gegeben.

Das **Metabolom-Profil** ist eine Methode, die sich problemlos in die Praxis einführen ließe, da z. B. Gaschromatographen mit Koppelung an Massenspektrometer in Praxislaboren weit verbreitet und der Zeit- und Kostenaufwand für die Analyse relativ gering sind. Die Robustheit der Biomarker bei Weizen und Mais sollte noch mit weiterführenden Untersuchungen abgesichert werden.

Das **Proteom-Profil** ist eine vielversprechende Forschungsmethode, die sich jedoch für die Einführung in die Kontrollpraxis nur bedingt eignet. Wenn die Robustheit der Biomarker (Proteinsignatur) abgesichert ist, wäre eine vereinfachte Methode, welche allein auf die Messung der Eiweiße der Proteinsignatur basiert, für kommerzielle Laboratorien geeignet. Für diesen Zweck ist beispielweise eine ELISA Methode einsetzbar, welche relativ geringe Kosten für Investition und Verbrauchsmittel erfordert. Die Robustheit der Biomarker von Weizen und Kartoffeln sollte mit weiterführenden Untersuchungen abgesichert werden.

Die **Kombination von Fettsäureanalytik und Stabilisotopenanalytik** eignet sich für die Kontrollpraxis, da der Zeit- und Kostenaufwand für die Analyse relativ gering sind. Die Geräte für Hochleistungsflüssigkeitschromatographie für die Fettsäureanalytik sind in vielen Praxislaboratorien verbreitet, die Isotopenmassenspektrometer allerdings noch nicht. Im jetzigen Entwicklungsstadium ist die Methode für Kuhmilch bereits sehr weit entwickelt. Es bedarf allerdings noch einer Verifizierung mit Blindproben.

Die **Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie** ist eine vielversprechende Forschungsmethode mit Potential für die Erweiterung der Diskriminierung auf viele weitere Lebensmittel. Die Durchführung ist einfach und die Auswertung der Messdaten automatisiert. Die Methode ist validiert und die Verifizierung mit Blindproben wurde bereits für verschiedene Produkte, wie z. B. Hühnereier und Weizen, durchgeführt. Einige wenige Laboratorien besitzen Messgeräte für die Methode.

Die **Biokristallisation** ist ebenfalls eine vielversprechende Forschungsmethode für die Differenzierung von konventionellen und ökologischen Lebensmitteln. Die Durchführung und Auswertung sind computergestützt, standardisiert und validiert. Die Anschaffungskosten für die Einrichtung sind mittelgroß. Eine Verifizierung mit Blindproben ist erforderlich, z. B. bei Weizen. Einige wenige Laboratorien haben diese Methode im Forschungsstadium bei sich etabliert.

Die Entwicklung differenzierender Methoden ist aufwendig und komplex, da jede Methode an die Besonderheiten des einzelnen Lebensmittels angepasst werden muss. Eine universelle Signatur der Bio-Produkte gibt es wohl nicht. In der Praxis ergibt sich zudem ein weiteres Problem. Der Biolandbau ist ein definiertes Anbausystem, während die konventionelle Landwirtschaft es nicht ist. So können Praktiken, die im Biolandbau obligatorisch sind und ihn auszeichnen, auch im konventionellen Anbau angewendet werden. Das erschwert die analytische Trennung von ökologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln erheblich. Somit sind bei allen Methoden Ausnahmen möglich, da Proben konventionellen Ursprungs ähnliche Messwerte aufweisen können wie die biologischen Proben. Dadurch ist die Gerichtsbarkeit der differenzierenden Methoden nicht gegeben. Im Allgemeinen kann gesagt werden, dass die Methoden zur Unterscheidung von biologischen und konventionellen Lebensmitteln wertvolle Hinweise auf die Anbaumethode liefern, welche die Biokontrollen ergänzen. Sie ersetzen aber nicht die Prozesskontrolle der Biokontrollstellen.

## 2 Hintergrund, Ziel und Aufbau der Studie

Die steigende Nachfrage nach Bioprodukten hat eine rasante Vervielfachung des weltweiten Handelsvolumens mit Bioprodukten verursacht. Während die Pioniere der Biobewegung großen Wert auf die Nähe zwischen Produzenten und Verbrauchern legten, bezieht der Handel heutzutage die Bioprodukte weltweit. Diese Globalisierung des Handels mit Bioprodukten stellt die Kontrolle und Zertifizierung bzw. die Rückverfolgbarkeit von Biolebensmitteln vor neue Herausforderungen. Der z. T. hohe Preisunterschied zwischen konventionellen Produkten und ökologischen Lebensmitteln führte in der Vergangenheit bereits zu einzelnen Betrugsfällen, bei denen z. B. konventionelle Produkte als Bioprodukte umdeklariert oder Chargen eines ökologisch erzeugten Lebensmittels mit Chargen konventionellen Ursprungs gestreckt werden. Siderer et al. (2005) schlagen deshalb die Einführung von zusätzlichen Analysen und Tests für die gehandelten Bioprodukte vor, damit ihre Authentizität verifiziert werden kann.

Ziel dieser Literaturrecherche ist es einerseits einen Überblick über die Entwicklung der Methoden für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln zu geben. Andererseits soll die Praxistauglichkeit der gefundenen Methoden für Biokontrollen bewertet werden.

Eine grobe Bewertung der Eignung und des Entwicklungsstands der differenzierenden Methoden für biologisch und konventionell erzeugte Lebensmittel ist in den Tabelle 1 und 2 im Abschnitt 5 zu finden. Auf einige ausgesuchte Methoden wird genauer in den Abschnitten 3 und 4 des Berichts eingegangen.

Die in den Abschnitten 3 und 4 beschriebenen Methoden sind dort beschrieben und wurden mittels Experteninterviews bewertet. Dafür wurden die Entwickler der Methoden anhand eines Fragebogens interviewt (siehe Anhang). Dieser Fragebogen basiert auf Kriterien (siehe Anhang), mit denen die Praxisreife der Methoden erfasst werden soll.

## 3 Beschreibung und Bewertung von ausgesuchten analytischen Methoden

### 3.1 Stabilisotopenanalytik

Die Analytik der stabilen Isotope der Bioelemente hat sich gerade im Bereich der Agrarprodukte als universelle analytische Möglichkeit etabliert, um die Herkunft bzw. die Authentizität eines Produkts zu verifizieren (Dennis, 1998). Die Technik basiert auf der Untersuchung der natürlichen Verteilung stabiler Isotope der Bioelemente in einem Produkt.

Die gesamte Biomasse besteht hauptsächlich aus den Elementen Wasserstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Schwefel. Auch die Bioelemente weisen zumindest ein schweres Isotop auf, das keinem radioaktiven Zerfall unterworfen ist. Die schweren Isotope stellen zwar nur einen geringen Anteil dar, aber sie sind überall in der Biomasse vorhanden. Dabei ist ihr Anteil nicht konstant, sondern variiert aufgrund geochemischer, geophysikalischer und biochemischer Prozesse. Die Natur liefert damit im biologischen Material eine natürliche Markierung, die es ermöglicht z. B. Herkunftsüberprüfungen an Lebensmitteln durchzuführen (Boner, 2003). So wurden die Anwendungsmöglichkeiten der stabilen Isotope der Bioelemente zur Herkunfts- und Authentizitätsprüfung in den letzten Jahren an Beispielen von Milch, Käse, Butter, Schaumwein, Whiskey, Tomaten und Olivenölen demonstriert (Angerosa et al., 1999; Bateman et al., 2005; Boner & Förstel, 2001; Camin et al., 2008; Manca et al., 2001; Molkentin, 2009; Rossmann et al., 2000; Winkler & Schmidt, 1980).

Als Maßzahl der Isotopenverhältnisse hat sich seit über 60 Jahren die Delta-Notation durchgesetzt, welche die Abweichung von einem internationalen Referenzstandard angibt. Die Isotopenzusammensetzung des internationalen Referenzstandards dient als Bezugspunkt bzw. Nullwert der Skalierung.

#### 3.1.1 Stickstoff ( $\delta^{15}\text{N}$ )

##### Das Prinzip

Die Stickstoffisotopenverhältnisse der Pflanzen werden hauptsächlich von dem im Boden verfügbaren Stickstoffpool bestimmt. Die Isotopenzusammensetzung dieses Pools ist sowohl primär abhängig von geologischen Bedingungen als auch sekundär von Düngung und Kultivierung. Stickstoff wird von der Pflanze zur Bildung der Biomasse genutzt. Das Isotopenverhältnis vom Stickstoff im Boden spiegelt sich damit – unter Berücksichtigung von möglichen Isotopenfraktionierungen – in der Pflanze wider und wird über das Futter an die Tiere weitergegeben (Boner, 2003).

Kennzeichen der ökologischen Landwirtschaft ist eine möglichst natürliche Bewirtschaftung des landwirtschaftlichen Betriebs. Dazu gehören nicht nur der Verzicht auf chemisch-synthetische Kunstdünger oder Pflanzenschutzmittel, sondern auch der Aufbau geschlossener Systeme und die artgerechte Tierhaltung. Die artgerechte Tierhaltung ist durch chemische bzw. physikalische Kenndaten kaum zu erfassen. Auch die Unterscheidung der Produkte der ökologischen Landwirtschaft von den Produkten der konventionellen Landwirtschaft mittels analytischen Mitteln ist schwierig, wenn z. B. keine Pflanzenschutzmittelrückstände in den pflanzlichen



Lebensmitteln nachgewiesen werden. Eine Möglichkeit bietet die Überprüfung der  $\delta^{15}\text{N}$  ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ -Isotopenverhältnisse des Stickstoffs) (Boner, 2003).

Mit Ausnahme der Leguminosen versorgen sich Pflanzen in der Regel mit dem Stickstoff des Düngers und mit dem mineralisierten Stickstoff, der bereits im Boden vorhanden ist. Unterschiede in der  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenzusammensetzung des Düngers und des Bodens äußern sich zum Teil in der Pflanze, dabei ist der Einfluss des Düngers sicherlich sehr relevant (Bateman et al., 2005).

In der ökologischen Landwirtschaft wird kein synthetischer, sondern nur organischer Dünger eingesetzt. Shearer et al. berichteten bereits 1974 über die  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte von Böden und Düngern. Bateman und Kelly (2007) bestätigten diese Arbeit und berichten, dass die  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte für Dünger, welche im Biolandbau erlaubt sind, von 0,6 bis 36,7 ‰ rangieren und ihr Mittelwert bei 8,5 ‰ liegt. Chemisch-synthetische Dünger hingegen haben  $\delta^{15}\text{N}$  Isotopenwerte, die nahe 0 ‰ liegen, wobei 80 % der analysierten Proben zwischen -2 und +2 ‰ rangieren und ihr Mittelwert 0,2 ‰ ist. Organische Dünger haben insgesamt einen höheren Anteil an  $^{15}\text{N}$ -Isotopen als synthetische Düngemittel und tragen damit zur Anreicherung der  $^{15}\text{N}$ -Isotopen in den Pflanzen bei.

Es gibt jedoch auch andere Einflüsse, welche die  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte des Bodens und der Pflanzen beeinflussen. Der Stickstoff aus der Luft hat per Definition  $\delta^{15}\text{N} = 0$  ‰. Leguminosen haben  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte nahe 0 ‰, da sie Stickstoff aus der Luft fixieren. Werden diese Leguminosen als Gründüngung in den Boden eingearbeitet, ist zu erwarten, dass sie diese  $\delta^{15}\text{N}$  nahe 0 ‰ an den Boden weitergeben. Turner et al. (1983) zeigten allerdings, dass, nachdem geschrotete Soja (Stickstofffixierer) als alleinige Düngung in den Boden eingearbeitet worden war, die nachfolgende Anbaufrucht Hafer  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnisse nicht nahe 0 ‰, sondern positivere Werte zwischen 0,5 und 3 hatte. Dies wird durch die Umsetzung der Gründüngung im Boden mit gleichzeitiger Fraktionierung / Anreicherung des zu bildenden Stickstoffs erklärt. Auf diese  $^{15}\text{N}$ -Anreicherung wiesen ebenfalls Yoneyama et al. (1990) hin.

Nach der Gründüngung reichern sich im Boden Verbindungen an, welche  $^{15}\text{N}$ -arm sind und damit sinken die  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte im Boden. Der Boden wiederum gibt diese abgereicherten  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte an die Pflanze weiter. Da die Leguminosen ein wichtiger Teil der Rotation im Biolandbau sind, ist diese Abreicherung an  $^{15}\text{N}$ -Isotopen relevant für die  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte der später angebauten Kulturen (Bateman et al., 2005). Der mineralisierte Stickstoff im Boden aus Leguminosen ist sicherlich eine wichtige Stickstoffquelle im Biolandbau, da der Stickstoff aus organischem Dünger zuerst im Boden mineralisiert werden muss und nur verzögert der Pflanze zur Verfügung steht. Bis die Pflanze den Stickstoff aus dem zugeführten organischen Dünger aufnehmen kann, nimmt sie den im Boden verfügbaren Stickstoff auf.

Das ist ein wichtiger Unterschied zur Bioverfügbarkeit des Stickstoffs aus chemisch-synthetischen Düngern, welcher der Pflanze sofort zur Verfügung steht und rasch aufgenommen werden kann.

Die  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte der Pflanzen werden in der Folge mit einer Isotopenanreicherung von 3 ‰ an die Nahrungskette (Tiere) weitergegeben (Minagawa & Wada, 1984). In den Tieren kommt es zu einer Anreicherung der  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte durch die Fraktionierung der Transaminasen (substratspezifische Enzyme, welche die Übertragung von  $\alpha$ -Aminogruppen von einem Donor- auf ein Akzeptormolekül katalysieren) (Macko et al. 1986). Das würde die angereicherten  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte der organischen Dünger tierischen Ursprungs erklären.

## Die Messung und Auswertung

Die Stabil-Isotopenmassenspektrometer können nur einfache Gase vermessen. Deshalb ist es notwendig, die Stickstoffverbindungen vollständig in das einfache Gas Stickstoff zu überführen. In der Regel werden Elementanalytoren genutzt, welche dieses einfache Gas durch oxidative Verbrennung darstellen. Anfallendes Verbrennungswasser wird eliminiert. Anschließend erfolgt die Trennung von Kohlendioxid und Stickstoff mit einer gepackten Säule. Zur direkten Vermessung von Stickstoff findet ein Isotopenmassenspektrometer Anwendung. Zur Kalibrierung der Isotopenmassenspektrometer werden die internationalen Standards der IAEA<sup>1</sup> verwendet (Boner, 2003).

Zur Darstellung der analytischen Daten kann die Box-Whisker-Auswertung gewählt werden. Die Box- und Whisker Plots, kurz Box Plots genannt, sind eine einfache Möglichkeit, Daten anhand von Quartilen zusammenfassend darzustellen. Die weitere statistische Auswertung erfolgt mittels der Diskriminanzanalyse. Die Diskriminanzanalyse kombiniert Variablen bzw. Merkmale oder Messgrößen linear so, dass vorgegebene unabhängige Gruppen optimal voneinander getrennt werden. Die Trennung erfolgt durch Erfassung einer bestimmten Anzahl von messbaren Merkmalen dieser Objekte und durch Aufstellung einer Diskriminanzfunktion (Trennfunktion). Die Diskriminanzfunktion ermöglicht eine Zuordnung von Fällen zu einer von mehreren alternativen Gruppen (Boner, 2003).

## Untersuchte Lebensmittel

### Hühnereier:

Es wurden Eier aus der Produktion 2003 von deutschen Hühnerbetrieben analysiert. Die Eier stammen aus 22 Betrieben mit insgesamt 27 Beprobungsorten. Von diesen 22 Betrieben waren 18 Biobetriebe mit je einem Beprobungsort und fünf konventionelle Betriebe mit insgesamt neun Beprobungsorten. Die Beprobungsorte sind bundesweit verteilt und zeigen eine gute geographische Verteilung. Von diesen Betrieben wurden wöchentlich vier Eier über einen Zeitraum von sechs Monaten bezogen und analysiert. Insgesamt wurden 345 Proben analysiert. Zusätzlich wurden aus 66 Handelsproben die  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnisse ermittelt.

Bei Eiern hat sich das Eiklar als ideale Matrix der Aufarbeitung für die Isotopenanalyse erwiesen (Boner, 2003).

Auf der Basis von neun  $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerten der konventionellen Betriebe (neun Beprobungsstandorte) und zusätzlichen 66  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopendaten (66 Handelsproben) wurde eine Häufigkeitsverteilung der  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnisse berechnet und mit der Häufigkeitsverteilung der  $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte der 18 ökologischen Betriebe verglichen. Alle 75 konventionellen Proben zeigten abgereicherte  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnisse unterhalb von 5 ‰. Das  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnis von 5 ‰ kann als derzeitige Schranke angesehen werden. Von den ökologischen Proben weisen mehr als 61 % angereicherte  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnisse oberhalb von 5 ‰ (Boner, 2003).

Mit der Überprüfung der  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnisse ist es möglich, Bioeier eindeutig zu bestätigen, wenn das gemessene  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnis über 5 ‰ liegt. Es kann jedoch zu einer Falsifizierung eines Bioeiers kommen, wenn das gemessene  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnis zwischen 3,5 ‰ und 5 ‰ liegt, da es in diesem Bereich eine Überlappung zwischen den Werten der konventionellen und ökologischen Proben gibt. Bei Isotopenwerten in diesem Bereich braucht es zusätzliche Hintergrundinformationen über die Probe, um eine zuverlässige Zuordnung zum Anbausystem (Bio oder konventionell) vornehmen zu können. Bei  $\delta^{15}\text{N}$ -

<sup>1</sup> IAEA: International Atomic Energy Agency, Internationale Agentur für Atomenergie

Isotopenverhältnissen unter 3,5 ‰ kann davon ausgegangen werden, dass die Probe konventionellen Ursprungs ist (Boner, 2003).

Ökologische Eier können jedoch teilweise ähnlich abgereicherte  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte wie konventionelle Eier aufweisen. Die Ursache dafür liegt in der Verwendung von Leguminosen (stickstofffixierende Pflanzen, z. B. Klee) in der Gründüngung im Biolandbau zu suchen. Die Leguminosen sorgen dafür, dass die  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerte im Boden abgereichert werden, ähnlich wie bei der Verwendung von synthetischem Dünger (siehe weiter oben). Und diese Abreicherung wird an die Kulturpflanzen weitergegeben, die später als Futter für die Legehennen verwendet wird. Zusätzlich werden im Biolandbau Leguminosen auch direkt als Grünfütter an die Legehennen verfüttert (Zusatzfutter) (Boner, 2003).

Somit kann bei  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenwerten zwischen 3,5 ‰ und 5 ‰ die korrekte Zuordnung vollzogen werden, wenn die Verwendung von Leguminosen als Gründünger und die Verfütterung von Leguminosen an die Legehennen ausgeschlossen werden können. Sollte diese Information nicht verfügbar sein, kann auch die  $^{15}\text{N}$ -Isotopenanalyse des verwendeten Futters Aufschluss geben (Boner, 2003).

Um Blindproben von Eiern zuverlässig einem Anbausystem (Bio oder konventionell) zuzuordnen, braucht es in der Regel die  $^{15}\text{N}$ -Isotopen-Messdaten von vielen Referenzeierproben, deren Produktionsweise (Bio oder konventionell, Grünfütterung der Legehennen mit Leguminosen, Gründüngung mit Leguminosen) bekannt ist. Zu diesem Zweck ist eine Datenbank für stabile Isotopen angelegt worden, welche 600 Messdaten von biologischen und konventionellen Eiern aus ganz Europa enthält (Boner & Hofem, 2009). Mit diesen breit gestreuten Referenzmessdaten kann eine neue Diskriminanzanalyse durchgeführt werden, welche eine zuverlässige Diskriminanzfunktion für die Unterscheidung von biologisch und konventionell produzierten Eiern generiert.

Die hier aufgeführten Unterscheidungsmöglichkeiten zwischen biologisch und konventionell erzeugten Eiern mittels  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnisse wurden in Untersuchungen des Bayerischen Landesamts für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) im Jahr 2004 bestätigt. Dort konnten mit  $\delta^{15}\text{N}$ -Isotopenverhältnissen die unterschiedlichen Haltungformen der Legehennen (konventionelle Boden-, Käfig- und Freilandhaltung, Bio) an Eiern differenziert werden.

### **Bewertung der Anwendbarkeit in der Praxis**

#### Stand der Entwicklung:

Die Isotopenmassenspektroskopie ist eine gut etablierte Methode. Sie wird für die Authentizitätsprüfung (z. B. geographischer Ursprung) von gewissen Lebensmitteln seit einigen Jahren in Praxislaboren eingesetzt. Die erweiterte Anwendung für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln ist neueren Datums. Das Spektrum der Lebensmittel, deren Anbausystem (Bio/konventionell) mittels Isotopenmassenspektroskopie unterschieden werden kann, soll erweitert werden.

#### Stärken:

- › Es können Eierproben von biologischen und konventionellen Betriebspaaren korrekt unterschieden und dem Anbausystem zugeordnet werden, unabhängig vom Legedatum, von der Legehennenrasse und vom geographischen Ursprung.
- › Die Probenanalyse ist preiswert (ca. 100 Euro/Probe)
- › Es können ca. 50 Proben pro Tag als Doppelbestimmung analysiert werden.

- › Es bestehen keine Gesundheitsrisiken für das Laborpersonal bei der Durchführung der Isotopenmassenspektrometrie und der Vorbereitung der Proben.
- › Die Verifizierung anhand von Blindproben wurde bei Eiern erfolgreich durchgeführt.
- › Die Methode ist validiert.
- › Bei vorhandener und umfassender Referenzdatenbank kann eine Zuordnung zu einem Anbausystem innerhalb von 24 Stunden ab Probenanlieferung erfolgen.
- › Mit dieser Methode können Einzelproben analysiert und dem Anbausystem zugeordnet werden. Somit können auch Vermischungen von biologischen und konventionellen Proben in einer Charge detektiert werden.
- › Die Isotopenmassenspektrometrie für Lebensmittel ist in verschiedenen privaten und öffentlichen Laboratorien vorhanden. Das Personal in diesen Laboratorien ist bereits trainiert und die Anschaffung des Isotopenmassenspektrometers entfällt.
- › Es existieren bereits umfangreiche Referenzdaten für <sup>15</sup>N-Isotopenmessdaten von Eiern. Somit ist eine wichtige Voraussetzung für die korrekte Zuordnung der Blindproben von Eiern zum Anbausystem gegeben.
- › Die statistische Auswertung der Messdaten (Diskriminanzanalyse) kann mit gängiger Statistik-Software durchgeführt werden.
- › Die Methode wird schon in der Praxis der Authentizitätsprüfung von Lebensmitteln angewendet (z. B. Eier).

Schwächen:

- › Die Aufbereitung der Proben für die Isotopenmessung kann zeitintensiv sein (z. B. beim Eiklar).
- › Die Anschaffungskosten des Isotopenmassenspektrometers bewegen sich zwischen 100'000 und 250'000 Euro. Es sind keine Zusätze notwendig.
- › Isotopenmassenspektrometer sind nicht weit verbreitet in den kommerziellen Laboratorien.
- › Zur statistischen Sicherheit werden viele <sup>15</sup>N-Isotopen-Referenzdaten von ökologischen und konventionellen Produkten gebraucht. Erst dann können Blindproben dieser Probenart zuverlässig und korrekt einem Anbausystem (biologisch oder konventionell) zugeordnet werden. Diese umfassenden Referenzmessungen müssen für jede Probenart separat durchgeführt werden, da die Daten nicht von einer Probenart auf die andere übertragbar sind.
- › Eine solche umfassende <sup>15</sup>N-Isotopen-Referenzdatenbank braucht es noch z. B. für Salat.

### 3.1.2 Kohlenstoff ( $\delta^{13}\text{C}$ )

#### Das Prinzip

Das Element Kohlenstoff kann für Aussagen über die Art der Fütterung herangezogen werden. So existieren in der Natur im Wesentlichen zwei unterschiedliche Photosynthesemechanismen: der Mechanismus der C3-Pflanzen (z. B. Weizen, Zuckerrüben) und der C4-Pflanzen (z. B. Mais, Rohrzucker). Der wesentliche Unterschied liegt in der Art der Bindung des atmosphärischen Kohlendioxids. C4-Pflanzen weisen charakteristisch andere Isotopenwerte im Kohlenstoff auf als C3-Pflanzen. Produkte auf Basis von C3- und C4-Pflanzen lassen sich so

differenzieren (Winkler & Schmidt, 1980) und die Futterbasis von Tieren kann überprüft werden (Metges et al., 1990).

Es ist ein wesentlicher Anspruch der landwirtschaftlichen Biobetriebe, dass eine artgerechte Tierhaltung angestrebt wird. Im Gegensatz zur intensiven Mast- und Rinderhaltung, bei der die Rinder ganzjährig im Stall gehalten werden, praktizieren die Biobetriebe die extensive Rinderhaltung, die sich aus Weidegang im Sommer und Laufstall im Winter zusammensetzt. Neben der artgerechten Haltung liegt der Hauptunterschied in der Gewichtszunahme während der Mast. Bei der intensiven Mast werden energiereiche Futtermittel wie beispielsweise Maissilage, Getreide und Soja-Extraktionsschrot verfüttert. Bei der extensiven Mast bildet weniger energiereiches Futter wie Gras und Grassilage die Futtergrundlage (Boner, 2006).



**Abbildung 1: Extensive Rinderhaltung auf der Weide**

Der überwiegende Teil des Rindfleischs in Deutschland stammt aus intensiver Masthaltung mit Einsatz von Maissilage. Die Verwendung von Maissilage fehlt weitgehend in der ökologischen Landwirtschaft bzw. hat hier nur eine Bedeutung bei zusätzlicher Milchproduktion. Mais ist ein typischer Vertreter der C4-Pflanzen und unterscheidet sich maßgeblich in seinem  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnis von der Mehrzahl der wichtigsten Kulturpflanzen, wie z. B. der einheimischen Getreidearten, Gräser, Kartoffeln und Sojabohnen.

Das  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnis in den Pflanzen wird an die Tiere und Menschen über das Futter bzw. die pflanzlichen Lebensmittel weitergegeben. So ist die Grundlage der menschlichen Nahrung etwa in den USA stärker durch C4-Pflanzen geprägt als beispielsweise in Deutschland, wo die Nahrungsbasis mehr C3-gewichtet ist. Diese Unterschiede in der Nahrungsgrundlage lassen sich in den  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen menschlicher Haare nachweisen (Nakamura et al., 1982).

Weiter haben DeNiro und Epstein (1978) festgestellt, dass die  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse im Gewebe der Tiere im Vergleich zum eingenommenen Futter um 1 ‰ angereichert vorliegen. Dieser Trend konnte von Boner (2006) für Rindfleisch bestätigt werden. Die  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse in einzelnen Körperteilen der Tiere sind unterschiedlich, bedingt durch die verschiedenen Kohlenstoffumsatzzeiten in den Organen und Geweben und die diversen biochemischen Prozesse im Körper, welche unterschiedliche Isotopen-Fraktionierungsraten aufweisen können (Boner, 2006; Hobson & Clark, 1992; Sponheimer et al, 2006).

## Die Messung und Auswertung

Als Methode zur Messung von stabilen Isotopen hat sich die Massenspektrometrie, neben der NMR<sup>2</sup>, besonders bewährt. Der hier untersuchte Einsatzbereich liegt in der Messung stabiler Isotope, die im Wesentlichen mit drei Arten von Massenspektrometern durchgeführt wird (TIMS<sup>3</sup>, ICP-MS<sup>4</sup> mit Multikollektor und IRMS<sup>5</sup>), da sie die stabilen Isotope mit der nötigen Genauigkeit und Reproduzierbarkeit detektieren können. „Leichte“ Elemente, besonders die stabilen Isotope der Bioelemente, werden mit dem Isotopenmassenspektrometer bestimmt (Boner, 2006).

Die Stabil-Isotopenmassenspektrometer können nur einfache Gase vermessen. Deshalb ist es notwendig, die Kohlenstoffverbindungen der Probe vollständig in das einfache Gas Kohlendioxid zu überführen. In der Regel werden Elementanalytoren genutzt, welche dieses einfache Gas durch oxidative Verbrennung darstellen. Anfallendes Verbrennungswasser wird eliminiert. Anschließend erfolgt die Trennung von Kohlendioxid und Stickstoff mit einer gepackten Säule. Zur direkten Vermessung von Kohlendioxid findet ein Isotopenmassenspektrometer in Kombination mit einem Diluter Anwendung. Zur Kalibrierung der Isotopenmassenspektrometer werden die internationalen Standards der IAEA verwendet (Boner, 2006).

Zur Darstellung der analytischen Daten kann die Box-Whisker-Auswertung gewählt werden. Die Box- und Whisker Plots, kurz Box Plots genannt, sind eine einfache Möglichkeit, Daten anhand von Quartilen zusammenfassend darzustellen. Die weitere statistische Auswertung erfolgt mittels der Diskriminanzanalyse. Die Diskriminanzanalyse kombiniert Variablen bzw. Merkmale oder Messgrößen linear so, dass vorgegebene unabhängige Gruppen optimal voneinander getrennt werden. Die Trennung erfolgt durch Erfassung einer bestimmten Anzahl von messbaren Merkmalen dieser Objekte und durch Aufstellung einer Diskriminanzfunktion (Trennfunktion). Die Eigenart der Diskriminanz-Analyse ergibt sich aus der Diskriminanzfunktion, welche eine Zuordnung von Fällen zu einer von mehreren alternativen Gruppen ermöglicht (Boner, 2006). ((vgl. S. 7, mb))

## Untersuchte Lebensmittel

### Rindfleisch:

Für die Untersuchung der  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse in Biorindfleisch und Rindfleisch konventionellen Ursprungs wurde das Fleisch von Rindern aus biologischer Haltung und aus konventioneller Haltung analysiert. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Rinder regional geschlachtet wurden, um den Einfluss des Transports auf die Isotopenverhältnisse zu minimieren. Das Biorindfleisch kam von Biohöfen aus den Großräumen Rheinbach-Düren-Aachen (55 Proben), Hamburg-Bremen-Kiel (103 Proben) und München (65 Proben). Jeder Biobetrieb lieferte monatlich Fleischproben von den geschlachteten Rindern im Zeitraum September 1999 bis März 2001, sodass die saisonalen Schwankungen in den Untersuchungen abgebildet werden können. Zuzüglich zu den 223 ökologischen Erzeugerproben wurden 21 Handelsproben konventionellen Rindfleischs einbezogen (Boner, 2006).

---

<sup>2</sup> NMR: Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

<sup>3</sup> TIMS: Thermal Ionisation Source Mass Spectrometry

<sup>4</sup> ICP-MS: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

<sup>5</sup> IRMS: Isotope Ratio Mass Spectrometer, Isotopenmassenspektrometer

Im Bezug auf den  $\delta^{13}\text{C}$  liegt nur eine sehr kleine Variation in den verschiedenen Körperteilen des Rindes vor (untersucht: Jungrind und Altrind; Standardabweichung 0,1 bis 0,2). Dies wurde an 69 untersuchten weiteren Proben (Kamm, Brust, Keule) bestätigt.

Es konnte kein Hinweis auf signifikante Unterschiede im Vergleich von Jungrind und Altrind hinsichtlich des Alters, Geschlechts oder der Rasse des Tieres, von dem das beprobte Fleisch stammte, aufgezeigt werden. Der Untersuchungsansatz wurde bewusst praxisnah angelegt, sodass kein Fleisch direkt nach der Schlachtung untersucht wurde, sondern Fleisch, das den üblichen Abhäng- und Zerlegungsprozess durchlaufen hat. Das Rohfleisch der Proben wurde gefriergetrocknet. Aus dem so gewonnenen Trockenfleisch wurde Rohprotein extrahiert, welches für die Messungen der  $^{13}\text{C}$ -Isotopen verwendet wurde (Boner, 2006).

Bei  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen oberhalb von -20 ‰ im Rohprotein von Rindfleisch kann von einer konventionellen Herkunft ausgegangen werden (Boner, 2006).

### **Bewertung der Anwendbarkeit in der Praxis**

#### Stand der Entwicklung:

Die Isotopenmassenspektroskopie ist eine gut etablierte Methode. Sie wird für die Authentizitätsprüfung (z. B. geographischer Ursprung) von gewissen Lebensmitteln seit einigen Jahren in Praxislaboren eingesetzt. Die erweiterte Anwendung für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln ist neueren Datums. Das Spektrum der Lebensmittel, deren Anbausystem (Bio/konventionell) mittels Isotopenmassenspektroskopie unterschieden werden kann, soll erweitert werden.

#### Stärken:

- › Im tierischen Bereich bieten die  $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse Möglichkeiten, über den abgeschätzten C4-Anteil in der Nahrung Hinweise auf eine Intensivmast mit Mais zu erhalten, und bieten somit eine indirekte Möglichkeit zur Unterscheidung von konventionell und ökologisch erzeugten Produkten.
- › Die Probenanalyse ist preiswert (ca. 100 Euro/Probe).
- › Es können ca. 50 Proben pro Tag als Doppelbestimmung analysiert werden.
- › Es bestehen keine Gesundheitsrisiken für das Laborpersonal bei der Durchführung der Isotopenmassenspektrometrie und der Vorbereitung der Proben.
- › Die Methode ist validiert.
- › Der Arbeitsaufwand für die Probenaufbereitung ist begrenzt.
- › Die Isotopenmassenspektrometrie für Lebensmittel ist in verschiedenen privaten und öffentlichen Laboratorien vorhanden. Somit ist das Laborpersonal in diesen Laboratorien bereits trainiert und die Anschaffung des Isotopenmassenspektrometers entfällt.
- › Es existiert bereits eine Referenzdatenbank für  $^{13}\text{C}$ -Isotopenmessdaten von Rindfleisch.
- › Die statistische Auswertung der Messdaten (Diskriminanzanalyse) kann mit gängiger Statistik-Software durchgeführt werden.

#### Schwächen:

- › Die Aufbereitung der Proben für die Isotopenmessung kann zeitintensiv sein, z. B. muss das Rohprotein vom Rindfleisch extrahiert werden.
- › Die Anschaffungskosten des Isotopenmassenspektrometers bewegen sich zwischen 100'000 und 250'000 Euro. Es sind keine Zusätze notwendig.

› Mit  $^{13}\text{C}$ -Isotopen kann der Anteil von Mais in der Nahrung nachgewiesen und halbquantitativ abgeschätzt werden. Jedoch ist der Einsatz von Biomais auch in der ökologischen Landwirtschaft möglich. Ohne Rückführung der Erkenntnis aus den  $^{13}\text{C}$ -Isotopenverhältnissen auf die eingesetzte Menge an Mais kann nur der Status in der Nahrung wiedergegeben, jedoch nicht zwischen biologisch und konventionell erzeugtem Rindfleisch unterschieden werden.

## 3.2 Protein-Profiling

### Das Prinzip

Pflanzenbiologische und mikrobiologische Forschungsarbeiten haben gezeigt, dass einige Umweltfaktoren, die u. a. anbaubedingt sind, wie z. B. Art der Nährstoff- und Mineralversorgung, Bestandsdichte, Bodenmikroorganismen, Pflanzenpathogene und Bodenqualität, Auswirkungen auf den pflanzlichen Stoffwechsel haben (Bray et al., 2000; Hammond-Kosack & Jones, 2000).

Der Langzeit-DOK<sup>6</sup>-Versuch in der Schweiz hat gezeigt, dass die Pflanzenernährung und die Bodenqualität in den verschiedenen Anbauvarianten variieren (Mäder et al., 2002). Grundsätzlich ist daher davon auszugehen, dass sich ökologisch und konventionell angebaute Pflanzen in Teilen ihres Stoffwechsels unterscheiden. Diese Unterschiede sind vermutlich in den vegetativen Organen am deutlichsten ausgeprägt (Kartoffeln, Karotten, Blattgemüse), können sich aber auch auf die generativen Organe, z. B. die Körner von Getreide, auswirken (Langenkämper et al., 2007).

Eine Reihe von Methoden, die es erlauben, den pflanzlichen Stoffwechsel umfassend zu analysieren, werden mit dem Begriff „Profiling-Techniques“ bezeichnet. Grundsätzlich ermöglichen die Profiling-Techniken die Erfassung der gesamten Bandbreite des Stoffwechsels auf der Ebene der mRNA<sup>7</sup> (Transcripte), der Proteine (Lottspeich, 1999) und auch der Stoffwechselmetabolite (Fiehn et al., 2000).

Das Proteom des Weizenkorns wurde in den letzten Jahren für verschiedene Fragestellungen mit Protein-Profiling untersucht, z. B. zur Identifizierung von Proteinen als genetische Marker für die Züchtung (Cornish et al., 2001), zur Charakterisierung der Proteinzusammensetzung in unreifem und reifem Endosperm (Skylas et al., 2000; Vensel et al., 2005), zur Aufklärung der biologischen Funktion einzelner Proteine wie Thioredoxin (Wong et al., 2004) und zur Untersuchung der Auswirkung von Hitzestress auf die Proteinexpression (Majoul et al., 2003). Die Anwendung der Profiling-Techniken zur vergleichenden Charakterisierung von Pflanzen wurde erst vor Kurzem beschrieben. Leshera et al. (2007) verwendeten Proteomics, um Kartoffeln aus ökologischem und konventionellem Anbau zu vergleichen. Lu et al. (2005) verwendeten Weizen-DNA-Chips zur Charakterisierung des Transcriptoms von Weizen aus intensiver und extensiver Landwirtschaft.

<sup>6</sup> DOK: 1978 wurde ein Langzeitversuch angelegt, um die verschiedenen landwirtschaftlichen Anbausysteme zu vergleichen. Als Versuchsanlage wurde 1,5 Hektar Ackerfläche in Therwil bei Basel ausgewählt. Ursprünglich wurden drei Systeme angelegt: das biologisch-dynamische (D), das organisch-biologische (O) und das konventionelle (K), kurz DOK. Das konventionelle System wurde 1985 in ein integriertes umgewandelt.

<sup>7</sup> mRNA: messenger Ribonucleic Acid, Messenger-Ribonukleinsäure



## Die Messung und Auswertung

### Arbeitsschema:

Die Proben werden zerkleinert bzw. geschrotet. Aus der geschroteten Probe werden die Proteine extrahiert. Dieser Proteinextrakt wird von unerwünschten Verbindungen gereinigt, welche die zweidimensionale Gelelektrophorese stören könnten. Für die Proteinauftrennung in der ersten Dimension der zweidimensionalen Gelelektrophorese wird das gereinigte Proteinextrakt einer isoelektrischen Fokussierung unterzogen. Hier werden die Proteine aus dem zu untersuchenden Extrakt auf der Basis ihres relativen Gehalts saurer und basischer Aminosäurereste in einem pH-Gradienten aufgetrennt. In einem zweiten Schritt werden die Proteine, welche durch die isoelektrische Fokussierung aufgetrennt wurden, senkrecht zur ersten Dimension in einer zweiten Elektrophorese nach ihrer Größe getrennt (SDS<sup>8</sup>-PAGE<sup>9</sup>). Das 2D<sup>10</sup>-Gel wird anschließend digital fotografiert und mit Hilfe eines Bildauswertungsprogramms ausgewertet. Dabei werden die 2D-Gelreplikate zu virtuellen 2D-Mittelwertgelen verarbeitet. Auf Basis der 2D-Mittelwertgele wird dann ein Vergleich des relativen Gehalts jedes einzelnen Proteins durchgeführt. Für die Identifikation der Proteine aus den 2D-Gelen werden diese zuerst zu Peptiden verdaut und diese anschließend in einem MALDI<sup>11</sup>-TOF<sup>12</sup>-Massenspektrometer analysiert. Die experimentell erhaltenen Spektren der Peptidmassen werden in einer Datenbank mit bekannten Sequenzdaten von grünen Pflanzen verglichen (Langenkämper et al., 2007).

---

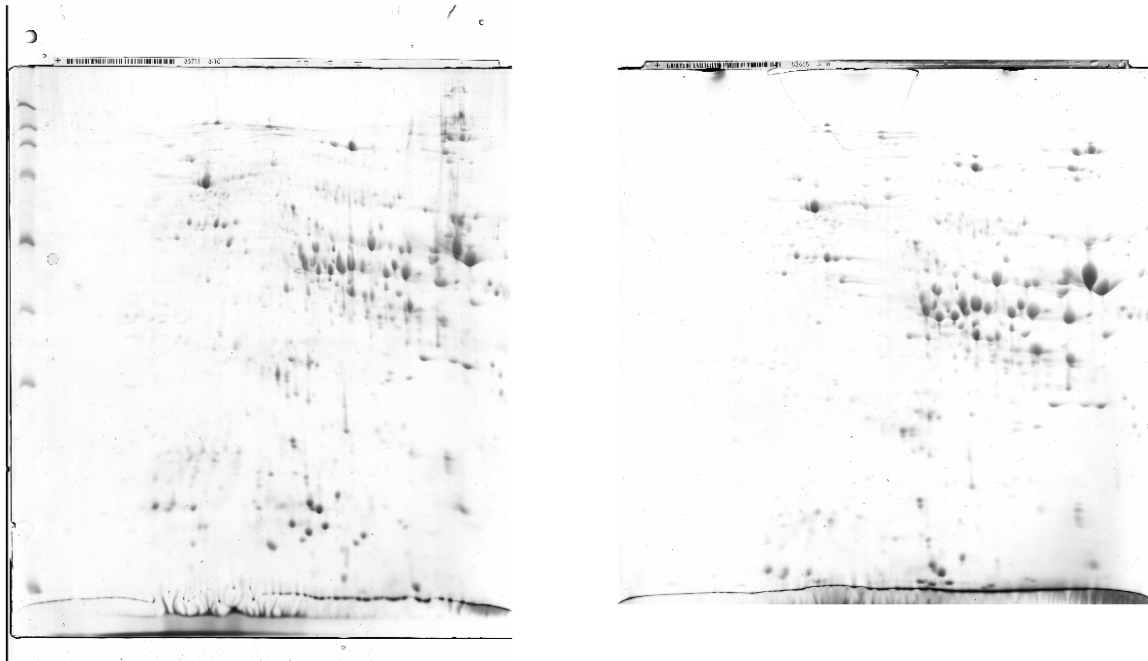
<sup>8</sup> SDS: Sodium Dodecyl Sulfate, Natriumdodecylsulfat

<sup>9</sup> PAGE: Polyacrylamide Gel Electrophoresis, Polyacrylamidgelelektrophorese

<sup>10</sup> 2D: zweidimensional

<sup>11</sup> MALDI: Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation, Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation

<sup>12</sup> TOF: Time Of Flight, Flugzeit



**Abbildung 2: Zweidimensionale Auftrennung von Weizenkornproteinen durch 2D-Gelelektrophorese. Rechts das Gel einer biologisch-dynamischen Probe; links das Gel einer konventionell-mineralischen Probe (Quelle: Langenkämper & Bonte, 2010).**

## Untersuchte Lebensmittel

### Weizen:

Es wurden Weizenkörner der Sorte Tittlis aus definiertem Anbau (konventionell und Bio; Probenmaterial aus dem Langzeit-DOK-Versuch in der Schweiz, Mäder et al., 2002) der Erntejahre 2003 und 2005 untersucht. Von jeder Anbauvariante wurden Proben von mindestens drei Feldwiederholungen analysiert. Von jeder Variante wurden drei technische 2D-Gelreplikate erstellt und deren 2D-Mittelwertgele analysiert (Langenkämper et al., 2007).

Insgesamt wurden im Protein-Profilung aus Weizenkörnern etwa 1000 Proteine detektiert. Die relativen Gehalte dieser 1000 Proteine wurden im statistisch abgesicherten Vergleich von ökologischen und konventionellen Weizenproben ermittelt. Dazu wurden alle 1000 Proteine von jeweils über 24 2D-Gelen aus den Erntejahren 2003 und 2005 miteinander verglichen. Von 1000 Proteinen konnten 16 Proteine identifiziert werden, anhand derer die DOK-Weizenmuster aus ökologischem und konventionellem Anbau unabhängig vom Erntejahr unterschieden werden können. Unter diesen Proteinen sind Speicherproteine, Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels, eine Peroxidase und einige Proteine mit unbekannter Funktion (Langenkämper et al., 2007).

## Bewertung der Anwendbarkeit in der Praxis

Die Methode Protein-Profilung dient dazu, eine Proteinsignatur zu identifizieren, die eindeutig zwischen ökologischem und konventionellem Weizen unterscheiden kann. Diese Proteinsignatur wird aus einer Anzahl von Proteinen bestehen, die in den unterschiedlichen Anbauformen signifikant verschieden stark auftreten; eine derartige Proteinsignatur kann auch als Biomarker bezeichnet werden. In diesem Projekt werden die Protein-Profilung-Methoden 2D-Gelelektrophorese und MALDI-TOF-Massenspektrometrie eingesetzt, um eine entsprechende Proteinsignatur zu identifizieren.

Entscheidend für die Anwendbarkeit in der Praxis ist, dass die etablierte Proteinsignatur in Blindproben verlässlich und schnell sowie mit relativ geringem personellem und finanziellem Aufwand wiedergefunden werden kann. Für eine solche, dann routinemäßige Untersuchung auf das Vorhandensein der Proteinsignatur, sind die 2D-Gelelektrophorese und MALDI-TOF-Massenspektrometrie zu aufwendig. Stattdessen würde man für diesen Zweck vereinfachte und damit in der Praxis leichter nutzbare Proteinnachweisverfahren, basierend auf Antikörpertechnologie (z. B. ELISA<sup>13</sup>), entwickeln.

Da sich die Methode Protein-Profilung wie oben geschildert im Entwicklungsstadium befindet, ist eine Beantwortung aller Fragen des standardmäßigen Fragebogens im Hinblick auf eine Praxisanwendung nicht möglich. Die folgende Ausarbeitung des Fragebogens bezieht sich auf die Methoden 2D-Gelelektrophorese und MALDI-TOF-Massenspektrometrie, es sei denn, es wird auf eine vereinfachte Methode verwiesen.

### Stärken:

- › Die Methode unterscheidet konventionellen von ökologischen Weizen der Sorte Titlis unabhängig von unterschiedlichen Erntejahren anhand einer Proteinsignatur.
- › Der Investitionsaufwand für 2D-Gelelektrophorese und MALDI-TOF-Massenspektrometrie ist für die Praxis nicht relevant, da diese Methoden in der Praxis später nicht eingesetzt werden.
- › Im jetzigen Entwicklungsstadium (Absicherung der Proteinsignatur) ist das Protein-Profilung nicht geeignet für die Einführung in kommerzielle Laboratorien. Jedoch wäre eine vereinfachte Methode, welche allein auf der Messung der Eiweiße der Proteinsignatur basiert, für kommerzielle Laboratorien geeignet. Für diesen Zweck ist beispielweise eine ELISA-Methode einsetzbar, welche relativ geringe Kosten für Investition und Verbrauchsmittel erfordert.
- › Bei Vermischungen von konventionellen und ökologischen Chargen eines Produktes ist nur die Analyse von einzelnen intakten Produkten (z. B. einzelne Weizenkörner) sinnvoll. Eine Vermischung von Chargen könnte so detektiert werden. Jedoch ist der Aufwand hoch, da zur statistischen Absicherung des Ergebnisses eine größere Zahl von Einzelprodukten untersucht werden muss.

### Schwächen:

- › Methode befindet sich im Entwicklungsstadium (s. o.).
- › Es sind noch Untersuchungen an verschiedenen Standorten, mit verschiedenen Sorten und über weitere Erntejahre notwendig.
- › Im momentanen Entwicklungsstadium der Methode sind noch keine Aussagen über die Wahrscheinlichkeit der Unterscheidung zwischen biologisch und konventionell von Blindproben möglich.

---

<sup>13</sup> ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay bzw. Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest

- › Es ist möglich, dass die Methode allein nicht ausreichen wird, um eine zuverlässige Zuordnung von Weizen-Blindproben aus konventioneller und ökologischer Erzeugung zu machen.
- › Die Proteinsignatur eines rohen Lebensmittels kann nicht ohne Weiteres auf das verarbeitete Lebensmittel übertragen werden. Bei verarbeiteten Lebensmitteln muss geprüft werden, ob die Proteinsignatur noch nachweisbar ist.
- › Die Methode eignet sich nur bedingt, um Vermischungen von konventionellen und ökologischen Chargen eines Produktes zu detektieren (s. o.). Insbesondere wenn Produkte bei der Verarbeitung zerkleinert werden, kann die Methode nicht zur Unterscheidung genutzt werden.

### 3.3 Metabolom-Profilung

#### Das Prinzip

Der Begriff Metabolom wurde in Analogie zu den Begriffen Genom, Transkriptom und Proteom geprägt und leitet sich von Metabolismus, also von Stoffwechsel, ab. Das Metabolom fasst alle charakteristischen Stoffwechselprodukte einer Zelle bzw. eines Gewebes zusammen. Es umfasst also das Set von Metaboliten, welches von einem Organismus synthetisiert wird (Oliver et al., 1998).

Die Erforschung des Metaboloms (Metabolomik) umfasst die Wechselwirkung der darin enthaltenen Metabolite, deren Identifizierung und Quantifizierung. Die Metabolomik misst die zu einem festgelegten Zeitpunkt vorhandenen Metabolite und zieht Rückschlüsse auf die aktivierten Stoffwechselwege. Aufgrund der hohen Diversität der zu untersuchenden Stoffe wie Zucker, Carbonsäuren, Aminosäuren, Nukleotide, Lipide, Hormone, sekundäre Stoffwechselprodukte bietet sich die Metabolomanalyse besonders als Profiling-Methode an (Kopka et al., 2004). Das Metabolom-Profilung befasst sich mit der Identifizierung und Quantifizierung einer eingeschränkten Anzahl von Stoffwechselmetaboliten in einer biologischen Probe. Dabei werden die Metabolite vorab selektiert (Fiehn, 2002).

Das Metabolom-Profilung ist in den vergangenen Jahrzehnten vorrangig für medizinische Fragestellungen wie die Diagnose von Krankheiten eingesetzt worden (siehe z. B. Jellum et al., 1972). Ab den 90er-Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurde das Metabolom-Profilung in der Pflanzenphysiologie und den „Functional Plant Genomics“ angewendet. Sauter et al. (1991) verwendeten das Metabolom-Profilung, um wichtige Veränderungen im Metabolismus der Gerste vor und nach der Anwendung von Herbiziden zu untersuchen. Röhlig et al. (2009) stellten fest, dass die natürliche Variabilität des Metaboliten-Pools von Maiskörnern auf das Zusammenspiel von Umwelteinflüssen, Saison und Genotyp zurückzuführen ist.

Einige anbaubedingte Umweltfaktoren, wie z. B. die Art der Nährstoff- und Mineralversorgung, die Bestandsdichte, die Bodenmikroorganismen, die Pflanzenpathogene und die Bodenqualität, haben Auswirkungen auf den pflanzlichen Stoffwechsel (Bray et al., 2000; Hammond-Kosack & Jones, 2000). Der Langzeit-DOK-Versuch in der Schweiz hat gezeigt, dass die Pflanzenernährung und die Bodenqualität in den verschiedenen Anbauvarianten variieren (Mäder et al., 2002). Grundsätzlich ist daher davon auszugehen, dass sich ökologisch und konventionell angebaute Pflanzen in Teilen ihres Stoffwechsels unterscheiden, sodass Unterschiede auch im Metabolom zu erwarten sind.

Zörb et al. (2006, 2009) verglichen die Auswirkung von biodynamischen, biologischen und konventionellen Anbausystemen auf das Metabolom von Weizenkörnern bzw. -ähren. Mittels Metabolom-Profilung konnten sie signifikante Unterschiede in der Ausprägung von acht bzw. 17 Metaboliten zwischen den Proben der drei Anbausysteme feststellen. Röhlig & Engel (2010) identifizierten drei Metabolite in Maiskörnern, deren abweichende Konzentrationen ebenfalls auf die unterschiedlichen Auswirkungen von ökologischem und konventionellem Anbau beruhen.

## **Die Messung und Auswertung**

Es existieren unterschiedliche Methoden der Metabolomanalyse, wie z. B. die Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS), die Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS), die Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie (CE-MS), die Kernresonanzspektroskopie (NMR), die Infrarotspektroskopie (IR) und die neue Methode „Direct Analysis in Real Time - Time of Flight Mass Spectrometry“ (DART-TOFMS). Die Methoden unterscheiden sich in ihrer Sensitivität, in ihrem Durchsatz sowie in der Vollständigkeit der Metaboliten, die bei der Analyse erfasst werden. Aufgrund der hohen Sensitivität und der Möglichkeit sehr viele Substanzen zu detektieren, hat sich die GC-MS zu einer wichtigen Methode der Metabolomanalyse entwickelt (Weckwerth & Morgenthal, 2005). Hier wird nur auf die GC-MS eingegangen.

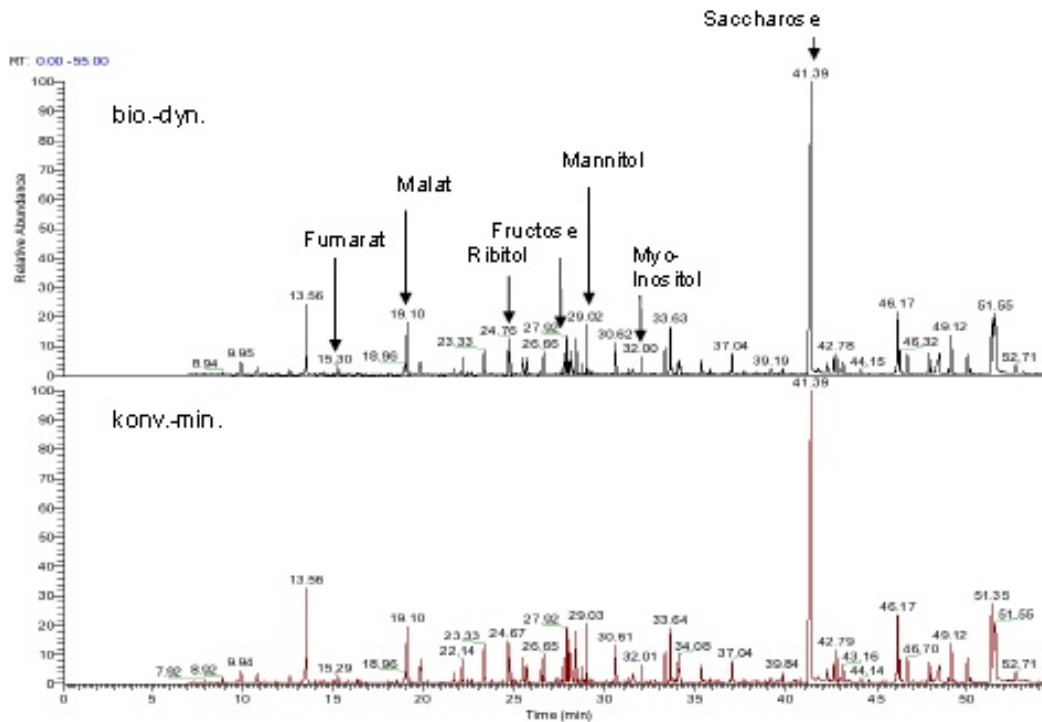
### Arbeitsschema für das Metabolom-Profilung mit Gaschromatographie-Massenspektroskopie:

Unter GC-MS ist die Verbindung eines Gaschromatographen mit einem Massenspektrometer zu verstehen.

Die Proben werden zuerst zerkleinert (bzw. geschrotet) und homogenisiert. Anschließend erfolgt die Probenaufbereitung, bei der die enzymatische Aktivität der biologischen Proben möglichst rasch gestoppt werden muss (z. B. durch Einfrieren mit flüssigem Stickstoff und Gefriertrocknung). Danach erfolgt die eigentliche Extraktion der Metaboliten mit organischen Lösungsmitteln und gegebenenfalls Hitze einwirkung (Fiehn, 2002). Mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie können nur hydrophobe Substanzen detektiert werden. Da die Mehrzahl der Metaboliten jedoch hydrophile funktionelle Gruppen enthalten, müssen diese Gruppen chemisch maskiert, d. h. derivatisiert werden. Damit werden die Flüchtigkeit und die thermische Stabilität der Metaboliten erhöht. Im Anschluss daran wird das derivatisierte Metabolitengemisch im Gaschromatographen aufgetrennt. Die einzelnen Verbindungen wandern bei hoher Temperatur mit unterschiedlichen Retentionszeiten durch die Kapillarsäule. Die Geschwindigkeit mit der eine Substanz die Kapillarsäule durchquert, ist charakteristisch für diese Substanz und hängt von den Arbeitsbedingungen der Gaschromatographie ab. Die nacheinander auftretenden Derivate werden anschließend im Massenspektrometer ionisiert. Durch den Ionisierungsprozess entstehen für jede Substanz Zerfallprodukte mit einer bestimmten Molekularmasse und Ladung. Diese ionisierten Fragmente werden durch Ionenfallen, Quadrupolanalysatoren oder Flugzeitanalysatoren (TOF<sup>14</sup>) der Masse nach aufgetrennt. Im Analysator werden ihre Massenspektren gemessen und mit Hilfe eines Computers aufgezeichnet (Bunk, 2007). Für die Identifizierung der Metaboliten, werden ihre Massenspektren mit denen von bekannten Substanzen in Metaboliten-Datenbanken (z. B. NIST 2005 Database, Golm Metabolom Database) verglichen. Die Quantifizierung der Metaboliten erfolgt automatisch mit spezieller Software (z. B. Xcalibur 1.4) mittels Integration der gemessenen Peaks der Massenspektren. Für die statistische Auswertung können z. B. der Tukey-Test und Student's T-Test angewendet werden (Zörb et al., 2006; Zörb et al., 2009) wie auch die Principle Component Analysis (PCA) (Fiehn, 2002; Röhlig et al. (2009).

---

<sup>14</sup> TOF: Time Of Flight, Flugzeit



**Abbildung 3: Auftrennung der Metabolite (Metaboliten-Profiling) aus Weizen der Sorte "Runal" des DOK-Anbauversuchs über Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS). Getreide aus biologisch-dynamischem Anbau wurde verglichen mit Getreide aus konventionellem Anbau. Die Proben wurden extrahiert und mit Hilfe der GC-MS analysiert. In wesentlichen Inhaltsstoffen stimmen die Proben überein. In einigen Analyten zeigen sich jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Proben (Quelle: Zörb et., 2009)**

## Untersuchte Lebensmittel

### Weizen:

Die Metabolom-Profile von Weizenkörnern der Sorte Titlis aus definiertem Anbau (konventionell, biodynamisch und biologisch; Probenmaterial aus dem Langzeit-DOK-Versuch in der Schweiz, Mäder et al., 2002) des Erntejahrs 2003 wurden verglichen. Von jeder Anbauvariante wurden Proben von vier Feldwiederholungen analysiert (Zörb et al., 2006).

Insgesamt wurden im Metabolom-Profiling aus Weizenkörnern etwa 250 Metaboliten detektiert. Davon wurden 52 Substanzen identifiziert: 14 Aminosäuren, 11 Zucker und Zuckerderivate, 5 Zuckeralkohole, 12 organische Säuren und 10 weitere Metaboliten. Die relativen Gehalte von den 52 identifizierten Metaboliten aus dem Methanol-Weizenextrakt wurden im statistisch abgesicherten Vergleich von biodynamischen, biologischen und konventionellen Weizenproben ermittelt. Dazu wurden die GC-MS-Chromatogramme von den vier Anbauvarianten für das Erntejahr 2003 miteinander verglichen. Von 52 bekannten Metaboliten konnten acht identifiziert werden, für die statistisch abgesicherte Unterschiede zwischen der biodynamischen, biologischen und konventionellen Anbauvariante festgestellt werden konnten. Unter den acht Metaboliten befanden sich drei Aminosäuren, drei Zucker bzw. Zuckerderivate und zwei weitere Metaboliten (Zörb et al., 2006).

In einem weiteren Versuch wurden wiederum umfassende Metaboliten-Profile in Weizenkörnern und Weizenähren aus definiertem Anbau (konventionell, biodynamisch und biologisch;

Probenmaterial aus dem Langzeit-DOK-Versuch in der Schweiz, Mäder et al., 2002) aus dem Erntejahr 2006 verglichen. Auch in diesem Versuch wurden von jeder Anbauvariante Proben von vier Feldwiederholungen analysiert (Zörb et al., 2009).

Insgesamt wurden im Metabolom-Profilung aus Weizenkörnern und Weizenähren etwa 250 Metaboliten detektiert. Davon wurden 74 Substanzen aus Ähren und 63 Substanzen aus Weizenkörnern identifiziert: 22 Aminosäuren, 13 Zucker und Zuckerderivate, 5 Zuckeralkohole, 16 organische Säuren und 22 weitere Metaboliten. Auch in diesem Erntejahr konnten für 17 der bekannten Metaboliten statistisch abgesicherte Unterschiede zwischen der biodynamischen, biologischen und konventionellen Anbauvariante festgestellt werden. Unter diesen 17 Metaboliten befanden sich hauptsächlich Aminosäuren (Zörb et al., 2009).

## **Bewertung der Anwendbarkeit in der Praxis**

### Stand der Entwicklung:

Die Methode Metabolom-Profilung von Weizen zur Unterscheidung der Anbaumethode befindet sich noch in der Entwicklung. Die hier angewendete GC-MS-Analytik ist allerdings in den meisten Praxislaboratorien gut etabliert.

### Stärken:

- › Die Methode differenziert konventionellen von ökologischem Weizen unabhängig von unterschiedlichen Erntejahren und Sorten. Allerdings wurden die Untersuchungen bisher mit Material von nur einem Standort durchgeführt.
- › Die Anfangsinvestitionen für die GC-MS-Gerätschaften sind mittelgroß (20'000 bis 50'000 Euro). Es bedarf keiner Zusätze.
- › GC-MS-Geräte sind in den meisten kommerziellen Laboratorien vorhanden.
- › Es braucht zwar ein zusätzliches Training des Laborpersonals für die GC-MS-Analytik. Da jedoch GC-MS heutzutage zu den gut etablierten Analysemethoden in vielen Laboren gehört, sollte ein zusätzliches GC-MS-Training für das Laborpersonal nicht notwendig sein.
- › Für die statistische Auswertung der Messdaten (z. B. T-Test, ANOVA, Principle-Compound-Analyse) können gängige statistische Pakete eingesetzt werden.
- › Der Kostenaufwand für die Analyse je Probe (von der Anlieferung bis zu den Endergebnissen) ist gering (weniger als 100 Euro).
- › Der Zeitaufwand für die Analyse einer Probe (von der Anlieferung bis zu den Endergebnissen) beträgt 8 bis 16 Stunden.
- › Das Metabolom-Profilung braucht Datenbanken für die Identifikation der Metaboliten. Metaboliten-Datenbanken gibt es bereits. Diese werden i. d. R. vom Gerätehersteller mit dem Gerät mitgeliefert.
- › Da das Metabolom-Profilung auf die gut ausgereifte und etablierte GC-MS-Analytik zurückgreift, bedarf es keiner Vereinfachung der Analytik für die Praxislaboratorien.
- › Grundsätzlich ist das Metabolom-Profilung geeignet, die Diskriminierung zwischen Bio und konventionell auf andere Produkte pflanzlichen oder tierischen Ursprungs zu erweitern.
- › Bei pflanzlichen Produkten ist die Übertragbarkeit der Biosignatur von einer Kultur auf eine andere vermutlich mit Einschränkungen gegeben. Jedoch fehlen entsprechende vergleichende Untersuchungen.

› Grundsätzlich eignet sich das Metabolom-Profiling dazu, Biomarker auch für die Diskriminierung zwischen Bio und konventionell von verarbeiteten Lebensmitteln zu identifizieren. Jedoch fehlen Untersuchungen mit verarbeiteten Produkten. Es ist noch nicht bekannt, ob sich bei der Verarbeitung die Biomarker der Rohware verändern und somit andere Biomarker für verarbeitete Lebensmittel als für die Rohware gelten.

Schwächen:

- › Die statistische Robustheit der Biosignatur muss mit weiteren Messungen an unterschiedlichen Standorten erhöht werden. Dies ist allerdings unabhängig von der Etablierung einer Datenbank.
- › Die Methode ist noch nicht für Weizen verifiziert. Die Untersuchungen für die Verifizierung (korrekte Klassifizierung von Weizen-Blindproben als Bio oder konventionell) laufen noch.
- › Die Methode ist noch nicht validiert. Untersuchungen laufen im Labor an der Uni Bielefeld. Ringversuche mit anderen Laboren wurden noch nicht durchgeführt.
- › Bei der Durchführung der Methode werden giftige Lösungsmittel gehandhabt. Insofern besteht ein gewisses Gesundheitsrisiko für das Laborpersonal. Dies macht den Einsatz von Abzug, Schutzkleidung und Handschuhen notwendig.
- › Im momentanen Stadium der Methode kann noch keine Aussage über die Wahrscheinlichkeit der Unterscheidung zwischen Bio und konventionell gemacht werden.
- › Die Methode allein reicht nicht aus, um eine zuverlässige Zuordnung von Weizen- Blindproben aus konventioneller und ökologischer Erzeugung zu machen. Die korrekte Zuordnung von Weizen-Blindproben zu einem Anbausystem (Bio oder konventionell) könnte durch die Kombination mit anderen Analytikmethoden erhöht werden, z. B. mit der stabilen Isotopenmassenspektroskopie und die Analytik von chemisch-synthetischen Pestizidrückständen.
- › Bei tierischen Produkten ist die Übertragbarkeit der Biosignatur von einer Tierart auf eine andere vermutlich nicht gegeben. Wahrscheinlich hat jede Tierart andere Biomarker für die Diskriminierung zwischen Bio und konventionell.
- › In einer biologisch-konventionellen Mischprobe ist eine Verschiebung der Biomarker sichtbar. Es ist daher keine eindeutige Aussage möglich, ob die analysierte Probe Bio oder konventionell ist. Bei Weizen z. B. könnten auch Einzelkörner analysiert werden. Für eine statistische Auswertung braucht es allerdings Analysewerte von 100 Körnern. Dabei würden die Analysekosten explodieren. Daher ist diese Möglichkeit eher nicht relevant für die Praxis.



## 3.4 Kombination von Parametern aus unterschiedlichen Analytikmethoden

Wenn zwei oder mehr Parameter unabhängig voneinander biologisch von konventionell erzeugten Produkten unterscheiden können, kann die Kombination der Parameter die Trennschärfe verbessern.

### 3.4.1 Stabilisotopenanalytik und Fettsäurenanalytik

#### Das Prinzip

##### Kohlenstoffisotopen

Das Element Kohlenstoff kann für Aussagen über die Art der Fütterung herangezogen werden. So existieren in der Natur im Wesentlichen zwei unterschiedliche Photosynthesemechanismen: der Mechanismus der C3-Pflanzen (z. B. Weizen, Zuckerrüben) und der C4-Pflanzen (z. B. Mais, Rohrzucker). Der wesentliche Unterschied liegt in der Art der Bindung des atmosphärischen Kohlendioxids. C4-Pflanzen weisen charakteristisch andere Isotopenwerte im Kohlenstoff auf als C3-Pflanzen. Produkte auf Basis von C3- und C4-Pflanzen lassen sich so differenzieren (Winkler & Schmidt, 1980) und die Futterbasis von Tieren kann überprüft werden (Metges et al., 1990).

Es ist ein wesentlicher Anspruch der landwirtschaftlichen Biobetriebe, dass eine artgerechte Tierhaltung angestrebt wird. Im Gegensatz zur intensiven Mast- und Rinderhaltung, bei der die Rinder ganzjährig im Stall gehalten werden, praktizieren die Biobetriebe die extensive Rinderhaltung, die sich aus Weidegang im Sommer und Laufstall im Winter zusammensetzt. Neben der artgerechten Haltung liegt der Hauptunterschied in der Fütterung. Bei Bio-Milchkühen besteht das Grundfutter im Sommer überwiegend aus frischem Gras, das bevorzugt durch Weidegang aufgenommen wird. Auch im Winter enthält das Futter der Bio-Milchkühe einen hohen Anteil von Gras-/Kleesilage. Weiterhin ist der Einsatz von Krafffutter (wie z. B. Maissilage und Getreide) in der ökologischen Milchkuhfütterung eingeschränkt. Insgesamt liegt im Vergleich zur konventionellen Milcherzeugung in der ökologischen Produktion ein ganzjährig höherer Anteil an Grünfutter.

Diese Unterschiede in der Fütterung spiegeln sich in der Verteilung der  $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ -Isotopen im Milchfett und im Milchprotein wieder. So hat Milch von Kühen, die vorwiegend mit Gras gefüttert werden, negativere  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte als die von Kühen, welche mehr Krafffutter bekommen (Camin et al., 2008; Kornexl et al., 1997; Molkentin & Giesemann, 2007; Molkentin & Giesemann, 2010). Dabei unterliegen die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte saisonalen Schwankungen, die auf die unterschiedliche Futterzusammensetzung im Winter und im Sommer zurückzuführen sind (Molkentin, 2009; Molkentin & Giesemann, 2010).

##### Fettsäuren

Die Fettsäuren-Zusammensetzung in der Kuhmilch variiert u. a. mit der Haltungsform (Jahreis et al., 1996), mit dem Zugang zu frischem Gras auf der Weide (Kelly et al., 1998), mit der Futterzusammensetzung (Dewhurst et al., 2003; Wijesundera et al., 2003; Grummer, 1991; Palmquist et al., 1993) und mit dem Standort (Thorsdottir et al., 2004a). Dabei unterliegt die Fettsäuren-Zusammensetzung saisonalen Schwankungen, die auf die unterschiedliche Futterzusammensetzung und Haltung im Winter und im Sommer zurückzuführen sind (Butler et al., 2008; Molkentin, 2009).

Ellis et al. (2006) zeigten, dass biologisch erzeugte Kuhmilch in England das ganze Jahr über stets einen höheren Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren hatte, insbesondere an Omega-3-Fettsäuren, als konventionell erzeugte Milch. Butler et al. bestätigten 2008 die ganzjährig höhere Konzentration von der Omega-3-Fettsäure  $\alpha$ -Linolensäure in Biomilch im Vergleich zur konventionellen Kuhmilch in England. Höhere Gehalte an  $\alpha$ -Linolensäure und/oder konjugierter Linolsäure in Biokuhmilch wurden auch aus Deutschland (Jahreis et al., 1996) und Italien (Bergamo et al., 2003) gemeldet. Trotz länderspezifischer Unterschiede in der Fütterung, wurde eine höhere Konzentration an  $\alpha$ -Linolensäure ebenfalls in dänischer, schwedischer und walisischer Biokuhmilch im Vergleich zur konventionell erzeugten Kuhmilch in diesen Ländern festgestellt (Butler et al., 2007).

Allerdings verschwimmen die Unterschiede der Fettsäurezusammensetzung zwischen konventionell und biologisch erzeugter Kuhmilch in den Berggebieten. Unabhängig von konventioneller und biologischer Produktion haben die Kühe der Berggebiete im Sommer Zugang zu frischem Gras und im Winter relativ viel Raufutter. Das erklärt die geringeren Abweichungen in der Fettsäurezusammensetzung der Milch beider Produktionsformen in den italienischen und Schweizer Alpen (Battaglini et al., 2009; Collomb et al., 2008).

#### Kombination von Kohlenstoffisotopen und Fettsäuren

Die signifikante Abweichung der Werte von  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett von biologisch und konventionell erzeugter Kuhmilch machen diese Parameter attraktiv für die Unterscheidung von Bio und konventioneller Kuhmilch. In seinen Untersuchungen mit Kuhmilchfett zeigte Molkentin (2009), dass diese Parameter sehr negativ zueinander korrelieren. Die stark negative Korrelation weist darauf hin, dass zwischen  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchfett und  $\alpha$ -Linolensäure ein Zusammenhang besteht. Schliesslich werden beide Parameter vom Maisanteil im Futter der Milchkühe beeinflusst und weisen auf die Verfütterung von Mais hin.

Die Kombination beider Parameter erhöht die Robustheit der Diskriminierung von biologisch und konventionell erzeugter Kuhmilch.

#### Kombination von Kohlenstoffisotopen aus unterschiedlichen Milch-Fraktionen

Sowohl  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchfett wie  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein eignen sich gleichermaßen um Biokuhmilch von konventioneller Kuhmilch zu unterscheiden. Sie korrelieren stark positiv zu einander, so dass davon ausgegangen werden kann, dass ein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern besteht. Das Verhältnis zwischen den beiden Parametern ist relativ konstant sowohl bei biologisch wie auch bei konventionell erzeugter Kuhmilch. Eine Veränderung des Verhältnisses könnte auf eine Vermischung von Milchkomponenten aus unterschiedlichen Produktionssystemen bei rekombinierten Milchprodukten hinweisen (Molkentin & Giesemann, 2010).

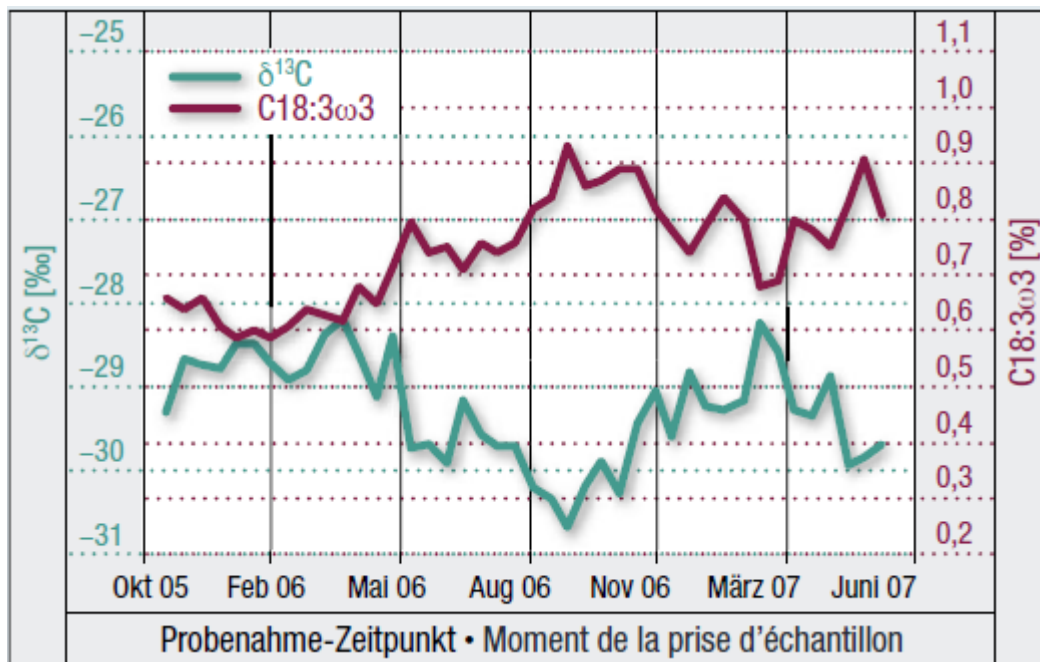


Abbildung 4: Der Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3 $\omega$ 3) und das Isotopenverhältnis von Kohlenstoff ( $\delta^{13}\text{C}$ ) schwanken jahreszeitlich stark im Fett von deutscher Kuhmilch (Quelle: Mol Kentin, Alimenta 21/2008)

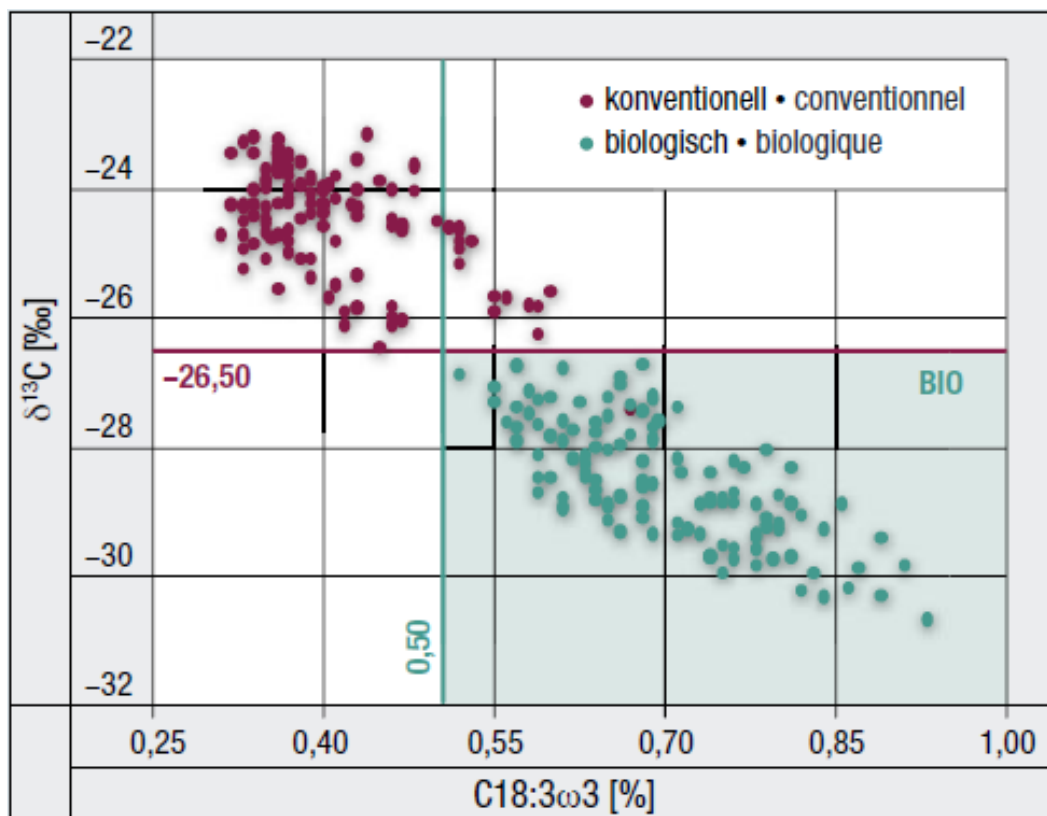


Abbildung 5: Der Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3 $\omega$ 3) und der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von Kuhmilchfett korrelieren stark negativ. Aus den Ergebnissen lassen sich ganzjährig gültige Grenzwerte zur Identifizierung von deutscher Biokuhmilch ableiten (Quelle: Mol Kentin, Alimenta 21/2008).

## Die Messung und Auswertung

### Die Stabil-Isotopenmassenspektrometrie für Kohlenstoff-Isotope

Als Methode zur Messung von stabilen Isotopen hat sich die Massenspektrometrie, neben der NMR<sup>15</sup>, besonders bewährt. Der hier untersuchte Einsatzbereich liegt in der Messung stabiler Isotope, die im wesentlichen mit drei Arten von Massenspektrometern durchgeführt wird (TIMS<sup>16</sup>, ICP-MS<sup>17</sup> mit Multikollektor und IRMS<sup>18</sup>), da sie die stabilen Isotope mit der nötigen Genauigkeit und Reproduzierbarkeit detektieren können. „Leichte“ Elemente, besonders die stabilen Isotope der Bioelemente, werden mit dem Isotopenmassenspektrometer bestimmt (Boner, 2006).

Die Stabil-Isotopenmassenspektrometer können nur einfache Gase vermessen. Deshalb ist es notwendig, die Kohlenstoffverbindungen der Probe vollständig in das einfache Gas Kohlendioxid zu überführen. Dafür werden die Proben in einem Ofen unter Sauerstoffzufuhr bei hohen Temperaturen verbrannt. Anfallendes Verbrennungswasser wird eliminiert. Anschließend erfolgt die Trennung von Kohlendioxid und Stickstoff mit einer gepackten GC<sup>19</sup>-Säule. Das Kohlendioxid wird in das Massenspektrometer überführt. Hierbei werden die Anteile von <sup>12</sup>C- und <sup>13</sup>C-Isotopen gemessen. Zur Kalibrierung der Isotopenmassenspektrometer werden die internationalen Standards der IAEA<sup>20</sup> verwendet. Die Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C) sind in ‰ auf einer δ-Skala (δ<sup>13</sup>C) angegeben und beziehen sich auf die internationalen Standards VBDP<sup>21</sup> bzw. AIR<sup>22</sup>.

### Die Gaschromatographie für die Analyse von Fettsäuren

Die Gaschromatographie (GC) ist eine Verteilungschromatographie, die als Analysenmethode zum Auftrennen von Gemischen in einzelne chemische Verbindungen weite Verwendung findet.

In einem ersten Schritt wird das Fett aus den Proben extrahiert, schonend getrocknet und zu Pulver verarbeitet. Zur Analyse im Gaschromatographen müssen die Triglyceride des Fetts vorher in Methylester überführt werden (Umesterung). Dies erhöht die Hitzestabilität und Flüchtigkeit der Fettkomponenten. Soll das Milchprotein analysiert werden, so werden die Milcheiweiße aus entfetteter Milch ausgefällt und schonend getrocknet. Danach wird das Methylestergemisch oder das Proteingemisch in den Gaschromatographen injiziert und wandert in Gasform bei hoher Temperatur durch die Kapillarsäule. Die einzelnen Verbindungen wandern mit unterschiedlichen Retentionszeiten<sup>23</sup> durch die Säule. Die Geschwindigkeit, mit der eine Substanz die Kapillarsäule durchquert, ist charakteristisch für diese Substanz und hängt von

---

<sup>15</sup> NMR: Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

<sup>16</sup> TIMS: Thermal Ionisation Source Mass Spectrometry

<sup>17</sup> ICP-MS: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

<sup>18</sup> IRMS: Isotope Ratio Mass Spectrometer, Isotopenmassenspektrometer

<sup>19</sup> GC: Gaschromatographie

<sup>20</sup> IAEA: International Atomic Energy Agency, Internationale Atomenergie-Organisation

<sup>21</sup> VBDP: Vienna - PeeDee Belemnite (international gültige Standardsubstanz für <sup>13</sup>C, die von der IAEA in Wien festgelegt wurde).

<sup>22</sup> AIR: Der natürliche Gehalt von <sup>15</sup>N in der Luft (AIR) ist als Standard für <sup>15</sup>N festgelegt.

<sup>23</sup> Retentionszeit ist die Zeit, welche eine Substanz braucht, um durch die Kapillarsäule im Gaschromatographen zu wandern. Sie ist abhängig von den Bedingungen der Gaschromatographie. Unter festgelegten Bedingungen hat jede Verbindung eine charakteristische Retentionszeit.

den Arbeitsbedingungen der Gaschromatographie ab. Mit einem Detektor wird der Austrittszeitpunkt am Säulenende gemessen. Der Zeitpunkt des Austritts am Säulenende und die Menge der Substanz werden mit denen von Standardsubstanzen verglichen. Ein Schreiber, der mit dem Detektor gekoppelt ist, hält die Retentionszeiten der Einzelsubstanzen in einem Chromatogramm graphisch fest. Mit der Auswertung der Peaks des Chromatogramms ist eine sehr schnelle und leichte qualitative und quantitative Bestimmung von komplexen Stoffgemischen möglich.

### Auswertung

Die Messungen der Parameter  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett bzw.  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein werden zuerst separat ausgewertet. Bei den Fettsäuren wird für jede Probe das Chromatogramm analysiert. Auf dem Chromatogramm verkörpern die Peaks die Konzentration der einzelnen Komponenten in Abhängigkeit von der Zeit. Dank der Retentionszeit der Komponenten und dem Vergleich mit Peaks/Retentionszeiten bekannter Standardsubstanzen, kann eine qualitative Aussage (Identität) über die in der Probe enthaltenen Komponenten gemacht werden. Eine quantitative Aussage über eine Komponente ist möglich über die Höhe und die Fläche des entsprechenden Peaks. Als Messwert bei stabilen Isotopen wird das Verhältnis von  $^{13}\text{C}$ -Isotopen zu  $^{12}\text{C}$ -Isotopen in ‰ $\delta^{13}\text{C}$  für jede Probe angegeben.

Die Messwerte der Parameter  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett bzw.  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein werden anschliessend separat statistisch analysiert (Median, Standardabweichung, Varianzanalyse). Zum Schluss wird eine Korrelationsanalyse für  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett sowie  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchfett und im Milchprotein durchgeführt. Dafür können gängige statistische Pakete verwendet werden (Molkentin, 2009; Molkentin & Giesemann, 2010).

In der Praxis können die Probenmesswerte für  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Kuhmilchfett bzw.  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein mit den Grenzwerten verglichen werden, welche für jeden dieser Parameter festgelegt wurden (persönliche Mitteilung J. Molkentin, 26.01.2011).

### **Untersuchte Lebensmittel**

#### Pasteurisierte Kuhvollmilch:

In einer Studie von Molkentin (2009) wurden Kuhmilchproben im zweiwöchigen Rhythmus zwischen November 2005 und Mai 2007 gesammelt. Durch den langen Beprobungszeitraum von 18 Monaten sollten saisonale Schwankungen abgedeckt werden. Bei den Milchproben handelte es sich um abgepackte handelsübliche pasteurisierte Kuhvollmilch, welche vom Einzelhandel bezogen wurde. Dass heißt, die Milchproben bestehen aus einem Gemisch aus Milch von unterschiedlichen Bauernhöfen (Sammelmilch). An jedem Probenahmetag wurden jeweils drei Packungen von konventioneller und ökologisch erzeugter Milch diverser Handelsmarken gekauft. Die Milch dieser Handelsmarken wurde im Süden, Osten und Norden Deutschlands gesammelt. Zusätzlich wurde pasteurisierte Kuhvollmilch von einem biologisch zertifizierten Einzelbetrieb im Norden Deutschlands bezogen. Insgesamt wurde das Milchfett von 286 Milchproben analysiert.

Das Fett der Biomilch hatte stets einen höheren Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure als die konventionellen Milchproben, wenn man Tageswerte verglich. Über das Jahr jedoch überlappten etwas die  $\alpha$ -Linolensäure-Werte von konventioneller und biologischer Milch aufgrund der saisonalen Schwankungen der Futterzusammensetzung und des Weidegangs. Dennoch konnte ein Grenzwert für Biomilch von Minimum 0.50% für  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett festgelegt werden (Molkentin, 2009).

Auch im  $\delta^{13}\text{C}$  vom Milchfett spiegelten sich die saisonalen Schwankungen der Futterzusammensetzung wider. Je mehr Mais im Futter enthalten war, desto höher waren die

$\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Milchfett. So hatten alle Milchmarken niedrigere  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Sommer, wenn weniger Mais verfüttert wurde und die Kühe mehr frisches Grass auf der Weide fraßen. Über's Jahr betrachtet, wiesen - bis auf eine Ausnahme - alle konventionellen Milchfettproben höhere  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte als die biologischen Milchfettproben auf. Darauf basierend wurde ein  $\delta^{13}\text{C}$ -Grenzwert für Biomilchfett von Maximum  $-26.5\text{‰}$  bestimmt. Dieser Grenzwert schließt 99% aller konventionellen Milchfettproben aus (Molkentin, 2009).

Molkentin und Giesemann hatten 2010 die Analysen von 120 der oben genommenen Proben ausgeweitet, indem sie die stabile Isotopenmassenspektrometrie u. a. auf  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein erweiterten. Die saisonalen Schwankungen von  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein sind – wie bei auch bei  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchfett – auf den Maisanteil im Futter der Milchkühe zurückzuführen. Mittels  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein konnte Biomilch von konventioneller Milch signifikant unterschieden werden.  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein und  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchfett korrelieren stark positiv. Es wurde ein  $\delta^{13}\text{C}$ -Grenzwert für Biomilchprotein von Maximum  $-23.5\text{‰}$  bestimmt, der 100% aller konventionellen Milchfettproben ausschloss. Die absolute Differenz  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  zwischen  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein und  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchfett ist relativ konstant sowohl für konventionelle Milch ( $1.1\text{‰}$ ) als auch für Biomilch ( $1.3\text{‰}$ ). Ist  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  höher als erwartet, könnte z. B. konventioneller Milchrahm mit fettarmer Biomilch rekombiniert worden sein.  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  könnte bei rekombinierten Milchprodukten also aufzeigen, wenn konventionelle Milchkomponenten Biomilch beigemischt werden.

### **Bewertung der Anwendbarkeit in der Praxis**

#### Stand der Entwicklung:

Die Isotopenmassenspektroskopie ist eine gut etablierte Methode. Sie wird für die Authentizitätsprüfung (z. B. geographischer Ursprung) von gewissen Lebensmitteln seit einigen Jahren in Praxislaboren eingesetzt. Die Gaschromatographie von Fettsäuren ist ebenfalls gut etabliert in den kommerziellen Laboratorien. Die kombinierte Anwendung beider Analytikmethoden für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln wird erst seit wenigen Jahren praktiziert. Das Spektrum der Lebensmittel, deren Anbausystem (bio/konventionell) mittels Isotopenmassenspektroskopie und Fettsäureanalytik unterschieden werden kann, soll erweitert werden.

#### Stärken:

- Mit der Methode kann biologisch und konventionell erzeugte Kuhmilch unabhängig von den saisonalen Schwankungen, dem Produktionsdatum, der Milchkuhrasse und des geographischen Ursprungs unterschieden werden (die Untersuchungen wurden mit Sammelmilch aus unterschiedlichen deutschen Bundesländern durchgeführt und erstreckten sich über 18 Monate).
- Die Fettsäureanalytik von Milchfett ist validiert (z.B. IDF 184:202). Die Analytik von stabilen Isotopen ist in den Laboren etabliert und zeigt bei verschiedenen Lebensmitteln keine wesentlichen Matrixeffekte<sup>24</sup>. Eine Validierung speziell für Milch ist also nicht erforderlich
- Für die Durchführung der Kombination von Stabilisotopen- und Fettsäureanalytik muss das Laborpersonal nur in die Gerätebedienung eingewiesen werden.
- Biomilch konnte mit einer Wahrscheinlichkeit von 99% bei den untersuchten Proben von konventioneller Milch unterschieden werden.

---

<sup>24</sup> Matrixeffekte sind auf die unterschiedliche Art, Zusammensetzung und Beschaffenheit der Proben zurückzuführen und beeinflussen die Analytik.

- › Die betrachtete Methode (Stabilisotopen- und Fettsäureanalytik für die Messung von  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett) allein genügt, um eine zuverlässige Aussage zu machen, ob eine Milchprobe Bio oder konventionell ist; sie muss nicht mit Messdaten weiterer Methoden kombiniert werden, um diese Aussage machen zu können.
- › Die statistische Auswertung der Messdaten mittels Korrelation wird im Forschungs- und Entwicklungsstadium der Methode durchgeführt. Sie kann mit gängiger Statistik-Software bewerkstelligt werden. Allerdings braucht es in der Praxis keine Statistik, da die Messwerte mit einfachen Grenzwerten verglichen würden.
- › Die voraussichtlichen Kosten für die Analyse einer Milchprobe (von der Anlieferung der Probe bis zu den Endergebnissen) mit der Stabilisotopen- und Fettsäureanalytik liegen lediglich zwischen 100 und 500 Euro.
- › Der Zeitaufwand für die Analyse einer Probe (von der Anlieferung der Probe bis zu den Endergebnissen) mit der Stabilisotopen- und Fettsäureanalytik liegt zwischen 16 und 24 Stunden.
- › Die hier betrachtete Methode ist eine Forschungsmethode, die sich bereits für die Kontrollpraxis eignet. Es ist aber eventuell machbar, auf der Grundlage positiver Forschungsergebnisse eine vereinfachte Methode für die Praxislaboratorien zu entwickeln. Die Analytik der stabilen Isotope lässt sich mit geringerem apparativen Aufwand und zu möglicherweise niedrigeren Kosten durch den Einsatz von CRDS (Cavity Ring-Down Spectroscopy) durchführen.
- › Die Kombination der Stabilisotopen- und Fettsäureanalytik ist dafür geeignet, die Diskriminierung bio-konventionell auf andere Tierprodukte zu erweitern (z. B. Lachs). Die Parameter für Milch ( $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure) lassen sich allerdings nicht auf andere Produkte übertragen. Geeignete Parameter müssen für jede Matrix neu bestimmt werden (z. B. Lachs:  $\delta^{15}\text{N}$  und Linolsäure).
- › Die Kombination der Analyse von  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure bei Milchfett eignet sich - mit Einschränkungen - für die Diskriminierung bio-konventionell von verarbeiteten Milchprodukten z. B. Naturjogurt, Butter, Rahm). Die Zusammensetzung des Milchfetts darf sich allerdings bei der Verarbeitung nicht verändern. Das bedeutet, dass die Methode sich nicht für die Unterscheidung bio-konventionell bei Magermilch, Buttermilch oder Produkte mit fraktioniertem Milchfett eignet.
- › Die Kombination der Analyse von  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett könnte mit zusätzlichen Analysen von  $\delta^{13}\text{C}$  im Milchprotein dazu geeignet sein, in rekombinierten Biomilchprodukten die unzulässige Verwendung von konventionellen Milchkomponenten zu detektieren.

Schwächen:

- › Mit der Kombination  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett wurde nur deutsche Milch aus verschiedenen Bundesländern untersucht. Es ist nicht bekannt, ob die ermittelten Grenzwerte für Biomilch auch für Kuhmilch aus anderen Ländern gelten.
- › Die Methode  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett weist für Kuhmilch einzelner Herden bzw. Milchviehbetriebe eine geringere Trennschärfe auf.
- › Die Methode  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett wurde noch nicht anhand von Blindproben verifiziert. Eine formelle Studie zur Verifizierung steht noch aus.

- › Die Anschaffungskosten für die erforderlichen Geräte werden getrennt betrachtet: Die Kosten eines Gaschromatographen bewegen sich zwischen 20'000 bis 50'000 Euro; die für einen Isotopenverhältnismassenspektrometer inklusive Elementaranalysator liegen bei 100'000 bis 250'000 Euro. Es sind keine Zusätze notwendig.
- › Während Gaschromatographen in den meisten kommerziellen Laboratorien vorhanden sind, besitzen nur wenige Praxislaboratorien einen Isotopenverhältnismassenspektrometer.
- › Zwar bestehen keine Gesundheitsrisiken für das Laborpersonal bei der Durchführung der Isotopenmassenspektrometrie. Jedoch gibt es Gesundheitsrisiken bei der Gaschromatographie durch das Arbeiten mit organischen Lösungsmitteln. Diese können minimiert werden durch übliche Schutzkleidung und dem Arbeiten unter einem Abzug.
- › Die Kombination der Analyse von  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett braucht Datenbanken für die statistische Auswertung der Proben-Messdaten. Jedes Labor sollte seine eigene Datenbank für beide Parameter anlegen. Insbesondere bei Fettsäuren ist die Übertragbarkeit der Analyseergebnisse und somit der Grenzwerte von einem Labor ins andere nicht immer gegeben. Grenzwerte können auf diese Weise schärfer gezogen werden.
- › Die Gerichtsbarkeit ist für die betrachtete Methode nicht gegeben, da Ausnahmen möglich sind. Deshalb sind die Ergebnisse der stabilen Isotope in Kombination mit der Fettsäureanalytik als ergänzendes Indiz zu betrachten.
- › Die Kombination der Analyse von  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\alpha$ -Linolensäure im Milchfett eignet sich nur mit großen Einschränkungen, um Vermischungen bio-konventionell in Kuhmilch zu detektieren. Die Nachweisgrenze von Vermischungen bio-konventionell hängt von der Zusammensetzung der einzelnen Ausgangsprodukte ab. Ausgehend von einer durchschnittlichen Zusammensetzung von Bio-Milch bzw. konventioneller Milch kann eine Vermischung detektiert werden:
  - 1) mit  $\delta^{13}\text{C}$  ab 50% Anteil konventioneller Milch in Bio-Milch;
  - 2) mit  $\alpha$ -Linolensäure ab 63% Anteil konventioneller Milch in Bio-Milch.
- › In jedem anwendenden Labor muss eine Datenbank etabliert werden mit Messdaten von authentischen Bio- und konventionellen Milchfettproben unterschiedlichen geografischen Ursprungs, unterschiedlichen Produktionsdatum und aus Milch von unterschiedlichen Milchkuhrassen. Anstelle des Abgleichs mit einer Datenbank kann im Einzelfall auch der Vergleich mit authentischen Vergleichsproben (möglichst zeitnahes Produktionsdatum, gleiche Region bzw. Erzeuger) erfolgen. Im Verdachtsfall sind darüber hinaus, Betriebskontrollen eine sinnvolle Ergänzung.



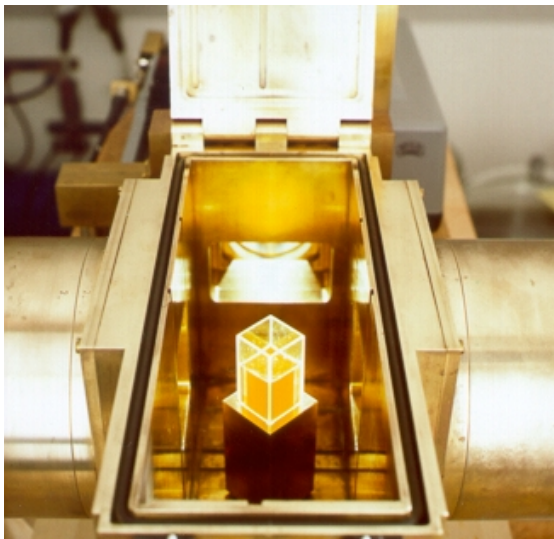
## 4 Beschreibung und Bewertung der untersuchten ganzheitlichen Methoden

Die Qualität ökologischer Produkte wird über den Prozess und nicht am Produkt selbst bestimmt. Die zunehmende Nachfrage nach ökologischen Produkten fordert Methoden, die den Prozess am Produkt zeigen (Authentizitätsprüfung). Ganzheitliche Verfahren eignen sich dazu besonders. Sie bilden das Produkt entweder unzerstört ab (wie die Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie), bestimmen konsumentenrelevante Produkaspekte mit den menschlichen Sinnen (Sensorik) oder liefern ein Bild, das den Prozess am Produkt direkt zeigen soll. Dabei werden Organisations- und Ordnungsphänomene für die Charakterisierung von Produkten eingesetzt, statt etwa die Gehalte an analytischen Einzelstoffen (Mineralien, sekundäre Pflanzenstoffe etc.) oder die Abwesenheit bzw. Verminderung von Schadstoffen (z. B. Pestizide, Nitrat) (Kahl, 2006).

### 4.1 Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (FAS)

Bereits Popp (1984) und Ruth & Popp (1976) stellten fest, dass pflanzliche Proben nach undefinierter Anregung durch Licht und anschließender Dunkeladaptation dauerhaft fluoreszieren. Popp nannte dieses schwache, mit bloßem Auge nicht sichtbare Licht, welches nur in Form einzelner Photonen gemessen werden kann, Biophotonen.

Die ursprünglichen Biophotonen-Untersuchungen von Ruth & Popp (1976) unterscheiden sich von der induzierten Emission nach definierter Beleuchtung der Probe. Die Lichtemissionen von Ganzproben nach definierter Beleuchtung wurden bereits zur Lebensmitteluntersuchung angewendet (Popp, 1988; Köhler et al., 1991).



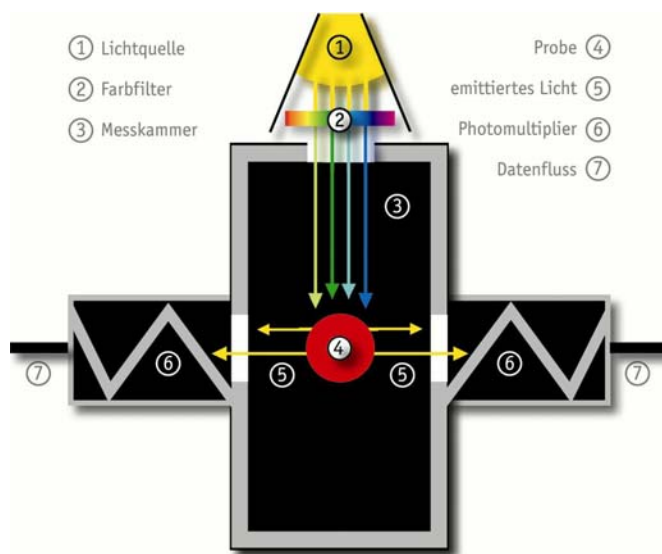
**Abbildung 6: Eidotter im Messgerät für Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (Quelle: J. Strube und G. Mende, KWALIS)**

Bei der Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (FAS) werden ebenfalls nicht zerstörte Ganzproben mit Licht verschiedener Wellenlängen angeregt und die anschließenden Lichtemissionen ausgewertet. Für jedes Lebensmittel misst die Methode eine typische spektrale

Verteilung. Diese typischen spektralen Verteilungen eignen sich als Beurteilungsgrundlage bei der Lebensmitteluntersuchung, insbesondere aus Anbauversuchen mit unterschiedlichen Kulturverfahren (Strube & Stolz, 1999; Strube & Stolz, 2001).

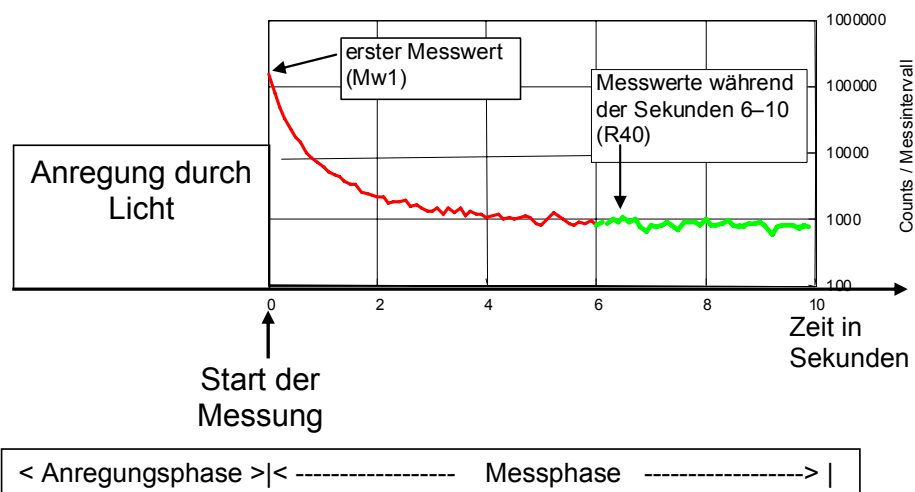
### Das Prinzip

Die zu prüfende Probe wird durch definierte Beleuchtung optisch angeregt. Das nach Ende der Anregung von der Probe emittierte Licht (induzierte verzögerte Fluoreszenz) wird gemessen. Zur Messung befindet sich die Probe in einer lichtdichten Messkammer. Das Licht einer externen Quelle gelangt durch einen Verschluss zur Probe. Mittels Photovervielfacher wird die verzögerte Lumineszenz der Probe gemessen (Strube & Stolz, 2007). Die schematische Darstellung der Messanlage ist in Abbildung 7 ersichtlich. Das Messgerät ist in Abbildung 6 abgebildet.



**Abbildung 7: Schematische Darstellung der Messanlage für Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (Quelle: J. Strube und G. Mende, KWALIS)**

Die optische Anregung erfolgt mit konstanter Helligkeit für eine definierte Zeit (Anregungsphase). Eine Messphase umfasst 100 einzelne Messwerte. Bei 10 Sekunden Messdauer wird ein Messwert je 0,1 Sekunde erfasst. Die Emission der Probe ist nach der Anregung am höchsten und klingt allmählich ab (Strube & Stolz, 2007). Das Zeitschema des Messablaufs ist in Abbildung 8 dargestellt.



**Abbildung 8: Zeitschema des Messablaufs der Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie (Quelle: J. Strube und G. Mende, KWALIS)**

Die optische Anregung erfolgt sequentiell in acht verschiedenen spektralen Abschnitten des sichtbaren Bereichs (farbiges Licht) und im nahen UV (insgesamt zwischen 780 bis 360 Nanometer Wellenlänge): Dunkelrot, Rot, Hellrot, Gelb, Grün, Blau, UV sowie weißes Licht (ohne Filter). Nach jeder einzelnen Anregung erfolgt eine Messung der verzögerten Fluoreszenz der Probe. Die Messung der verzögerten Emission erfolgt zwischen 260 und 850 Nanometer Wellenlänge. Ein Messzyklus besteht aus acht aufeinander folgenden Messphasen nach definierter probenabhängiger Anregung. Nach jeder Anregungs-Farbart ergibt sich eine Abklingkurve (Abbildung 8). Die Folge der Anregungsfarben ist festgelegt (Strube & Stolz, 2007).

Die direkt gemessenen Werte jeder einzelnen Messung werden aufbereitet und fließen als Messdaten erster Ordnung in einen numerischen Datenvektor ein. Zusätzlich werden aus den direkt gemessenen Werten weitere Daten berechnet, die Eigenschaften der Abklingkurve und Verhältnisse der Kurven zueinander beschreiben (Messdaten zweiter Ordnung) und ebenfalls in den numerischen Datenvektor aufgenommen werden. Insgesamt wird so ein Datenvektor mit 120 Messgrößen für jede einzelne Messung generiert. Dieser numerische Datenvektor ist die Grundlage der Probenbewertung und bildet den „Fingerabdruck“ der Probe. Die Emission wird also durch Messgrößen erfasst, sodass sich die Emissionsprofile jeder Probenart quantitativ unterscheiden lassen (Strube & Stolz, 2007).

Anders als bei den meisten analytischen Verfahren werden bei der FAS die Proben weitestgehend nicht zerkleinert, da pflanzliche Proben in zerkleinerter, homogener Form die Lichtemission verändern. Entsprechend sind Gesamtgröße, Oberflächenbeschaffenheit und eventuell farbliche Unterschiede von Bedeutung. So werden bei einer Probe von Äpfeln mindestens 20 Stück einzeln nacheinander gemessen. Für jede Messgröße wird dann aus den 20 Einzelmesswerten jeder Probe der Mittelwert berechnet. Die zahlreichen Probenwiederholungen erlauben eine zuverlässige statistische Auswertung (Strube & Stolz, 2007).

Ursprünglich wurde die Klassifikation der Proben zu einem Anbauverfahren mit einer heuristischen Methode durchgeführt, die auf Erfahrungen und Ergebnissen vorangegangener Untersuchungen beruhte. Dabei wurden wenige ausgewählte Messgrößen als Entscheidungskriterien verwendet. Diese bereits treffsichere Methode wurde in ein statistisches

Verfahren überführt, welches weitere Messgrößen einbezieht. Die Messdaten der numerischen Datenvektoren von konventionellen und ökologisch erzeugten Proben (einer Probenart) werden einer linearen Diskriminanz-Analyse unterzogen. Damit werden die relevanten Messgrößen für die Differenzierung unterschiedlicher Anbaumethoden identifiziert und eine empirische Diskriminanzfunktion für eine Probenart generiert. Anhand dieser Diskriminanzfunktion können die numerischen Datenvektoren von Blindproben dieser Probenart einer Anbaumethode zugeordnet werden (Strube & Stolz, 2009).

Seit 2007 ist die FAS-Methode validiert (Strube & Stolz, 2007).

### **Ursachen der Lumineszenz**

Die Einstrahlung von Energie in Form von Licht bringt Moleküle mit passendem Energieniveau in einen angeregten Zustand. Nach kurzer Zeit wird die Energie wieder abgegeben. Durch den Übergang aus dem angeregten Zustand in Zwischenniveaus ist bei der Emission eine andere Energieverteilung als bei der Anregung möglich. Bei der Emission wird Licht mit niedrigerer Energie und größerer Wellenlänge abgegeben. Während ein angeregtes Energieniveau seine Energie relativ rasch abgibt (ca.  $10^{-9}$  Sekunden), ist die Energieverteilung auf Zwischenniveaus von Verzögerungen begleitet. Stehen für die Energie der Zwischenniveaus wiederum Moleküle zur Absorption zur Verfügung, so kann ein interner Austausch auftreten, ohne dass nach außen hin ein Photon austritt. Pflanzliche Moleküle sind oft Makromoleküle mit einer Vielzahl von Zwischenniveaus, so dass neben kurzfristigen viele mittel- und langfristige interne Energieaustauschprozesse denkbar sind, welche die verzögerte Lumineszenz in einem Zeitbereich von Sekunden und Minuten plausibel erscheinen lassen. Unterschiede im Spektrum können als Verschiedenheit im inneren Gefüge und der Stoffkomplexe der Probe gedeutet werden (Strube & Stolz, 2007).

### **Untersuchte Lebensmittel**

#### Äpfel:

Äpfel werden meistens sortenrein vermarktet. Strube & Stolz (2007) konnten kodierte Apfelproben einer definierten Sorte zuverlässig nach Anbaumethode (Bio/konventionell) klassifizieren.

Anhand der Messergebnisse der Erntejahre 2004 und 2005 wurden für die Sorte Elstar und vier Standorte (d. h. vier Erzeugerpaare konventionell und Bio) relevante Messgrößen für die Unterscheidung von biologisch erzeugten und konventionellen Äpfeln selektiert. Die Selektion erfolgte mittels linearer Diskriminanzanalyse, welche eine geeignete Diskriminanzfunktion erzeugte. Mit dieser Diskriminanzfunktion konnten sechs von acht kodierten Apfelproben der Sorte Elstar aus der Ernte 2005 unabhängig vom Standort korrekt als Bio oder konventionell klassifiziert werden. Die Blindproben kamen von den vier Betriebspaaren.

Das gleiche Verfahren wurde für die Apfelsorte Golden Delicious der Erntejahre 2004 und 2005 durchgeführt. In diesem Fall kamen die Äpfel von fünf Betriebspaaren Bio/konventionell. Auch hier wurde eine Diskriminanzfunktion entwickelt, welche die Unterscheidung zwischen biologisch und konventionell ermöglicht. Für vier von den bekannten fünf Standorten konnten die Apfelproben der Sorte Golden Delicious aus der Ernte 2005 dem Anbauverfahren korrekt zugeordnet werden.

#### Mais:

Es wurden Maisproben aus definiertem Anbau (konventionell und Bio; Probenmaterial aus dem Langzeit-DOK-Versuch in der Schweiz, Mäder et al., 2002) untersucht. Anhand der Messergebnisse des Erntejahrs 2004 wurden relevante Messgrößen für die Unterscheidung

von biologisch erzeugtem und konventionellem Mais selektiert. Die Selektion erfolgte mittels linearer Diskriminanzanalyse. Die Unterscheidung der Anbauweisen und die Zuordnung der kodierten Maisproben aus dem Erntejahr 2005 waren signifikant (Strube & Stolz, 2007).

#### Möhren:

Es wurden Erzeugerproben aus den Erntejahren 2004 und 2005 analysiert. Dabei handelt es sich um zehn Möhrenproben von fünf Betriebspaaren. Die Betriebe eines Betriebspaars liegen an vergleichbaren Standorten. Jedes Betriebspaar besteht aus einem ökologisch wirtschaftenden und einem konventionellem Betrieb. Vier Betriebspaare lieferten Möhren der Sorte Nerac, während ein Betriebspaar Möhren der Sorte Narbonne anbaute. Nach Durchführung der Diskriminanzanalyse ergab die kanonische Variable für drei von fünf Probenpaaren des Jahres 2005 eine signifikante Trennung nach Anbauverfahren (Bio/konventionell). Jedoch kommt die Möhrensorte in einigen Messgrößen besonders stark zum Ausdruck (Strube & Stolz, 2007).

#### Weizen:

Für die Untersuchungen standen 16 Einzelproben Weizen pro Jahr aus definiertem Anbau (konventionell und Bio; Probenmaterial aus dem Langzeit-DOK-Versuch in der Schweiz, Mäder et al., 2002) für die Erntejahre 2004, 2005 und 2006 zur Verfügung. Die angebauten Sorten sind nicht bekannt, aber alle Varianten eines Jahres wurden stets mit derselben Sorte angebaut. Für jede der vier berücksichtigten Anbauvarianten (zwei ökologische und zwei konventionelle Varianten) gab es vier Feldwiederholungen. Es wurde eine Diskriminanzanalyse für die Messwerte des Jahres 2004 durchgeführt und auf die Daten von 2005 angewendet. Für 15 von 16 Proben des Jahres 2005 konnte das Anbausystem korrekt identifiziert werden. Für das Anbaujahr 2006 wurde eine neue Diskriminanzfunktion berechnet und anhand von Messdaten von 1999 bis 2004 trainiert. Anhand der neuen Diskriminanzfunktion konnten 14 von 16 Proben des Jahres 2006 dem jeweiligen Anbausystem biologisch oder konventionell korrekt zugeordnet werden. Die Ergebnisse zeigen, dass sich kodierte Weizenproben aus dem DOK-Versuch relativ sicher der Anbauweise zuordnen lassen (Strube & Stolz, 2007).

Bei den Erzeugerproben wurden sechs Betriebspaare gebildet mit jeweils einem Biobetrieb und einem konventionellen Betrieb. Die Sorten waren je Probenpaar gleich (Weizensorten Capo, Bussard, Askelis und Ludwig), konnten jedoch zwischen den Anbaujahren wechseln. Auch der Standort des Anbaus wechselte teilweise zwischen den Anbaujahren. Es wurde eine lineare Diskriminanzanalyse mit den Messdaten der Jahre 2004 und 2005 durchgeführt. Die berechnete Diskriminanzfunktion wurde mit dem Datensatz 2004 trainiert und auf die Daten des Jahres 2005 angewendet. Dabei ergab sich eine signifikante Trennung aller sechs Probenpaare 2005 und deren korrekte Zuordnung zum Anbauverfahren (Strube & Stolz, 2007).

### **Bewertung der Anwendbarkeit in der Praxis**

#### Stand der Entwicklung

#### Stand der Entwicklung

Die Fluoreszenz-Anregungs-Spektroskopie (FAS) befindet sich noch in der Entwicklung. So gibt es z. B. noch wenige Geräte für die Messung der FAS weltweit. Die FAS ist noch eine Forschungsmethode, die nach einer Vereinfachung in Praxislaboratorien angewendet werden könnte.

## Weizen und Hühnereier

### Stärken:

- › Es können Weizen- und Eierproben von biologischen und konventionellen Betriebspaare korrekt unterschieden und dem Anbausystem zugeordnet werden. Die Untersuchungen über den Einfluss der Sorte auf die Differenzierung von biologisch erzeugtem und konventionellem Weizen stehen noch aus. Bei Hühnereiern wurde bereits eine größere Anzahl an Eiern von Legehennen unterschiedlicher Rassen korrekt dem Anbausystem zugeordnet.
- › Die Methode ist verifiziert: Die Klassifizierung von Weizen- und Eier-Blindproben als Bio oder konventionell kann zu einem gewissen statistischen Anteil gemacht werden.
- › Die Methode ist validiert. Dies erhöht die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erheblich.
- › Die Methode ist einfach in der Durchführung.
- › Es bestehen keine Gesundheitsrisiken für das Laborpersonal bei der Messung der Proben mit FAS.
- › Bio kann von konventionell mit einer Wahrscheinlichkeit von über 80 % unterschieden werden.
- › Die Methode allein genügt, um im Rahmen der oben angegebenen Grenzen zuverlässige Aussagen zu machen, ob eine Weizen- oder Eierprobe Bio oder konventionell ist. Die Kombination mit anderen Analytikmethoden (z. B. Pestizidrückstandsanalytik, Aminosäureanalytik) könnte die Zuverlässigkeit der Aussagen weiter erhöhen.
- › Die Messungen und die Weiterverarbeitung der gemessenen Rohdaten sind standardisiert und automatisiert: Die Emissionsprofile jeder Probenart lassen sich quantitativ anhand von Messwerten unterscheiden, welche von einem Computerprogramm erfasst werden. Die Bearbeitung der gemessenen Rohdaten bis zur Erstellung des numerischen Datenvektors ist standardisiert.
- › Die statistische Auswertung der Messdaten (Diskriminanzanalyse) kann mit gängiger Statistik-Software durchgeführt werden.
- › Der Kostenaufwand für die Analyse je Probe (von der Anlieferung bis zu den Endergebnissen) ist mittelgroß (100 bis 500 Euro). Eventuell könnte die Methode für einen gewissen Lebensmitteltyp vereinfacht und dadurch eine Kostensenkung erreicht werden.
- › Bei Eiern beträgt der Zeitaufwand (von der Anlieferung der Probe bis zu den Endergebnissen) weniger als 4 Stunden.
- › Vermischungen von biologisch erzeugten und konventionellen Eiern könnten mittels FAS detektiert werden, da einzelne Eier untersucht werden. Allerdings müsste eine ausreichend große Anzahl an Einzelproben genommen werden, damit die Aussage über eine eventuelle Vermischung statistisch abgesichert ist. Dies würde die Analysekosten erhöhen.
- › Die FAS-Methode für die Diskriminierung zwischen biologisch und konventionell könnte auf weitere Kulturen und Produkttypen erweitert werden. Jedoch muss jedes Produkt im Einzelnen untersucht werden. Die Emissionsspektren können nicht von einem Produkttyp auf einen anderen ohne Weiteres übertragen werden.

### Schwächen:

- › Das Messgerät für die Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie gibt es noch nicht serienmäßig auf dem Markt. Jedes Gerät müsste einzeln bezogen werden. Die Investitionen für das Messgerät und für die Installation bis zur Versuchsbereitschaft sind dementsprechend hoch (250'000 bis 500'000 Euro).

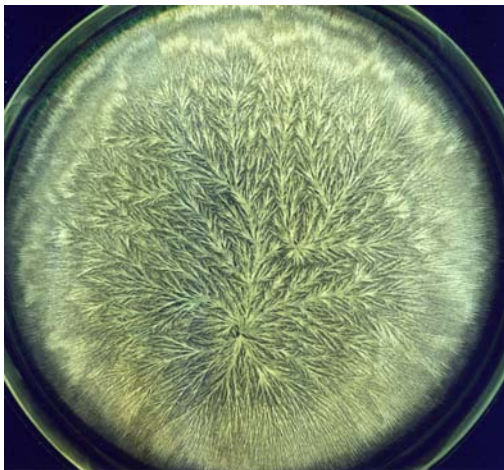
- › Entsprechend sind die Messgeräte für die Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie noch nicht verbreitet in kommerziellen Laboratorien.
- › Das Laborpersonal braucht eine zusätzliche Ausbildung für die Gerätebedienung und die Probenbehandlung.
- › Bei Weizen beträgt der Zeitaufwand für die Analyse einer Probe (von der Anlieferung bis zu den Endergebnissen) noch ca. 21,5 Tage (21 Tage für die schonende Trocknung des Getreides; 4 Stunden für die Messungen und die Auswertung der Messdaten). Es ist jedoch denkbar, dass mit einer vereinfachten Methode der Zeitaufwand verkürzt werden kann.
- › Bei allen untersuchten Lebensmitteln sollte die Referenzdatenbank noch erweitert werden mit Messdaten (Emissionsspektren) von weiteren Erntejahren, Sorten und Standorten. Mit größeren Datenmengen für eine Probenart lassen sich mittels linearer Diskriminanzanalyse zuverlässigere Diskriminanzfunktionen für die Unterscheidung von biologisch erzeugten und konventionellen Proben eines Lebensmitteltyps berechnen.
- › Bei Weizen fehlt die Verifizierung der berechneten Diskriminanzfunktion für die Unterscheidung der Anbauweisen bei einem Lebensmitteltyp anhand von Blindproben unbekanntem Ursprungs (d. h. Anbaustandort). Dies ist eine wichtige Voraussetzung für die Anwendung in der Praxis.
- › Die Auswertung der Messgrößen ist kompliziert und erfordert die Anwendung von komplexen statistischen Verfahren wie der Diskriminanzanalyse, um eine signifikante Unterscheidung zwischen biologischen und konventionellen Proben zu gewährleisten.
- › FAS könnte nur mit Einschränkungen Vermischungen zwischen Bio und konventionell in Weizen detektieren. Ohne das Verhältnis in der Mischung Bio zu konventionell zu kennen, lassen sich die Messwerte vermutlich nicht von denen zweifelhafter Proben (unklar ob Bio oder konventionell) unterscheiden. Die Untersuchungen mit definierten Mischungen von konventionellen und biologisch hergestellten Weizenschargen sind noch nicht durchgeführt worden.

## 4.2 Biokristallisation

### Das Prinzip

Zu den ganzheitlichen bildgebenden Verfahren gehört die Biokristallisation, auch bekannt als Kupferchlorid-Kristallisation (Balzer-Graf, 2001). Der Begriff „Biokristallisation“ wurde von Andersen (2001) eingeführt.

Das Verfahren arbeitet mit wässrigen Extrakten vermahlener Proben oder mit verdünnten Säften. Diese werden zusätzlich gefiltert oder gesiebt. Anschliessend wird das Probenmaterial mit dem anorganischen Salz Kupferchlorid auf einer Glasplatte zusammengebracht. Die Mischung aus Probe und Kupferchlorid kristallisiert in einer Klimakammer unter kontrollierten Bedingungen zu einem Bild (siehe Abbildung 9). Dieses Bild besteht aus einem mehr oder weniger geordneten und produkttypischen Kristallmuster, welches einen direkten „Abdruck“ des Produktes darstellt. Die Textur und Struktureigenschaften des so entstandenen Nadelgefüges können sowohl visuell als auch computergestützt nach vorgegebenen Kriterien bzw. Merkmalen ausgewertet und interpretiert werden (Balzer-Graf & Balzer, 1988; Balzer-Graf, 2001; Kahl, 2006). Die Bildmerkmale lassen sich spezifisch für das jeweils zu untersuchende Probenmaterial definieren (Andersen et al. 2003).



**Abbildung 9: Kristallbild Karotten aus biologischem Anbau (Quelle: Uwe Geier, Forschungsinstitut am Goetheanum, Dornach)**

Der Prozess der Bildentstehung ist ein komplexer Vorgang, der u. a. durch die Oberflächenspannung und das Strömungsverhalten bestimmt wird und als ein Selbstorganisationsprozess beschrieben werden kann. Die Ergebnisse können nicht durch die Eigenschaften der Teile allein erklärt werden, sondern zeigen neue, von den Einzelteilen unabhängige Merkmale (Busscher et al., 2006; Kahl, 2006).

Gemäss Experten soll aufgrund der Strukturen die „Lebenstätigkeit“ bzw. „Vitalaktivität“ beurteilt werden können (Balzer-Graf, 2001). Durch eine Art Abbild soll die innere Qualität der Lebensmittel bildhaft sichtbar gemacht werden (Beck, 2000).

Die Auswertung einer Probe ist nicht mit einem einzelnen Bild möglich, sondern vielmehr braucht es dazu Bilderfolgen (Balzer-Graf & Balzer, 1988). Oft berichten Autoren, dass sie mit einer oder mehreren Bildwiederholungen gearbeitet haben, da das Verfahren eine gewisse Streuung oder Variation der Bilder aufweist (Kahl, 2006).



Für die visuelle Auswertung braucht es langjährig exakt geschulte Personen. Die Interpretation ist äußerst schwierig und stark personenabhängig. Daher wurden z. T. Panels mit geschultem Personal eingesetzt (Schudel et al., 1980). Diese Schwierigkeit konnte mit Anwendung der computergestützten Bildauswertung umgangen werden. Bei der computergestützten Bildauswertung werden die Bilder gescannt und die Variablen der Textur über Transformation der Graustufenverteilung statistisch analysiert (lineare Diskriminanzanalyse) (Andersen, 2001; Kahl et al., 2005; Kahl, 2006).

In einer Reihe von Vergleichsstudien konnten verschlüsselte Proben aus biologischem und konventionellem Anbau differenziert werden. Wie die Unterschiede zu werten sind, bleibt noch unklar (Heaton, 2001).

## **Untersuchte Lebensmittel**

### Weizen:

Für zwei Weizensorten konnten kodierte konventionelle Weizenproben signifikant von ökologischen Weizenproben aus definiertem Anbau (Probenmaterial aus dem Langzeit-DOK-Versuch in der Schweiz, Mäder et al., 2002) unterschieden werden. Dies gelang für drei Erntejahren (1999, 2002, 2003). Die untersuchten Weizensorten waren Tamaro (Ernte 1999 und 2002) und Titlis (Ernte 2003). Der Unterschied zwischen den Anbauvarianten war im Vergleich zur Streuung gering. Ökologische Proben konnten von konventionellen Proben nur mit einer mehrfachen Wiederholung von Probenaufbereitungen und Kristallisation statistisch signifikant unterschieden werden (Missklassifikation von 20 bis 23 %) (Kahl, 2006). Für die Erntejahre 2005 und 2006 lag die Trefferquote der richtig eingeordneten Proben (Bio/konventionell) mit visueller Auswertung bei 100 % (Kahl et al., 2009).

Weizenproben vom Erzeuger konnten im Paarvergleich (ökologisch, konventionell) teilweise signifikant getrennt werden (Kahl, 2006).

## **Bewertung der Anwendbarkeit in der Praxis**

### Stärken:

- › Die Methode ist einfach in der Durchführung.
- › Durch die computergestützte Bildauswertung konnten Auswertungsschwierigkeiten überwunden werden.
- › Die Bildauswertung per Computer und deren statistische Auswertung sind maßgeblich für die Standardisierung der Methode. Die computergestützte Auswertung ist Voraussetzung für die Anwendung in Praxislaboratorien.
- › Grundlegend für die wissenschaftliche Anerkennung dieser Methode ist, dass sie gemäss ISO 17025 unter anderem hinsichtlich Vergleichbarkeit und Präzision validiert ist (Busscher et al., 2003; Busscher & Kahl, 2003). Dies erhöht die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erheblich.
- › Der Kostenaufwand für die Einrichtungen (Klimakammern, Digitalkamera, Computerprogramm) ist mittelgross.

### Schwächen:

- › Die Interpretation des Bildmaterials (Ergebnisse) ist nicht trivial. Wird die Auswertung der Bilder visuell gemacht, ist sie stark personenabhängig, zeitintensiv und schwierig.
- › Trotz computergestützter Bildauswertung ist die Methode relativ zeitintensiv, da es zeitaufwendiger Vorbereitungsarbeiten und Wiederholungen bedarf.

- › Es sind Bilderreihen einzelner Lebensmittel als Referenzwerte und zum Vergleich erforderlich, um eine statistisch signifikante Unterscheidung zwischen ökologischen und konventionellen Proben erzielen zu können. Es gibt erst wenige Bilderreihen.
- › Für jede Lebensmittelgruppe müssen eigene Qualitätskriterien festgelegt werden. Noch viel grundlegende Forschungsarbeit ist diesbezüglich notwendig.

## 5 Übersicht der differenzierenden Methoden

In den letzten 20 Jahren hat eine rasante Entwicklung von Methoden für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln stattgefunden. Neben den klassischen analytischen Methoden, wie z. B. der Analyse der Pflanzenschutzmittelrückstände, der Stabilisotopenanalytik, dem Metaboliten-Profilung, dem Protein-Profilung, der Fettsäureanalytik und Kombinationen dieser Methoden, haben auch ganzheitliche Methoden eine Weiterentwicklung erlebt. Diese befähigt sie, ökologische von konventionell produzierten Produkten zu differenzieren. Zu den ganzheitlichen Methoden zählen unter anderem die Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie und die Biokristallisation.

In den Tabelle 1 und 2 werden die Methoden dargestellt, welche in der Literatur gefunden wurden. Die Tabellen sind eine Momentaufnahme aus heutiger Sicht und haben keinen Anspruch auf Vollständigkeit, da ständig neue Methoden veröffentlicht werden.

Viele der Methoden, welche in den Tabellen aufgeführt sind, sind vielversprechend für die Differenzierung von ökologischen und konventionellen Produkten. Es würde sich lohnen sie genauer zu betrachten und anhand von Expertengesprächen ihre Praxistauglichkeit zu bewerten. Jedoch konnte eine genauere Beschreibung und Bewertung aufgrund der begrenzten Ressourcen nur für ausgewählte Methoden durchgeführt werden. Für die übrigen Methoden wurde eine grobe Bewertung ihres Entwicklungsstadiums in der Tabelle gemacht.

Der Biolandbau ist ein definiertes Anbausystem, während die konventionelle Landwirtschaft es nicht ist. So können Praktiken, die im Biolandbau obligatorisch sind und ihn auszeichnen, auch im konventionellen Anbau angewendet werden. Dazu gehören z. B. die Anwendung von tierischen Düngemitteln, Fruchtfolgen mit Leguminosen, der Weidegang von Rindern und Milchkühen, die Freilandhaltung von Geflügel sowie die eingeschränkte Fütterung von Rindern und Milchkühen mit Kraftfutter. Selbst bei Rückständen von chemisch-synthetischen Pflanzenschutzmitteln in Bioprodukten ist die Interpretierung der gemessenen Werte nicht eindeutig, da z. B. Abdrift und Verschleppung die Ursache der Rückstände sein könnten. Das erschwert die analytische Trennung von ökologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln erheblich.

Somit sind bei allen Methoden Ausnahmen möglich, da Proben konventionellen Ursprungs ähnliche Messwerte aufweisen können wie die Proben von Bioprodukten. Dadurch ist die Gerichtsbarkeit der differenzierenden Methoden nicht gegeben. Im Allgemeinen kann gesagt werden, dass die Methoden zur Unterscheidung von biologischen und konventionellen Lebensmitteln wertvolle Hinweise auf die Anbaumethode liefern, welche die Biokontrollen ergänzen. Sie ersetzen aber nicht die Biokontrollen.

Es gibt keine Universalanalytik oder –methode mit der alle Biolebensmittel von konventionellen Produkten differenziert werden können. Für jede Lebensmittelgruppe braucht es eigene Analytikstrategien, da jedes Lebensmittel seine eigenen Biomarker, seine eigene Signatur für die Unterscheidung zwischen Bio und konventionell hat.

### Lebensmittel tierischen Ursprungs

Bei der Unterscheidung zwischen biologischen und konventionellen Lebensmitteln tierischen Ursprungs (siehe Tabelle 1) stehen die Unterschiede in der Fütterung (weniger Mais, mehr Gras/Grassilage) sowie der verstärkte Einsatz von tierischem Dünger bei der Produktion des Futters im Vordergrund. Diese Unterschiede spiegeln sich in der Zusammensetzung der Fettsäuren und dem Verhältnis zwischen schweren und leichten Kohlenstoff- und Stickstoffisotopen wieder ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ). So können biologische und konventionelle Kuhmilch und deren Produkte gut mittels Fettsäureanalytik mit/oder Kohlenstoff-Stabilisotopenanalytik unterschieden werden. Dank der Kohlenstoff-Stabilisotopenanalytik kann der Anteil von C4-Pflanzen<sup>25</sup> im Futter geschätzt und somit Hinweise auf eine Intensivmast mit Mais erhalten werden. Jedoch reichen die Informationen aus der Stickstoff-Stabilisotopenanalytik allein nicht aus, um zwischen biologischem und konventionellem Rindfleisch zu unterscheiden. Biohühnereier wiederum lassen sich gut von konventionellen Eiern anhand von Stickstoff-Stabilisotopenanalytik differenzieren. Vielversprechend für die Diskriminierung von Wildlachs, konventionellem und biologischen Zuchtlachs ist die Fettsäureanalytik in Kombination mit Stickstoff-Stabilisotopenanalytik. Die Diskriminierung dieser drei Lachstypen gelingt auch mit der Analytik der Isomere des Carotins Astaxanthin. Auch diesen zwei Methoden liegen die Unterschiede in der Fütterung zugrunde. Vielversprechend ist ebenfalls die Überprüfung der korrekten Anwendung von Tetracyclin-Antibiotika in der Schweine- und Geflügelhaltung anhand von Fluoreszenzmikroskopie von Knochenschnitten.

Die angewendeten Analytiktechniken Gaschromatographie bei der Fettsäureanalytik, HPLC<sup>26</sup> bei der Analytik von Carotinisomeren, Isotopenmassenspektrometrie bei den Stabilisotopen und Fluoreszenzmikroskopie sind gut etabliert. Gaschromatographen und HPLC-Anlagen sind in Praxislaboratorien gängig. Isotopenmassenspektrometer hingegen sind noch nicht so weit verbreitet in den kommerziellen Laboratorien.

### Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs

Der Biolandbau und die konventionelle Landwirtschaft weichen u. a. in der Art der Nährstoff-/Mineralversorgung der Nutzpflanzen, in der Bestandsdichte, in der Bekämpfung der Pflanzenpathogene, –schädlinge und Beikräuter ab. Die Böden der beiden Anbausysteme weisen unterschiedliche Bodenmikroorganismen und eine abweichende Bodenqualität auf. Diese anbaubedingte Differenzen haben Auswirkungen auf den pflanzlichen Stoffwechsel, welche sich im Metabolom, im Proteom, in diversen Inhaltsstoffen und in den Verhältnissen der Stabilisotope niederschlagen.

Bei den pflanzlichen Lebensmitteln werden in der Praxis biologisch erzeugte und konventionelle Produkte häufig mit dem Nachweis von chemisch-synthetischen Pflanzenschutzmitteln unterschieden (siehe auch Tabelle 2). Hier wird der generelle Verzicht auf chemisch-synthetische Pflanzenschutzmittel im Biolandbau kontrolliert. Der Biolandbau arbeitet nicht isoliert von der konventionellen Landwirtschaft und somit sind unbeabsichtigte Kontaminationen mit chemisch-synthetischen Pestiziden durch Abdrift, Verschleppung, etc. möglich. Dadurch

---

<sup>25</sup> C4-Pflanzen nutzen einen Stoffwechselweg, um Kohlenstoffdioxid für die Photosynthese zunächst räumlich vorzufixieren und erst dann wie C3-Pflanzen im Calvin-Zyklus zu Kohlenhydraten aufzubauen. Der Name C4 leitet sich vom ersten Fixierungsprodukt ab, welches durch die Assimilation von Kohlenstoffdioxid entsteht. Während dies bei C3-Pflanzen eine Kohlenstoffverbindung mit drei C-Atomen ist, findet man in C4-Pflanzen eine Verbindung mit vier C-Atomen. Amarant, Hirse, Mais und Zuckerrohr sind C4-Pflanzen.

<sup>26</sup> HPLC: Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

kommt es zu einer Überlappung der Messdaten von konventionellen und biologisch erzeugten Proben. Die Interpretation der Messdaten erfolgt mittels Plausibilitätsprüfung, erfordert u. a. Wissen über das Abbauverhalten des detektierten Wirkstoffs in der Pflanze und zusätzliche Informationen über die Produktionsbedingungen der analysierten Produktcharge. Die Extraktions- und Analysetechniken (GC-MS<sup>27</sup>, GC-TOFMS<sup>28</sup>, HPLC, LC-MS/MS<sup>29</sup>, etc.) für chemisch-synthetische Pflanzenschutzmittel sind in der Praxis gut etabliert und die erforderlichen Geräte in den kommerziellen Laboratorien weit verbreitet.

Andere Methoden für die Differenzierung zwischen biologischen und konventionellen Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs machen sich die Unterschiede zwischen den Anbausystemen im Metabolom, im Proteom, in den Gehalten diverser Inhaltstoffe und in den Verhältnissen der Stabilisotope zu Nutze. Eine Übersicht der Methoden ist in Tabelle 2 ersichtlich.

Es gibt Unterschiede zwischen biologisch und konventionell hergestellten Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs im Gehalt an Stickstoff, Magnesium, Zink, Polyphenolen, Zucker, Phosphor, etc. Allerdings lassen sich diese Unterschiede nicht für alle Lebensmittel verallgemeinern. Diese Parameter werden nicht nur vom Anbausystem beeinflusst. Es muss für jedes pflanzliche Produkt untersucht werden, welche Parameter eine Unterscheidung zwischen konventionell und biologisch erzeugten Produkten ermöglichen. Erste Versuche mit der Bestimmung der Protein- und Ascorbinsäuregehalte konnten erfolgreich Kartoffelproben aus den beiden Anbausystemen trennen. Die Polyphenolanalytik hingegen reicht nicht aus, um ökologisch und konventionell erzeugte Karotten, Kartoffeln und Zwiebeln zu diskriminieren. Mit der Analytik von Spurenelementen, Metallen, sekundären Metaboliten, enzymatischer Oxydation und Sensorik konnten Proben von biologischen und konventionell angebauten Kartoffeln nicht saisonunabhängig differenziert werden. Die Stabilisotopenanalytik ist vielversprechend in der Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Proben von Kartoffeln und Tomaten, aber nicht bei Karotten und die Ergebnisse sind nicht eindeutig bei Kopfsalat. In Kombination mit der Spurenelementanalytik differenziert die Stabilisotopenanalytik auch gut zwischen konventionellen und ökologischen Tomatenproben, jedoch nicht Kopfsalat aus biologischen und konventionellen Anbau. Erste Versuche mit Stabilisotopenanalytik in Kombination mit Metabolitenanalytik diskriminierten erfolgreich biologische und konventionelle Orangen und Orangensaft. Proteom- und Metabolom-Profilings sind beides erfolgversprechende Methoden für die Unterscheidung Bio-konventionell bei Weizen und Kartoffeln bzw. bei Weizen und Mais. Bei beiden Methoden muss die Robustheit der Biomarker noch mit weiteren Untersuchungen bestätigt werden. Die Differenzierung Bio-konventionell mittels Metabolomik-Fingerabdruck bei Tomaten und Kartoffeln ist noch im Forschungsstadium, dennoch aussichtsreich. Der Metabolomik-Ansatz zur Unterscheidung von ökologischen und konventionellen Karotten ist ebenfalls noch im Forschungsstadium, jedoch erfolgversprechend. Der Multielement- und Stabilisotopen-Fingerabdruck ist eine Methode im Forschungsstadium, die sich für die Unterscheidung von biologischen und konventionell erzeugten Lebensmitteln eignen könnte.

Ganzheitliche Methoden, wie es die Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie und die Biokristallisation sind, ermöglichen den gesamten Anbauprozess im Lebensmittel zu erfassen. Sie ermitteln die Unterschiede zwischen konventionellen und ökologischen Lebensmittel als

---

<sup>27</sup> GC-MS: Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung

<sup>28</sup> GC-TOFMS: Gaschromatographie mit Time Of Flight-Massenspektrometrie-Kopplung

<sup>29</sup> LC-MS/MS: Flüssigchromatographie mit MSxMS-Massenspektrometrie-Kopplung

Ganzes. Dabei werden produktinterne Organisations- und Ordnungsphänomene gemessen, welche durch die Anbau- und Umweltbedingungen beeinflusst werden. Die Techniken der Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie und der Biokristallisation sind validiert und einfach in der Durchführung. Durch die computergestützte Bildauswertung bei der Biokristallisation und die automatisierten Auswertung der Messwerte bei der Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie konnten die Methoden standardisiert werden. Beides sind erfolgversprechende Methoden, die sich noch im Forschungsstadium befinden. Mittels Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie gelang die Unterscheidung von biologischen und konventionellen Äpfeln, Karotten, Weizen und Mais. Die Biokristallisation differenzierte u. a. konventionell und ökologisch angebauten Weizen.

Tabelle 1: Übersicht der Methoden für die Unterscheidung zwischen biologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln tierischen Ursprungs

Methode	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Tierische Produkte</b>			
<b>Fettsäureanalytik</b>	Kuhmilch aus Berggebieten	Collomb, M., W. Bisig, U. Bütikofer, R. Sieber, M. Bregy, & L. Etter (2008): Fatty acid composition of mountain milk from Switzerland: Comparison of organic and integrated farming systems. <i>International Dairy Journal</i> 18: 976-982.	Vielversprechend für die Unterscheidung von Schweizer Bergkuhmilch konventionellen und ökologischer Erzeugung. Praxisnah. Parameter und Grenzwerte sind nur bedingt übertragbar auf andere Berggebiete, wegen der regionalen Unterschiede in der Fütterung und im Weidegang der Milchkühe.
<b>Fettsäureanalytik</b>	Kuhmilch und Kuhmilchprodukte	Vetter, W. & M. Schröder (2010): Concentrations of phytanic acid and pristanic acid are higher in organic than in conventional dairy products from the German market. <i>Food Chemistry</i> 119 (2): 746-752.	Vielversprechend für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Käse, Butter, Sahne und Milch (aus Kuhmilch). Im Forschungsstadium. Untersuchungen sollten mit mehr Proben des gleichen Typs erweitert werden.
<b>Kombination von Stabilisotopenanalytik und Fettsäureanalytik</b>	Kuhmilch	Molkentin, J. & A. Giesemann (2007): Differentiation of organically and conventionally produced milk by stable isotope and fatty acid analysis. <i>Analytical and Bioanalytical Chemistry</i> 388 (1): 297-305. Molkentin, J. (2009): Authentication of organic milk using $\delta^{13}\text{C}$ and the $\alpha$ -linolenic acid content of milk fat. <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> 57: 785–790.	Vielversprechend für die Unterscheidung von deutscher ökologisch und konventionell erzeugter Kuhmilch. Unterscheidung von konventioneller und biologischer Bergmilch vermutlich schwierig mit dieser Methode. Praxisnah. <b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b>

Methode	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Kombination von Stabilisotopenanalytik, Fettsäureanalytik und 'Artificial Neural Network'</b>	Lachs	Molkentin, J.; H. Meisel, I. Lehmann, & H. Rehbein (2007): Identification of organically farmed Atlantic salmon by analysis of stable isotopes and fatty acids. <i>European Food Research and Technology</i> 224 (5): 535-543.	Vielversprechend für die Unterscheidung von wildem Lachs, biologischen Zuchtlachs und konventionellen Zuchtlachs. Im Forschungsstadium. Untersuchungen sollten mit weiteren Lachsproben erweitert werden, um eine größere Diversität in der Lachsfütterung abzudecken und die Robustheit der Methode zu erhöhen.
<b>Fettsäureanalytik</b>	Lachs	Megdal, P. A., N. A. Craft, & G. J. Handelman (2009): A simplified method to distinguish farmed ( <i>Salmo solar</i> ) from wild salmon: Fatty acid ratios versus Astaxanthin chiral isomers. <i>Lipids</i> 44 (6): 569-576.	Vielversprechend für Unterscheidung von wildem Lachs und Zuchtlachs (Bio und konventionell). Unterscheidet allerdings nicht zwischen biologisch und konventionell erzeugtem Lachs. Analytik ist Praxisnah.
<b>Analytik der Isomere von Carotinoiden</b>	Lachs	Rehbein, H., J. Brüggemann, W. Jira, H. Karl, I. Lehmann, M. Manthey-Karl, H. Meisel, J. Molkentin, J. Oehlschläger, U. Ostermeyer, U. Ruoff, K.-H. Schwind (2003): Entwicklung von Methoden zum Nachweis von ökologisch erzeugten Produkten am Beispiel der Lachszucht. Abschlussbericht des Projekts 02OE073/1 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau. Bericht archiviert unter <a href="http://orgprints.org/16211/3/16211-02OE073-ble-mri_bund-2003-lachszucht.pdf">http://orgprints.org/16211/3/16211-02OE073-ble-mri_bund-2003-lachszucht.pdf</a>	Vielversprechend für die Unterscheidung von wildem Lachs, biologischem Zuchtlachs und konventionellem Zuchtlachs. Praxisnah. Methode wird bereits für die Authentizitätprüfung von Lachs von der U. S. Food and Drug Administration (FDA) angewendet



Methode	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Stabilisotopenanalytik (Kohlenstoff)</b>	Rindfleisch	<p>Boner, M. (2006): Überprüfung der Authentizität von Rindfleisch (Bio) mit Hilfe der stabilen Isotope der Bioelemente. Dissertation vorgelegt bei der Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn. Beitrag archiviert unter <a href="http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online/landw_fak/2006/boner_markus/0804.pdf">http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online/landw_fak/2006/boner_markus/0804.pdf</a></p> <p>Boner, M. &amp; S. Hofem (2009): The usage of stable isotopes to prove the authenticity of organic food especially organic eggs and organic beef. In: Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia? Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.</p>	<p>Die <math>\delta^{13}\text{C}</math> -Isotopenverhältnisse bieten Möglichkeiten über den abgeschätzten C4-Anteil in der Nahrung Hinweise auf eine Intensivmast mit Mais zu erhalten und bieten somit eine indirekte Möglichkeit zur Unterscheidung von konventionell und ökologisch erzeugten Produkten. Eine Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugtem Rindfleisch ist nur bedingt möglich. Ohne Rückführung der Erkenntnis aus den <math>^{13}\text{C}</math>-Isotopenverhältnisse auf die eingesetzte Menge an Mais, kann nur der Status in der Nahrung wiedergegeben, jedoch nicht zwischen Bio und konventionell erzeugtem Rindfleisch unterschieden werden.</p> <p><b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b></p>
<b>Antibiotika-Nachweis in Knochenschnitten mit Fluoreszenzmikroskopie</b>	Schweinefleisch, Hühnerfleisch	<p>Kelly, M., J. A. Tarbin, H. Ashwin, &amp; M. Sharman (2006): Verification of compliance with organic meat production standards by detection of permitted and nonpermitted uses of veterinary medicines (Tetracycline antibiotics). Journal of agricultural and food chemistry 54: 1523-1529.</p>	<p>Vielversprechende Untersuchungen für die Überprüfung der korrekten Anwendung von Tetracyclin-Antibiotika in der biologischen Schweine- und Geflügelhaltung. Im Forschungsstadium. Untersuchungen müssen erweitert werden um die Robustheit der Methode zu überprüfen.</p>

Methode	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Stabilisotopenanalytik (Stickstoff)</b>	Hühnereier	<p>Boner, M. (2003): Herkunftsbestimmung von Bioeiern und deren mögliche Differenzierung von konventionellen Eiern mit Hilfe der stabilen Isotope der Bioelemente. Abschlussbericht des Projekts 02OE542 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau.</p> <p>Boner, M. &amp; S. Hofem (2009): The usage of stable isotopes to prove the authenticity of organic food especially organic eggs and organic beef. In: Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia? Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.</p>	<p>Vielversprechend. Die Unterscheidung von Eiern aus biologischen und konventionellen Erzeugung ist möglich. Die Methode wird in der Praxis der Authentizitätprüfung von Hühnereiern bereits angewandt.</p> <p><b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b></p>

**Tabelle 2: Übersicht der Methoden für die Unterscheidung zwischen biologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs**

Methode	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Pflanzliche Produkte</b>			
<b>Inhaltsstoffe</b>	Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs	Brandt, K. & J. P. Molgaard (2001): Organic agriculture: does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? Journal of the Science of Food and Agriculture 81: 924-931. Dangour, A., S. Dodhia, A. Hayter, A. Aikenhead, E. Allen, K. Lock, & R. Uauy (2009): Comparison of composition (nutrients and other substances) of organically and conventionally produced foodstuffs: a systematic review of the available literature. Report for the Food Standards Agency.	Unterschiede zwischen Bio und konventionellen Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs im Gehalt an Stickstoff, Magnesium, Zink, Polyphenole, Zucker, Phosphor. Es muss für jedes pflanzliche Produkt untersucht werden, welche Parameter eine Unterscheidung zwischen konventionell und biologisch erzeugten Produkten ermöglichen.
<b>Analytik von chemisch-synthetischen Pflanzenschutzmittel-rückständen</b>	Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs	Wyss, G. S. & K. Nowack (2006): Konzept zur Beurteilung von Pestizidrückständen in Bioprodukten. Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene 97(4): 312-322.	Eine gängige und gut etablierte Methode in der Praxis. Die Methode ermöglicht die Unterscheidung von biologischen und konventionell erzeugten Lebensmitteln. Um eine eindeutige Zuordnung zu Bio oder nicht Bio machen zu können, bedarf es Hintergrundinformationen über die jeweilige Charge des untersuchten Lebensmittels.

Methoden	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie</b>	Äpfel	Strube, J. & P. Stolz (2007): Differenzierung und Klassifizierung von Ökoprodukten mittels validierter analytischer und ganzheitlicher Methoden. Abschlussbericht zum Projekt 02OE170/F2 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau. Beitrag archiviert unter <a href="http://orgprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf">http://orgprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf</a> .	Vierversprechende Ergebnisse. Im Forschungsstadium. Die Methode ist validiert. Untersuchungen sollten mit weiteren Apfelproben erweitert werden, um eine grössere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken und die Robustheit der Methode zu erhöhen. <b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b>
<b>Metabonomik</b>	Karotten	Dasko, L., H. Jijakl, & A. Maquet (2009): Application of a metabonomic approach for the discrimination of organically and conventionally grown carrots. In: Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia? Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.	Vierversprechende Forschungsergebnisse für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Karotten. Untersuchungen müssen erweitert werden, um die bisherigen Ergebnisse zu bestätigen.
<b>Polyphenolanalytik</b>	Karotten	Soltoft, M., J. Nielsen, K. H. Laursen, S. Husted, U. Halekoh, & P. Knuthsen (2010): Effects of organic and conventional growth systems on the content of flavonoids in onions and phenolic acids in carrots and potatoes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 10323-10329.	Keine Unterscheidung aufgrund der Gehalte von einzelnen Polyphenolen möglich zwischen biologisch und konventionell erzeugten Karotten aus dänischen Feldversuchen.

Methoden	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Stabilisotopenanalytik (Stickstoff)</b>	Karotten	Bateman, A. S., S. D. Kelly, & M. Woolfe (2007): Nitrogen isotope composition of organically and conventionally grown crops. <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> 55: 2664-2670.	Keine Unterscheidung möglich zwischen konventionell und biologisch erzeugten Karotten mit $\delta^{15}\text{N}$ .
<b>Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie</b>	Karotten	Strube, J. & P. Stolz (2007): Differenzierung und Klassifizierung von Ökoprodukten mittels validierter analytischer und ganzheitlicher Methoden. Abschlussbericht zum Projekt 02OE170/F2 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau. Beitrag archiviert unter <a href="http://orprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf">http://orprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf</a> .	Vielversprechende Ergebnisse. Im Forschungsstadium. Die Methode ist validiert. Untersuchungen sollten mit weiteren Karottenproben erweitert werden, um eine grössere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken und die Robustheit der Methode zu erhöhen. <b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b>
<b>Bestimmung Proteingehalt und Gehalt an Ascorbinsäure</b>	Kartoffeln	Camin, F., A. Moschella, F. Miselli, B. Parisi, G. Versini, P. Ranalli, & P. Bagnaresi (2007): Evaluation of markers for the traceability of potato tubers grown in an organic versus conventional regime. <i>Journal of the Science of Food and Agriculture</i> 87: 1330-1336.	Konventionell und biologisch erzeugte italienische Kartoffeln konnten nicht unterschieden werden.

Methoden	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Metabolomik-Fingerabdruck</b>	Kartoffeln	Hajslova, V. Schulzova, L. Vaclavik, & K. Riddellova (2009): Metabolomic profiling employing DART-TOFMS: a challenging tool in organic crops authentication. In: Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia? Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.	Vielversprechend für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Kartoffeln. Im Forschungsstadium. Untersuchungen sollten erweitert werden.
<b>Polyphenolanalytik</b>	Kartoffeln	Soltoft, M., J. Nielsen, K. H. Laursen, S. Husted, U. Halekoh, & P. Knuthsen (2010): Effects of organic and conventional growth systems on the content of flavonoids in onions and phenolic acids in carrots and potatoes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 10323-10329.	Keine Unterscheidung aufgrund der Gehalte von einzelnen Polyphenolen möglich zwischen biologisch und konventionell erzeugten Kartoffeln aus dänischen Feldversuchen.
<b>Protein-Profiling</b>	Kartoffeln	Lesheraanta, S. J., K. M. Koistinen, N. Massat, H. V. Davies, L. V. T. Shepherd, J. W. McNicol, I. Cakmak, J. Cooper, L. Lück, S. O. Kärenlampi, & C. Leifert (2007): Effects of agricultural production systems and their components on protein profiles of potato tubers. Proteomics 7: 597-604.	Vielversprechend. Im Forschungsstadium. Die Untersuchungen sollten mit weiteren Kartoffelproben erweitert werden, um eine größere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken, die Ergebnisse zu bestätigen und die Robustheit der Biomarker zu erhöhen. Eine Vereinfachung der Methode für die Praxis ist möglich.

Methoden	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Spurenelemente, Metalle, Sekundäre Metabolite, Enzymatische Oxydation, Sensorik</b>	Kartoffeln	Hajslova, J., V. Schulzova, P. Slanina, K. Janne, K. E. Hellenäs, & C. Andersson (2005): Quality of organically and conventionally grown potatoes: Four-year study of micronutrients, metals, secondary metabolites, enzymic browning and organoleptic properties. Food Additives and Contaminants 22 (6): 514-534.	Die Parameter sind nicht robust genug für eine saisonunabhängige Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Kartoffeln.
<b>Stabilisotopenanalytik (Stickstoff)</b>	Kartoffeln	Camin, F., A. Moschella, F. Miselli, B. Parisi, G. Versini, P. Ranalli, & P. Bagnaresi (2007): Evaluation of markers for the traceability of potato tubers grown in an organic versus conventional regime. Journal of the Science of Food and Agriculture 87: 1330-1336.	Vielversprechend. Im Forschungsstadium. Die Untersuchungen (bisher Italien) sollten mit weiteren Kartoffelproben erweitert werden, um eine größere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken, die Ergebnisse zu bestätigen und die Robustheit der Methode zu erhöhen.
<b>Stabilisotopenanalytik (Stickstoff)</b>	Kopfsalat	Bateman, A. S., S. D. Kelly, & M. Woolfe (2007): Nitrogen isotope composition of organically and conventionally grown crops. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 2664-2670.	Keine eindeutige Unterscheidung bisher möglich zwischen konventionell und biologisch erzeugtem Kopfsalat. Weiterführende Untersuchungen nötig, um eine breitere Referenzdatenbank aufzubauen.
<b>Kombination von Stabilisotopenanalytik (Stickstoff) und Spurenelementanalytik</b>	Kopfsalat	Simon D. Kelly & Alison S. Bateman (2010): Comparison of mineral concentrations in commercially grown organic and conventional crops – Tomatoes ( <i>Lycopersicon esculentum</i> ) and lettuces ( <i>Lactuca sativa</i> ). Food Chemistry 119 (2): 738-745.	Konventionell und biologisch erzeugter Kopfsalat aus England und der EU konnten nicht signifikant unterschieden werden.

Methode	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Metaboliten-Profilung</b>	Mais	Röhlig, R. M. & K-H. Engel (2010): Influence of the Input System (Conventional versus Organic Farming) on Metabolite Profiles of Maize (Zea mays) Kernels. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58 (5): 3022–3030.	Vielversprechend. Im Forschungsstadium. Die Untersuchungen sollten mit weiteren Maisproben erweitert werden, um eine größere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken und die Robustheit der Biomarker zu erhöhen. Die verwendete Analytik ist in der Praxis gut etabliert.
<b>Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie</b>	Mais	Strube, J. & P. Stolz (2007): Differenzierung und Klassifizierung von Ökoprodukten mittels validierter analytischer und ganzheitlicher Methoden. Abschlussbericht zum Projekt 02OE170/F2 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau. Beitrag archiviert unter <a href="http://orgprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf">http://orgprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf</a> .	Vielversprechende Ergebnisse. Im Forschungsstadium. Die Methode ist validiert. Untersuchungen sollten mit weiteren Maisproben erweitert werden, um eine größere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken und die Robustheit der Methode zu erhöhen. <b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b>
<b>Kombination von Metaboliten-Analytik und Stabilisotopenanalytik (Stickstoff)</b>	Orangen und Orangensaft	Rapisarda, P., M. L. Calabretta, G. Romano, & F. Intrigliolo (2005): Nitrogen metabolism components as a tool to discriminate between organic and conventional citrus fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 2664-2669.	Vielversprechend. Unterscheidung von italienischen konventionell und biologisch erzeugten Orangen und Orangensaft mittels Stickstoffgehalt, Sinephringehalt und $\delta^{15}\text{N}$ . Untersuchungen sollten mit weiteren Orangen- und Orangensaftproben erweitert werden, um eine größere Diversität in den Produktionsbedingungen und den geographischen und klimatischen Gegebenheiten abzudecken und die Robustheit der Biomarker zu erhöhen.



Methoden	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Kombination von Stabilisotopenanalytik (Stickstoff) und Spurenelementanalytik</b>	Tomaten	Simon D. Kelly & Alison S. Bateman (2010): Comparison of mineral concentrations in commercially grown organic and conventional crops – Tomatoes ( <i>Lycopersicon esculentum</i> ) and lettuces ( <i>Lactuca sativa</i> ). <i>Food Chemistry</i> 119 (2): 738-745.	Vielversprechende Forschungsergebnisse für die Unterscheidung von konventionellen und biologisch erzeugten Tomaten aus England und der EU.
<b>Metabolomik-Fingerabdruck</b>	Tomaten	Hajslova, V. Schulzova, L. Vaclavik, & K. Ridellova (2009): Metabolomic profiling employing DART-TOFMS: a challenging tool in organic crops authentication. In: Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia? Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.	Vielversprechende Ergebnisse. Im Forschungsstadium. Weiterführende Untersuchungen nötig.
<b>Stabilisotopenanalytik (Stickstoff)</b>	Tomaten	Bateman, A. S., S. D. Kelly, & M. Woolfe (2007): Nitrogen isotope composition of organically and conventionally grown crops. <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> 55: 2664-2670.	Vielversprechende Ergebnisse für die Unterscheidung von konventionell und biologisch erzeugten Tomaten. Trennschärfe kann mit der Kombination mit anderen Parametern verbessert werden (siehe Kombination von Stabilisotopenanalytik (Stickstoff) und Spurenelementanalytik)

Methoden	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Metaboliten-Profilierung</b>	Weizen	Zörb, C., G. Langenkämper, T. Betsche, K. Niehaus, & A. Barsch (2006): Metabolite profiling of wheat grains ( <i>Triticum aestivum</i> L.) from organic and conventional agriculture. <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> 54: 8301-8306. Zörb, C., K. Niehaus, A. Barsch, T. Betsche, & G. Langenkämper (2009): Level of compounds and metabolites in wheat ears and grains in organic and conventional agriculture. <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> 57: 9555-9562.	Vielversprechende Forschungsergebnisse für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugtem Weizen. Die Untersuchungen sollten mit weiteren Weizenproben erweitert werden, um eine größere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken und die Robustheit der Biomarker zu erhöhen. Die verwendete Analytik ist in der Praxis gut etabliert. <b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b>
<b>Proteom-Profilierung</b>	Weizen	Langenkämper, G., C. Zörb, & T. Betsche (2007): Charakterisierung von Getreide aus ökologischem und konventionellem Anbau – Anwendung von „Protein-Profilierung-Techniken“ und Inhaltsstoffanalysen. Abschlussbericht des Projekts 02OE069 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau. Bericht archiviert unter <a href="http://orgprints.org/13501/1/13501-02OE069-mri-bund-langenkaemper-2007-getreidecharakterisierung.pdf">http://orgprints.org/13501/1/13501-02OE069-mri-bund-langenkaemper-2007-getreidecharakterisierung.pdf</a>	Vielversprechende Forschungsergebnisse für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugtem Weizen. Die Untersuchungen sollten mit weiteren Weizenproben erweitert werden, um eine größere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken und die Robustheit der Biomarker zu erhöhen. Eine Vereinfachung der Methode für die Praxis ist möglich. <b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b>

Methoden	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Biokristallisation</b>	Weizen	<p>Kahl, J. (2006): Entwicklung, in-house Validierung und Anwendung des ganzheitlichen Verfahrens Biokristallisation für die Unterscheidung von Weizen-, Möhren- und Apfelproben aus unterschiedlichem Anbau und Verarbeitungsschritten. Habilitationsschrift für das Fach „Ökologische Lebensmittelqualität“ vorgelegt am Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften der Universität Kassel. Beitrag archiviert unter <a href="https://kobra.bibliothek.uni-kassel.de/bitstream/urn:nbn:de:hebis:34-2007061118604/1/HABILJKAHL.pdf">https://kobra.bibliothek.uni-kassel.de/bitstream/urn:nbn:de:hebis:34-2007061118604/1/HABILJKAHL.pdf</a></p> <p>Kahl, J., N. Busscher, &amp; A. Ploeger (2009): Authentication: Biocrystallisation applied on defined wheat samples. In: Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia?, Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.</p>	<p>Vierversprechende Ergebnisse für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugtem Weizen. Die Methode ist validiert. Weiterführende Untersuchungen mit Blindproben nötig. Praxisnah.</p> <p><b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b></p>
<b>Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie</b>	Weizen	<p>Strube, J. &amp; P. Stolz (2007): Differenzierung und Klassifizierung von Ökoprodukten mittels validierter analytischer und ganzheitlicher Methoden. Abschlussbericht zum Projekt 02OE170/F2 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau. Beitrag archiviert unter <a href="http://orgprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf">http://orgprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf</a>.</p>	<p>Vierversprechende Ergebnisse. Im Forschungsstadium. Die Methode ist validiert. Untersuchungen sollten mit weiteren Weizenproben erweitert werden, um eine grössere Diversität in den Produktionsbedingungen, klimatische und geographische Diversität abzudecken und die Robustheit der Methode zu erhöhen.</p> <p><b>Mehr Details zur Evaluierung der Praxistauglichkeit im Bericht.</b></p>

Methode	Lebensmittel	Literaturreferenz	Bemerkungen
<b>Polyphenolanalytik</b>	Zwiebeln	Soltoft, M., J. Nielsen, K. H. Laursen, S. Husted, U. Halekoh, & P. Knuthsen (2010): Effects of organic and conventional growth systems on the content of flavonoids in onions and phenolic acids in carrots and potatoes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 10323-10329.	Keine Unterscheidung aufgrund der Gehalte von einzelnen Polyphenolen möglich zwischen biologisch und konventionell erzeugten Zwiebeln aus dänischen Feldversuchen.
<b>Multielement- und Stabilisotopen-Fingerabdruck</b>	-----	Laursen, K. H., T. H. Hansen, D. P. Persson, J. K. Schjoerring & S. Husted (2009): Multi-elemental fingerprinting of plant tissue by semi-quantitative ICP-MS and chemometrics. Journal of Analytical Atomic Spectrometry 24: 1198 - 1207	Die neue Analysetechnik 'halbquantitative ICP-MS' (liefert Multielement- und Stabilisotopen-Fingerabdruck) kombiniert mit 'Chemometrik' ist im Forschungsstadium. Anwendung für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Produkten muss noch erforscht werden. ICP-MS = Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma; Chemometrik = Anwendung mathematischer und statistischer Methoden, um ein Maximum an chemischen Informationen aus experimentellen Messdaten zu extrahieren.

## 6 Literatur

- Andersen, J.-O. (2001): Development and application of the bio-crystallisation method. Biodynamic Research Association Denmark, Report 1.
- Andersen, J.-O., M. Huber, J. Kahl, N. Busscher, & A. Meier-Plöger (2003): A concentration matrix procedure for determining optimal combinations of concentrations in biocrystallisation. *EdN*, 79: 97-114.
- Angerosa, F., O. Bréas, S. Contento, C. Guillou, F. Reniero, & E. Sada (1999): Application of Stable Isotope Ratio Analysis to the Characterization of the Geographical Origin of Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (3): 1013-1017.
- Anonymus (2004): Jahresbericht 2004 des Bayerischen Landesamts für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit – Teil D - Analytische und diagnostische Arbeiten. Am 26.01.2011 unter [http://www.lgl.bayern.de/publikationen/doc/jahresberichte/2004/kapitel\\_d\\_2004.pdf](http://www.lgl.bayern.de/publikationen/doc/jahresberichte/2004/kapitel_d_2004.pdf) abgerufen.
- Balzer-Graf, U. & Balzer, F. (1988). Steigbild und Kupferchloridkristallisation - Spiegel der Vitalaktivität von Lebensmitteln. In: *Lebensmittelqualität - ganzheitliche Methoden und Konzepte*. Meier- Ploeger, A., Vogtmann, H., Verlag C. F. Müller Karlsruhe. *Alternative Konzepte* 66: 163-210.
- Balzer-Graf, U. (2001). *Vitalqualität - Qualitätsforschung mit bildschaffenden Methoden*. *Ökologie & Landbau* 117(1): 22-24.
- Bateman, A. & S. Kelly (2007): Fertiliser nitrogen isotope signatures. *Isotopes in Environmental and Health Studies* 43 (3): 237-247.
- Bateman, A., S. Kelly, & T. D. Jickells (2005): Nitrogen isotope relationships between crops and fertiliser: implications for using nitrogen isotope analysis as an indicator of agricultural regime. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (14): 5760–5765.
- Battaglini, L. M., M. Renna, A. Garda, C. Lussiana, V. Malfatto, A. Mimosi, M. Bianchi (2009): Comparing milk yield, chemical properties and somatic cell count from organic and conventional mountain farming systems. *Italian Journal of Animal Sciences* 8 (2): 384-386,
- Beck, A. (2000). Die Qualität wird die Zukunft entscheiden. *Gäa-Journal - Fachmagazin für Öko-Landbau, Markt und Ernährung* 3: 10-11.
- Bergamo, P., E. Fedele, L. Iannibelli, & G. Marzillo (2003): Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chemistry* 82: 625–631.
- Boner, M. & H. Förstel (2001): Überprüfung der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  Isotopenverhältnisse im Schaum- und Perlwein. *Deut. Weinbau* 15: 18-23.
- Boner, M. & S. Hofem (2009): The usage of stable isotopes to prove the authenticity of organic food especially organic eggs and organic beef. In: *Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia?* Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.
- Boner, M. (2003): Herkunftsbestimmung von Bioeiern und deren mögliche Differenzierung von konventionellen Eiern mit Hilfe der stabilen Isotope der Bioelemente. Abschlussbericht des Projekts 02OE542 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau. Beitrag archiviert unter <http://orgprints.org/5947/1/5947-02OE542-agroisolab-boner-2003-isotope.pdf>

Boner, M. (2006): Überprüfung der Authentizität von Rindfleisch (Bio) mit Hilfe der stabilen Isotope der Bioelemente. Dissertation vorgelegt bei der Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn.

Beitrag archiviert unter

[http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss\\_online/landw\\_fak/2006/boner\\_markus/0804.pdf](http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online/landw_fak/2006/boner_markus/0804.pdf)

Bray, E. A., J. Bailey-Serres, & E. Weretilnyk (2000): Responses to abiotic stress. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones (Hrsg.), American Society of Plant Physiologists, Rockville, 1158-1203.

Bunk, B. (2007): MetaQuant: Quantifizierung von GC-MS-basierten Hochdurchsatz-Metabolomdaten. Diplomarbeit am Institut für Mikrobiologie der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig. Am 25.01.2011 abgerufen unter [http://www-public.tu-bs.de:8080/~bbunk/Diplomarbeit\\_2007.pdf](http://www-public.tu-bs.de:8080/~bbunk/Diplomarbeit_2007.pdf).

Busscher, N. & Kahl, J. (2003). Kupferchlorid-Kristallisation. In: *Ganzheitliche Untersuchungsmethoden zur Erfassung und Prüfung der Qualität ökologischer Lebensmittel: Stand der Entwicklung und Validierung - Abschlussbericht Projekt Bundesprogramm Ökologischer Landbau Nr. 02OE170*. Kahl, J., Busscher, N., Meier-Ploeger, A., Rahmann, K., Strube, J., Stolz, P., Staller, B., Werries, A., Mergardt, G., Mende, G., Negendank, C., Böhm, B., Köhl-Gies, B., Merschel, M., Weirauch, K., Universität Kassel in Kooperation mit KWALIS, Elektrochemisches Qualitätsconsulting GmbH und Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft: 15-60.

Busscher, N., J. Kahl, G. Mergardt, J.-O. Andersen, M. Huber, & A. Meier-Ploeger (2003): Vergleichbarkeit von Qualitätsuntersuchungen mit den bildschaffenden Methoden (Kupferchlorid-Kristallisation). In Freyer, Bernd (Hrsg.) *Ökologischer Landbau der Zukunft – Beiträge zur 7. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau (24.-26. Februar 2003)*, S. 217-220. Universität für Bodenkultur Wien, Institut für Ökologischen Landbau.

Beitrag archiviert unter <http://orgprints.org/1027/1/busscher-et-al-2003-CuCl2-Kristallisation.pdf>.

Busscher, N., J. Kahl, J.-O. Andersen, M. Huber, G. Mergardt, & A. Meier-Ploeger (2006): Das Verfahren der Biokristallisation und das Konzept der Selbstorganisation. *EdN*, 85, 93-103.

Butler, G., J. H. Nielsen, T. Slots, C. Seal, M. D. Eyre, R. Sanderson & C. Leifert (2008): Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 1431–1441.

Butler, G., S. Stergiadis, M. Eyre, C. Leifert, A. Borsari, A. Canever, T. Slots & J.H. Nielsen (2007): Effect of production system and geographic location on milk quality parameters. *Proceedings of the 3rd QLIF Congress, Hohenheim, Germany, March 20-23, 2007*. Archived at [http://orgprints.org/view/projects/int\\_conf\\_qlif2007.html](http://orgprints.org/view/projects/int_conf_qlif2007.html).

Camin, F., M. Perini, G. Colombari, L. Bontempo & G. Versini (2008): Influence of dietary composition on the carbon, nitrogen, oxygen and hydrogen stable isotope ratios in milk. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22: 1690-1696.

Camin, F., M. Perini, G. Colombari, L. Bontempo, & G. Versini (2008): Influence of dietary composition on the carbon, nitrogen, oxygen and hydrogen stable isotope ratios of milk. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22: 1690-1696.

Collomb, M., W. Bisig, U. Bütikofer, R. Sieber, M. Bregy, & L. Etter (2008): Fatty acid composition of mountain milk from Switzerland: comparison of organic and integrated farming systems. *International Dairy Journal* 18 (10-11): 976-982.

- Cornish, G. B., D. J. Skylas, S. Siriamornpun, F. Békés, O. R. Larroque, C. W. Wrigley, & M. Wootton (2001): Grain proteins as markers of genetic traits in wheat. *Austrian Journal of Agricultural Research* 52:1161-1171.
- DeNiro, M. J. & S. Epstein (1978): Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42: 495-506.
- Dennis, M. J. (1998): Recent developments in food authentication. *Analyst* 123: 151R-156R.
- Dewhurst, R. J., W. J. Fisher, J. K. S. Tweed, & R. J. Wilkins (2003): Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. *Journal of Dairy Science* 86: 2598–2611.
- Ellis, K. A., G. Innocent, D. Grove-White, P. Cripps, W. G. McLean, C. V. Howard, & M. Mihm (2006): Comparing the Fatty Acid Composition of Organic and Conventional Milk. *Journal of Dairy Sciences* 89:1938–1950.
- Fiehn, O. (2002): Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology* 48: 155-171.
- Fiehn, O., J. Kopka, P. Dormann, T. Altmann, R. N. Trethewey, & L. Willmitzer (2000): Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature Biotechnology* 18: 1157-1161.
- Grummer, R. R. (1991): Effect of Feed on the Composition of Milk Fat. *Journal of Dairy Science* 74 (9): 3244-3257.
- Hammond-Kosack, K. & J. D. G. Jones (2000): Responses to plant pathogens. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones (Hrsg.), American Society of Plant Physiologists, Rockville, 1102-1156.
- Heaton, S. (2001). *Organic farming, food quality and human health*. Soil Association – Organic standard. Bristol.
- Hobson, K. A. & R. G. Clark (1992): Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of <sup>13</sup>C in tissues. *The Condor* 94: 181-188.
- Jahreis, G., J. Fritsche, & H. Steinhart (1996): Monthly variations of milk composition with special regard to fatty acids depending on season and farm management systems - Conventional versus ecological. *European Journal of Lipid Science and Technology* 98 (11): 356–359.
- Jellum, E., O. Stokke, & L. Eldjarn (1972): Combined Use of Gas Chromatography, Mass Spectrometry, and Computer in Diagnosis and Studies of Metabolic Disorders. *Clinical Chemistry* 18, 800-809.
- Kahl, J. (2006): Entwicklung, *in-house* Validierung und Anwendung des ganzheitlichen Verfahrens Biokristallisation für die Unterscheidung von Weizen-, Möhren- und Apfelproben aus unterschiedlichem Anbau und Verarbeitungsschritten. Habilitationsschrift für das Fach „Ökologische Lebensmittelqualität“ vorgelegt am Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften der Universität Kassel.  
Beitrag archiviert unter <https://kobra.bibliothek.uni-kassel.de/bitstream/urn:nbn:de:hebis:34-2007061118604/1/HABILJKAHL.pdf>
- Kahl, J., M. Huber, N. Busscher, S. Kretschmer, J.-O. Andersen, G. Mergardt, M. Paulsen, P. Doesburg, & A. Meier-Ploeger (2005): Entwicklung der Biokristallisation für die Unterscheidung von Proben mittels computerunterstützter Texturanalyse und visueller Bildauswertung. 8. Wissenschaftstagung zum Ökol. Landbau, Kassel, March 1-4.

- Kahl, J., N. Busscher, & A. Ploeger (2009): Authentication: Biocrystallisation applied on defined wheat samples. In: Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia?, Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.
- Kelly, M. L., E. S. Kolver, D. E. Bauman, M. E. Van Amburgh, & L. D. Muller (1998): Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 81: 1630–1636
- Köhler, B., J. Strube, D. W. Fölsch, & K. Lange (1991): Photonenemission – eine neue Methode zur Erfassung der „Qualität“ von Lebensmitteln. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 87 (3): 78-83.
- Kopka, J., A. Fernie, W. Weckwerth, Y. Gibon & M. Stitt (2004): Metabolite profiling in plant biology: platforms and destinations. *Genome Biology* 5:109.1-109.9.
- Kornel, B. E., T. Werner, A. Roßmann & H.-L. Schmidt (1997): Measurement of stable isotope abundances in milk and milk ingredients — a possible tool for origin assignment and quality control. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* 205 (1): 19-24.
- Langenkämper, G., C. Zörb, & T. Betsche (2007): Charakterisierung von Getreide aus ökologischem und konventionellem Anbau – Anwendung von „Protein-Profilierung-Techniques“ und Inhaltsstoffanalysen. Abschlussbericht des Projekts 02OE069 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau.  
Bericht archiviert unter <http://orgprints.org/13501/1/13501-02OE069-mri-bund-langenkaemper-2007-getreidecharakterisierung.pdf>
- Leshera, S. J., K. M. Koistinen, N. Massat, H. V. Davies, L. V. Sheperd, J. W. McNicol, I. Cakmak, J. Cooper, L. Luck, S. O. Karenlampi, & C. Leifert (2007): Effects of agricultural production systems and their components on protein profiles of potato tubers. *Proteomics* 7: 597-604.
- Lottspeich, F. (1999): Proteomanalyse – ein Weg zur Funktionsanalyse von Proteinen. *Angewandte Chemie* 111: 2630-2647.
- Lu, C. G., M. J. Hawkesford, P. B. Barraclough, P. R. Poulton, I. D. Wilson, G. L. Barker, & K. J. Edwards (2005): Markedly different gene expression in wheat grown with organic or inorganic fertilizer. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences* 272: 1901-1908.
- Macko, S. A., E. Fogel, L. Marilyn; M. H. Engel, & P. E. Hare (1986): Kinetic fractionation of stable nitrogen isotopes during amino acid transamination. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 50 (10): 2143-2146.
- Mäder, P., A. Fliessbach, D. Dubois, L. Gunst, P. Fried, & U. Niggli (2002): Soil Fertility and Biodiversity in Organic Farming. *Science* 296: 1694-1697.
- Majoul, T., E. Bancel, E. Triboui, J. Ben Hamida, & G. Branlard (2003): Proteomic analysis of the effect of heat stress on hexaploid wheat grain: Characterisation of heat-responsive proteins from total endosperm. *Proteomics* 3: 175-183.
- Manca, G., F. Camin, G. C. Coloru, A. Del Caro, D. Depentori, M. A. Franco, & G. Versini (2001): Characterization of the Geographical Origin of Pecorino Sardo Cheese by Casein Stable Isotope ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) Ratios and Free Amino Acid Ratios. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (3): 1404-1409.



- Metges, C., K. Kempe, & H.-L. Schmidt (1990): Dependence of the carbon-isotope contents of breath carbon in milk, serum and rumen fermentation products on the  $^{13}\text{C}$  value of food in dairy cows. *British Journal of Nutrition* 63: 187-196.
- Minagawa, M. & E. Wada (1984): Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: Further evidence and the relation between  $^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochimica et Cosmopolita Acta* 48 (5): 1135-1140.
- Molkentin, J. & A. Giesemann (2007): Differentiation of organically and conventionally produced milk by stable isotope and fatty acid analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 388 (1): 297-305.
- Molkentin, J. & A. Giesemann (2010): Follow-up of stable isotope analysis of organic versus conventional milk. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398: 1493-1500.
- Molkentin, J. (2009): Authentication of organic milk using  $\delta^{13}\text{C}$  and the  $\alpha$ -linolenic acid content of milk fat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 785–790.
- Molkentin, J. (2009): Authentication of organic milk using  $\delta^{13}\text{C}$  and the  $\alpha$ -linolenic acid content of milk fat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57: 786-790.
- Nakamura, K., D. A. Schoeller, F. J. Winkler, & H.-L. Schmidt (1982): Geographical variations in the carbon isotope composition of the diet and hair in the contemporary man. *Biomedical Spectrometry* 9 (9): 390-394.
- Oliver, S. G., M. K. Winson, D. B. Kell, & R. Baganz (1998): Systematic functional analysis of the yeast genome. *Trends in Biotechnology* 16: 373-378.
- Palmquist, D. L., A. D. Beaulieu, & D. Barbano (1993): Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of Dairy Science* 76: 1753–1771.
- Popp, F.-A. (1988): Biophotonen-Analyse der Lebensmittelqualität. In: A. Meier-Plöger & H. Vogtmann (Hrsg.): *Lebensmittelqualität – ganzheitliche Methoden und Konzepte*. Verlag C. F. Müller GmbH, Karlsruhe, 87-112.
- Röhlig, R. M. & K-H. Engel (2010): Influence of the Input System (Conventional versus Organic Farming) on Metabolite Profiles of Maize (*Zea mays*) Kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (5): 3022–3030.
- Röhlig, R. M., J. Eder & K-H. Engel (2009): Metabolite profiling of maize grain: differentiation due to genetics and environment. *Metabolomics* 5 (4): 459-477.
- Rossmann, A., G. Haberhauer, S. Hölzl, P. Horn, F. Pichlmayer & S. Voerkeilius (2000): The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. *European Food Research and Technology* 211 (1): 32-40.
- Rozumek, M. (2004). Möglichkeiten und Grenzen bildschaffenden Methoden. *Lebendige Erde* 55(5): 44-48.
- Ruth, B. & F.-A. Popp, (1976): Experimentelle Untersuchungen zur ultraschwachen Photonenemission biologischer Systeme. *Zeitschrift für Naturforschung* 31c: 741-745.
- Sauter, H., M. Lauer & H. Fritsch (1991): Metabolic profiling of plants: a new diagnostic technique. *ACS Symposium series - American Chemical Society* 443: 228-299.
- Schudel, P., F. Augstburger, M. Eichenberger, H. Vogtmann, & P. Matile (1980): Kompost und NPK-Düngung zu Spinat im Spiegel empfindlicher Kristallisation und analytischer Daten, Teil1. *Lebendige Erde* 31: 67-70.

- Shearer G.B., D.H. Kohl, & B. Commoner (1974): The precision of determinations of the natural abundance of Nitrogen-15 in soils, fertilizers, and shelf chemicals. *Soil Science* 118 (5): 308-314.
- Siderer, Y., A. Maquet, & E. Anklam (2005): Need for research to support consumer confidence in the growing organic market. *Trends in Food Science and Technology* 16: 332-343.
- Skylas, D. J., J. A. Mackintosh, S. J. Cordwell, D. J. Basseal, B. J. Walsh, J. Harry, C. Blumenthal, L. Copeland, C. W. Wrigley, & W. Rathmell (2000): Proteome approach to the characterisation of protein composition in the developing and mature wheat grain endosperm. *Journal of Cereal Sciences* 32: 169-188.
- Sponheimer, M., T. F. Robinson, T. E. Cerling, L. Tegland, B. L. Roeder, L. Ayliffe, M. D. Dearing & J. R. Ehleringer (2006): Turnover of stable carbon isotopes in the muscle, liver, and breath CO<sub>2</sub> of alpacas (*Lama pacos*). *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20: 1395–1399.
- Strube, J. & P. Stolz (1999): Zerstörungsfreie Lebensmitteluntersuchung an Ganzproben mittels Bio-Photonen-Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie. 34. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (DGQ), 22.-23.03.1999 in Freising-Weihenstephan, 249-254.
- Strube, J. & P. Stolz (2001): Lichtspeicherung und Lebensmittelqualität. *Ökologie und Landbau* 117 (1): 15-19.
- Strube, J. & P. Stolz (2007): Differenzierung und Klassifizierung von Ökoprodukten mittels validierter analytischer und ganzheitlicher Methoden. Abschlussbericht zum Projekt 02OE170/F2 des Bundesprogramms Ökologischer Landbau. Beitrag archiviert unter [http://orgprints.org/14072/1/14072-02OE170\\_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf](http://orgprints.org/14072/1/14072-02OE170_F2-kwalis-strube-2007-oekoprodukte.pdf).
- Strube, J. & P. Stolz (2009): Long term fluorescence excitation spectroscopy – a view on its potential for organic food authentication. In: Proceedings of the International Workshop on Organic Food Authentication: Challenge or Utopia? Geel, Belgium, 30. November – 01. December 2009. JRC Technical Notes.
- Thorsdottir, I., J. Hill, & A. Ramel (2004): Seasonal variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid content in milk fat from Nordic countries. *J. Dairy Sci.* 87:2800–2802.
- Turner, G. L., F. H. Bergersen, & H. Tantala (1983): Natural enrichment of super(15)N during decomposition of plant material in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 15 (4): 495-497.
- Vensel, W. H., Tanaky, C. K., N. Cai, J. H. Wong, B. B. Buchanan, & W. J. Hurkman (2005): Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. *Proteomics* 5: 1594-1611.
- Weckwerth, W. & Morgenthal, K. (2005): Metabolomics: from pattern recognition to biological interpretation. *Drug Discovery Today*, 10 (22): 1551–1558.
- Wijesundera, C., Z. Shen, W. J. Wales, & D. E. Dalley (2003): Effects of cereal grain and fibre supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Research* 70: 257–265.
- Winkler, J. & H.-L. Schmidt (1980): Einsatzmöglichkeiten der <sup>13</sup>C-Isotopen-Massenspektrometrie in der Lebensmitteluntersuchung. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchungen und Forschung* 94: 85-93.

Wong, J. H., N. Cal, Y. Balmer, C. K. Tanaka, W. H. Vensel, W. J. Hurkmann, & B. B. Buchanan (2004): Thioredoxin targets of developing wheat seeds identified by complementary proteomic approaches. *Pytochemistry* 65: 1629-1640.

Yoneyama, T.; K. Kouno, J. Yazaki (1990): Variation of natural <sup>15</sup>N abundance of crops and soils in Japan with special reference to the effect of soil conditions and fertilizer application. *Soil Science and Plant Nutrition*, 36 (4): 667–675.

Zörb, C., G. Langenkämper, T. Betsche, K. Niehaus, & A. Barsch (2006): Metabolite profiling of wheat grains (*Triticum aestivum* L.) from organic and conventional agriculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8301-8306.

Zörb, C., K. Niehaus, A. Barsch, T. Betsche, & G. Langenkämper (2009): Level of compounds and metabolites in wheat ears and grains in organic and conventional agriculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 9555-9562.

# 7 Anhang

## 7.1 Kriterien

- › Robustheit gegenüber externen Faktoren, die unabhängig von der Anbaumethode sind (Jahr, Sorte/Rasse, Region)
- › Anwendbarkeit in kommerziellen Untersuchungslaboratorien:  
Verifizierung, Validierung, Investitionen, Ausbildung des Personals, Gesundheitsgefährdung, Abgrenzung, Kombination mit anderen Analytikmethoden, statistische Auswertung, Analysekosten, Zeitaufwand, Datenbanken, Entwicklung einer vereinfachten Methode
- › Übertragbarkeit auf andere Kulturen/Tierarten
- › Eignung für die Unterscheidung Bio und konventionell von verarbeiteten Monoprodukten
- › Eignung, um Vermischungen Bio und konventionell in Monoprodukten zu detektieren

## 7.2 Fragebogen

### Fragebogen für die Bewertung von differenzierenden Methoden für die Unterscheidung von biologisch und konventionell erzeugten Lebensmitteln

Die hier gegebenen Informationen werden im Rahmen des Forschungsprojektes „Weiterentwicklung und Nutzungsempfehlungen ausgewählter Methoden zur Unterscheidung von ökologischen und konventionellen Produkten“ (BLE-Projektnummern 08OE023 und 08OE044) erhoben. Sie werden in einem Bericht für die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) in Deutschland verwendet und publiziert werden.

#### Betrachtete Analytikmethode:

---

---

#### Material, welches mit der betrachteten Methode für die Diskriminierung untersucht wird:

---

#### Befragte Person(en):

Name: \_\_\_\_\_

Organisation: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

Datum der Befragung: \_\_\_\_\_

#### 1) Ausgangslage der Proben:

Bei den untersuchten Proben handelt es sich um:

- Rohware frisch \_\_\_\_\_ / gelagert \_\_\_\_\_;
- Rohware gewaschen \_\_\_\_\_ / ungewaschen \_\_\_\_\_

## 2) Robustheit gegenüber externen Faktoren, die unabhängig von der Anbaumethode sind

Mit der Methode können Bio-Proben von konventionellen Proben einer gleichen Kultur oder eines Produkts der gleichen Tierart unterschieden werden:

- unabhängig von den unterschiedlichen Erntejahren / klimatischen Bedingungen bzw. Aufzuchtjahren der Tiere: Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_ / bisher nicht untersucht \_\_\_\_\_;
- unabhängig von den unterschiedlichen Sorten/Rassen:  
Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_ / bisher nicht untersucht \_\_\_\_\_;
- unabhängig von des geographischen Ursprungs:  
Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_ / bisher nicht untersucht \_\_\_\_\_

Bemerkungen: \_\_\_\_\_

---

## 3) Anwendbarkeit in kommerziellen Untersuchungslaboratorien

Die Methode kann in Praxislaboratorien angewendet werden, um Bio-Proben von konventionellen Proben der gleichen Kultur oder von Produkten der gleichen Tierart zu unterscheiden. Die Bedingungen, um die Methode im Praxislabor zu etablieren sind folgende:

### a) Verifizierung der betrachteten Methode:

Mit Verifizierung ist die korrekte Klassifizierung von Blindproben als Bio oder konventionell gemeint.

- Die betrachtete Methode ist verifiziert: Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_;
- Wenn ja, für folgende Kultur oder für folgendes Tierprodukt:

\_\_\_\_\_

### b) Validierung der betrachteten Methode:

Die Methode ist validiert, wenn die Reproduzierbarkeit und Genauigkeit der Messungen gewährleistet sind.

- Die betrachtete Methode ist validiert: Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_;
- Wenn ja, für folgende Kultur oder für folgendes Tierprodukt:

\_\_\_\_\_

**c) Investitionen für die betrachtete Methode:**

- Die Anfangsinvestition in die Analysegeräte beträgt  
weniger als 20'000 Euro \_\_\_\_\_,                      20'001 bis 50'000 Euro \_\_\_\_\_,  
50'001 bis 100'000 Euro \_\_\_\_\_,                      100'001 bis 250'000 Euro \_\_\_\_\_,  
250'001 bis 500'000 Euro \_\_\_\_\_,                      über 500'000 Euro \_\_\_\_\_
- Die verwendeten Geräte sind in den meisten kommerziellen Laboratorien vorhanden:  
Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_;
- Es müssen Zusätze gekauft werden, um die Methode im Labor etablieren zu können:  
Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_;
- Diese Zusätze kosten  
weniger als 10'000 Euro \_\_\_\_\_,                      10'001 bis 25'000 Euro \_\_\_\_\_,  
25'001 bis 50'000 Euro \_\_\_\_\_,                      mehr als 50'000 Euro \_\_\_\_\_

**d) Ausbildung für die Durchführung der betrachteten Methode:**

Das Laborpersonal benötigt eine (Zusatz-)Ausbildung im Bereich

\_\_\_\_\_

**e) Gesundheitsgefährdung bei der Durchführung der betrachteten Methode:**

- Bei der Durchführung der Analytik sind Gesundheitsrisiken für das Laborpersonal vorhanden: Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_;
- Welche sind diese Gesundheitsrisiken? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
- Welche Massnahmen müssen ergriffen werden, um die Gesundheitsrisiken zu minimieren? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**f) Abgrenzung:**

Die Messdaten ermöglichen eine zuverlässige Aussage, ob die analysierte Probe Bio oder konventionellen Ursprungs ist.

- Bio kann von konventionell mit einer Wahrscheinlichkeit von über \_\_\_\_\_ % unterschieden werden.
- Im momentanen Stadium ist noch keine Aussage möglich zur Wahrscheinlichkeit der Unterscheidung Bio-konventionell: \_\_\_\_\_

**g) Kombination mit anderen Analytikmethoden:**

- Die betrachtete Methode allein genügt, um eine zuverlässige Aussage zu machen, ob eine Probe Bio ist oder konventionell; sie muss nicht mit Messdaten anderer Methoden kombiniert werden, um diese Aussage machen zu können:

Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_;

- Die betrachtete Methode muss mit einer (mehreren) anderen Analytikmethode(n) kombiniert werden, um eine zuverlässige Aussage Bio / konventionell machen zu können: Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_

Welche Analytikmethoden kommen dafür in Frage? \_\_\_\_\_

**h) Statistische Auswertung:**

Die Interpretation der Messdaten benötigt folgende statistische Auswertung(en) bzw. die Anwendung folgender statistischen Software: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**i) Analysekosten mit der betrachteten Methode:**

Die voraussichtlichen Kosten für die Analyse einer Probe (von der Anlieferung der Probe bis zu den Endergebnissen) betragen:

weniger als 100 Euro \_\_\_\_\_,                      101 bis 500 Euro \_\_\_\_\_,  
501 bis 1'000 Euro \_\_\_\_\_,                      1'001 bis 2'000 Euro \_\_\_\_\_,  
2'001 bis 5'000 Euro \_\_\_\_\_,                      über 5'000 Euro \_\_\_\_\_

**j) Zeitaufwand mit der betrachteten Methode:**

Der Zeitaufwand für die Analyse einer Probe (von der Anlieferung der Probe bis zu den Endergebnissen) beträgt:

weniger als 4 Stunden \_\_\_\_\_,                      4 bis 8 Stunden \_\_\_\_\_,  
8 bis 16 Stunden \_\_\_\_\_,                      16 bis 24 Stunden \_\_\_\_\_,  
24 bis 48 Stunden \_\_\_\_\_,                      mehr als 48 Stunden \_\_\_\_\_

Wenn mehr als 48 Stunden, wie viel Arbeitstunden oder Arbeitstage? \_\_\_\_\_

**k) Datenbanken:**

- Die betrachtete Methode braucht Datenbanken für die statistische Auswertung der Proben-Messdaten: Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_;

- Die nötigen Datenbanken für die statistische Auswertung der Proben-Messdaten sind vorhanden: Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_ / Unvollständig \_\_\_\_\_

Bemerkungen: \_\_\_\_\_



---

---

**l) Entwicklung einer vereinfachten Methode:**

- Die hier betrachtete Methode ist eine Forschungsmethode, die sich nicht für die Kontrollpraxis eignet. Es ist machbar auf der Grundlage positiver Forschungsergebnisse eine vereinfachte Methode für die Praxislaboratorien zu entwickeln:  
Ja\_\_\_\_\_ / Nein\_\_\_\_\_;

- Die hier betrachtete Methode eignet sich für die Kontrollpraxis und kann in Praxislaboratorien eingesetzt werden. Es braucht dafür keine Vereinfachung:  
Ja\_\_\_\_\_ / Nein\_\_\_\_\_

**m) Gerichtsbarkeit:**

Anhand der Messungen der betrachteten Methode können Gutachten für Gerichtsverfahren erstellt werden, welche besagen ob eine Lebensmittel biologisch oder konventionell erzeugt wurde: Ja\_\_\_\_\_ / Nein\_\_\_\_\_

**4) Übertragbarkeit auf andere Kulturen oder auf Lebensmittel tierischen Ursprungs:**

- Die Methode ist dafür geeignet die Diskriminierung Bio-konventionell auf andere Kulturen oder Tierprodukte zu erweitern: Ja\_\_\_\_\_ / Nein\_\_\_\_\_;
- Welche Kulturen oder Tierprodukte kommen für die Erweiterung in Frage?

---

---

**5) Eignung für die Unterscheidung Bio und konventionell von verarbeiteten Lebensmitteln:**

Die Methode eignet sich für die Diskriminierung Bio-konventionell von *verarbeiteten Monoprodukten*, das heisst verarbeitete Lebensmittel, die aus einer einzelnen Rohware bestehen, sei diese pflanzlichen oder tierischen Ursprungs:

Ja\_\_\_\_\_ / Nein\_\_\_\_\_

Wenn nein, aus welchen Gründen? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**6) Eignung für die Identifizierung von Vermischungen Bio und konventionell von Lebensmitteln:**

Die Methode eignet sich, um Vermischungen Bio-konventionell in *Monoprodukten* zu detektieren, das heisst Vermischungen in Lebensmitteln, die aus einer einzelnen Rohware bestehen, sei diese pflanzlichen oder tierischen Ursprungs:

Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_

Wenn nein, aus welchen Gründen? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**7) Welche Schritte müssen unternommen werden, damit die Methode für die praktische Unterstützung der Kontrollen (z. B. Selbstkontrolle der Betriebe, Kontrollen der Zertifizierungsorganisationen und Behörden, um Betrug aufzudecken, etc.) etabliert werden kann?**

**a) Datenbank:**

- Eine Datenbank muss etabliert werden mit Messdaten von authentischen Bio und konventionellen Proben der gleichen Kultur / des gleichen Tierprodukts unterschiedlichen geografischen Ursprungs, aus unterschiedlichen Erntejahren / Aufzuchtjahren und von unterschiedlichen Sorten / Rassen (siehe Punkt 3k):

Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_;

- Die Datenbank existiert bereits für diese Methode und Kultur / Tierprodukt, muss aber ergänzt werden mit Messdaten von Proben aus weiteren geografischen Regionen und Erntejahren / Aufzuchtjahren (siehe Punkt 3k): Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_

Bemerkungen: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**b) Entwicklung einer vereinfachten Methode für die Kontrollpraxis:**

Falls die Entwicklung eine vereinfachten Methode für die Praxislaboratorien notwendig ist (siehe Punkt 3l), welche Schritte müssen noch unternommen werden?

a) \_\_\_\_\_

b) \_\_\_\_\_

c) \_\_\_\_\_

d) \_\_\_\_\_

**c) Verifizierung:**

Die hier betrachtete Methode ist ausgereift und muss verifiziert werden (siehe Punkt 3a):

Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_

Eine vereinfachte Methode muss entwickelt und verifiziert werden:

Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_

Bemerkungen: \_\_\_\_\_

---

---

**d) Validierung:**

Die hier betrachtete Methode ist ausgereift und muss validiert werden (siehe Punkt 3b):

Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_

Eine vereinfachte Methode muss entwickelt und validiert werden:

Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_

Bemerkungen: \_\_\_\_\_

---

---

**e) Übertragbarkeit :**

Die Übertragbarkeit der betrachteten Methode auf weitere Kulturen / Tierprodukte (siehe Punkt 4) muss überprüft werden: Ja \_\_\_\_\_ / Nein \_\_\_\_\_

Bemerkungen: \_\_\_\_\_

---

---

*Ende des Fragebogens! Vielen Dank für Ihre Unterstützung!*