Entwicklung von anwenderfreundlichen DNA-basierten Schnelltests zur Überprüfung der Fischart

Anschluss zu AiF 18667 N



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungseinrichtung(en):	Max-Rubner-Institut (MRI) Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel Nationales Referenzzentrum für authentische Lebensmittel (NRZ-Authent) Dr. Ilka Haase/Dr. Kristina Kappel Universität Hamburg Hamburg School of Food Science Institut für Lebensmittelchemie Prof. Dr. Markus Fischer/Dr. Nils Wax Max-Rubner-Institut (MRI) Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch (Kiel) Prof. Dr. Jan Fritsche/Ute Schröder
Industriegruppe(n):	Bundesverband der deutschen Fischindustrie und des Fischgroßhandels e.V., Hamburg
Projektkoordinator:	Sven Schroeder Rassau Seafood GmbH, Hamburg
Laufzeit:	2021 – 2025
Zuwendungssumme:	€ 471.270,--

Ausgangssituation

Der Markt für Fische und Meeresfrüchte ist geprägt von einer großen Vielfalt. Weit über 800 verschiedene Arten dürfen in Deutschland gehandelt werden, von denen die meisten aus dem Ausland importiert werden. Die europäische Gesetzgebung verlangt bei diesen Produkten auf der Ebene des Einzelhandels eine exakte Kennzeichnung der Tierart, nicht nur mit der Handelsbezeichnung, die für diese Art in Deutschland gültig ist, sondern zusätzlich auch mit dem wissenschaftlichen (lateinischen) Namen. Entsprechen die eingekauften Waren nicht den auf den Handelspapieren angegebenen Artkennzeichnungen, werden die Unternehmen der Fischwirtschaft gleich doppelt geschädigt: Sie zahlen überhöhte Preise für falsch gekennzeichnete Ware und laufen zudem Gefahr, bei Aufdeckung in Regress genommen zu werden oder Bußgelder zahlen zu müssen. Um die (Roh-)Waren überprüfen und die korrekte Kennzeichnung der Produkte sicherstellen zu können, benötigen Produzenten und Händler sowohl eindeutige als auch einfache, schnelle und preisgünstige Verfahren zum Nachweis der Fischart. Ganze Fische können i. d. R. mit der entsprechenden Expertise aufgrund morphologischer Merkmale auf Spezies-Ebene klassifiziert werden. Bei prozessierten Waren ist die Feststellung der Fischart hingegen nur mit aufwändigen, teuren und auch zeitintensiven Labormethoden möglich. Im Rahmen des IGF-Projekts AiF 18667 N wurde bereits eine Reduktion der Analysedauer von mehreren Tagen auf vier Stunden

für elf marktrelevante Fisch- und zwei Garnelenarten erreicht. Trotzdem ist die auf Basis einer DNA-Chip-Analyse entwickelte Methode aufgrund vieler Einzelschritte noch relativ arbeits- und zeitaufwändig und erfordert die Expertise von wissenschaftlich ausgebildetem Laborpersonal. Ziel dieses Anschlussvorhabens ist es, die im IGF-Projekt AiF 18667 N entwickelte Analytik zu praxistauglichen und anwenderfreundlichen DNA-basierten Testverfahren für die einfache und schnelle Überprüfung der Fischart bei importierter bzw. eingekaufter Ware weiterzuentwickeln. Um den in den Produktportfolios (z. B. wenige bzw. viele gehandelte Fischarten) und Analysekapazitäten (eigene Laborkapazitäten/Betreuung durch Dienstleistungslabore) bedingten unterschiedlichen Anforderungen der Unternehmen Rechnung zu tragen, werden drei verschiedene analytische Ansätze verfolgt: (i) Einzelartentest mit schneller ja/nein-Antwort für die Vor-Ort-Analytik (beispielhaft für sieben Fischarten) (Ziel: max. zwei Stunden), (ii) automatisierter Test für Unternehmen mit kleinen Laborkapazitäten (beispielhaft für drei Fischarten) (Ziel: max. zwei Stunden), (iii) Multiartentest für die Analytik durch Service-Labore (für eine Vielzahl an Fischarten) (Ziel: max. vier Stunden). Besonderes Augenmerk bei der Entwicklung der molekularbiologischen Testverfahren liegt auf einer Anwendbarkeit ohne Laborexpertise und mit geringem technologischem Aufwand. Der benötigte Zeitaufwand soll dabei so gering wie möglich sein.

Forschungsergebnis

Im Projekt wurden anwenderfreundliche Schnelltests zur Differenzierung von Fischarten für verschiedene Anwendungsbereiche entwickelt:

Vor-Ort-Analyse (Einzelartentest, FE 2): Es wurde ein schneller, spezifischer LAMP-Test zur Detektion einzelner Fischarten (für Seezunge, Scholle, Atlantischer Lachs, Kabeljau, Regenbogenforelle, Pazifischer Pollack, Bonito) entwickelt. Die LAMP-Primer waren hochspezifisch und sensitiv. Die isothermale Methode wurde für eine unkomplizierte Probennahme und DNA-Extraktion optimiert. Der Nachweis der Fischart kann mittels Lateral Flow Assay, pH-abhängigem Farbumschlag oder mit einem portablen Gerät (Doctor Vida Pocket-Test) benutzerfreundlich und ortsunabhängig durchgeführt werden. Das Testergebnis liegt in weniger als einer Stunde vor. Die Tests eignen sich auch für verarbeitete Fischprodukte und wurden in einer standardisierten SOP festgehalten. Die Ergebnisse wurden in zwei wissenschaftlichen Publikationen veröffentlicht.

Automatisierter Mikrofluidiktest (FE 1): Basierend auf Vorarbeiten aus dem IGF-Projekts AiF 18667 N wurden spezifische DNA-Sonden für Atlantischen Kabeljau und Alaska-Seelachs weiterverwendet, und für Pazifischen Kabeljau neu -entwickelt, sodass insgesamt ein Set von 33 Sonden für die Überprüfung der drei Zielarten verwendet werden konnte. PCR-Produkte wurden in einer Triplex-PCR für verschiedene Ziel- und Nichtzielarten hergestellt Optimierte Hybridisierungsbedingungen ermöglichten die klare Identifizierung der drei Zielarten. Weitere Tests bestätigten eine hohe Spezifität der Sonden. Die Integration einer RPA-basierten Amplifikation ins System wurde begonnen, konnte aber nicht vollständig umgesetzt werden.

Multiartentest für Service-Labore (FE 3): Mehrere tausend Sequenzen ausgewählter Fisch-arten wurden ausgewertet, um ein universelles Set aus 100 Sonden für den Nachweis zahl-reicher Fischspezies zu generieren. Diese DNA-Microarray-Technologie wurde für 35 Fisch-arten aus 14 Familien mit insgesamt 84 Proben erfolgreich getestet und zeigte für jede Fischart ein spezifisches Signalmuster. Die Ergebnisse dieser Machbarkeitsstudie wurden in einer weiteren wissenschaftlichen Publikation veröffentlicht.

Insgesamt weisen die entwickelten Schnelltests eine hohe Spezifität, Benutzerfreundlichkeit und Praxistauglichkeit auf und sollen zukünftig sowohl anwendungsnahe Vor-Ort-Analytik als auch den Nachweis vieler Arten im Service-Labor. Ermöglichen. Damit die entwickelten Testverfahren von den fischwirtschaftlichen Unternehmen bzw. betreuenden Dienstleistungslaboren angewandt werden können, muss nach Projektende eine Weiterentwicklung bis zur Marktreife durch entsprechende Biotechnologie-Unternehmen erfolgen.

Wirtschaftliche Bedeutung

In Deutschland beträgt das Gesamtaufkommen an Fisch und Fischereierzeugnissen jährlich über zwei Mio. Tonnen (Fanggewicht). Der überwiegende Teil (deutlich über 80 %) wird dabei aus dem Ausland importiert. Die verschiedenen Sparten der Fischwirtschaft (Fischerei, Aquakultur, Importeure, verarbeitende Industrie, Groß- und Einzelhandel sowie die Gastronomie) haben im Jahr 2019 mit Fisch- und Fischereierzeugnissen insgesamt einen Gesamtumsatz von 16,6 Mrd. € erzielt und damit ca. 43.000 Beschäftigten eine Lebensgrundlage geboten.

Die fischverarbeitende Industrie ist in Deutschland stark geprägt von kleinen und mittelständischen Unternehmen (KMU). Diese Betriebe haben es mit einem intensiven Wettbewerb sowohl auf den Absatz- als auch auf den Bezugsmärkten zu tun. Die Überprüfung eingekaufter Ware bezüglich der Art ist nicht nur ein wichtiges Instrument, um Bußgelder und Imageschäden durch Betrug durch Zulieferer zu vermeiden. Die Forderung einer risikobasierten Kontrolle hinsichtlich möglicher Verfälschung hat auch Eingang in die Lebensmittel-Standards, wie z. B. International Featured Standard (IFS) Food, Global Food Safety Initiative (GFSI) und British Retail Consortium Global Standard (BRCGS), gefunden. Diese Standards verlangen explizit von den Unternehmen, Maßnahmen zu ergreifen, um das Lebensmittelbetrugsrisiko zu minimieren. Das unerkannte Durchreichen von falsch gekennzeichneten Fischarten kann sich bei Aufdeckung durch die amtliche Lebensmittelüberwachung oder durch Marktuntersuchungen, die im Auftrag von Nichtregierungsorganisationen (NGOs) durchgeführt werden (z. B. Citizen Science-Projekte), nicht nur negativ auf den eigenen Betrieb auswirken, sondern die gesamte fischwirtschaftliche Branche in Verruf bringen.

Gerade für KMU stellt die Überprüfung eingekaufter Waren bezüglich der Authentizität der Art ein organisatorisches sowie finanzielles Problem dar. Aufgrund der Komplexität der verfügbaren Analysenmethoden sind diese auf externe Dienstleistungslaboratorien angewiesen. Die hohen Kosten (ca. € 200 und mehr) der Analyse verhindern dabei eine breit angelegte Beprobung, so dass davon ausgegangen werden muss, dass Betrug oder irreführende Kennzeichnung bei gelieferter Ware in den meisten Fällen nicht entdeckt wird. Lange Standardanalysezeiten von meist drei Tagen bis zu einer Woche oder sogar länger verzögern darüber hinaus die zügige Weitervermarktung von Waren und sind insbesondere bei Frischfisch mit Blick auf die Produktqualität problematisch. Bei kleineren Lagerkapazitäten kann die Verzögerung der Weitervermarktung aber auch bei Tiefkühlware zu reduzierten Handelsvolumina führen.

Die in diesem Projekt entwickelten Testverfahren können von den fischverarbeitenden Unternehmen (entweder vor Ort, im eigenen Labor oder durch Partner-Service-Labore) in ihre Qualitätsmanagement-Systeme integriert werden. Der Mehrwert liegt dabei insgesamt in einer deutlichen Minderung des Betrugsrisikos im Seafood-Sektor.

Publikationen (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2025
2. Wax, N., Pförtner, L. S., Holz, N., Sterzl, S., Melnik, M., Kappel, K., Bade, P., Schröder, U., Haase, I., Fritsche, J. & Fischer, M.: Fast and User-Friendly Detection of Flatfish Species (*Pleuronectes platessa* and *Solea solea*) via Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP), Journal of Agricultural and Food Chemistry, 71 (40), S. 14795–14805. DOI: 10.1021/acs.jafc.3c03917 (2023).
3. Bade, P., Stix, S., Kappel, K., Fritsche, J., Haase, I., Torda, A., Wax, N., Fischer, M., Brandis, D. & Schröder, U.: A universal DNA microarray for rapid fish species authentication, Food Chemistry: Molecular Sciences, 10, S. 100241. DOI: 10.1016/j.fochms.2025.100241 (2024).
4. Holz, N., Wax, N., Oest, M., & Fischer, M.: REASSURED Test System for Food Control—Preparation of LAMP Reaction Mixtures for In-Field Identification of Plant and Animal Species, applied Sciences, 14 (23), S. 10946. DOI: 10.3390/app142310946 (2024).

Weiteres Informationsmaterial

Max-Rubner-Institut (MRI)
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel
Nationales Referenzzentrum für authentische Lebensmittel (NRZ-Authent)
E.-C.-Baumann-Straße 20, 95326 Kulmbach
Tel.: +49 9221 803-220
E-Mail: ilka.haase@mri.bund.de

Universität Hamburg
Hamburg School of Food Science
Institut für Lebensmittelchemie, AK Prof. Fischer
Grindelallee 117, 20146 Hamburg
Tel.: +49 40 42838-4359
Fax: +49 40 42838-4342
E-Mail: markus.fischer@chemie.uni-hamburg.de

Max-Rubner-Institut (MRI)
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel
Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch
Hermann-Weigmann-Straße 1, 24103 Kiel
Tel.: +49 431 609-2250
Fax: +49 431 609-2300
E-Mail: jan.fritsche@mri.bund.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Förderhinweis

… ein Projekt der ***Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)***

Gefördert durch:
Bundesministerium für Wirtschaft und Energie
aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

FORSCHUNGSKREIS DER ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.

INDUSTRIELLE GEMEINSCHAFTSFORSCHUNG

Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWE) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Bildnachweis - Seite 1: © U. Schröder, MRI

Stand: 30. Oktober 2025