

Dipl.-Chem. Nadine Herwig

**Isotopenanalytik zur Bestimmung
des Einflusses der Ernährung
auf die Isotopenzusammensetzung
in Rinderproben**

Die vorliegende Arbeit entstand an der BAM Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung.

Impressum

**Isotopenanalytik zur Bestimmung
des Einflusses der Ernährung
auf die Isotopenzusammensetzung in Rinderproben**

2010

Herausgeber:

BAM Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung

Unter den Eichen 87

12205 Berlin

Telefon: +49 30 8104-0

Telefax: +49 30 8112029

E-Mail: info@bam.de

Internet: www.bam.de

Copyright © 2010 by

BAM Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung

Layout: BAM-Arbeitsgruppe Z.64

ISSN 1613-4249

ISBN 978-3-9813550-5-5

Isotopenanalytik zur Bestimmung des Einflusses der Ernährung auf die Isotopenzusammensetzung in Rinderproben

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)
im Fach Chemie
eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I
der Humboldt-Universität zu Berlin
von

Dipl.-Chem. Nadine Herwig, geb. Knobbe
geboren am 21.11.1979 in Magdeburg

Präsident der Humboldt Universität zu Berlin:
Prof. Dr. Dr. h. c. Christoph Marksches
Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I:
Prof. Dr. Lutz-Helmut Schön

1. Gutachter: Prof. Dr. Ulrich Panne
2. Gutachter: Prof. Dr. Klaus Rademann

Tag der mündlichen Prüfung: 02.02.2010

Kurzzusammenfassung

Informationen über die Herkunft von Lebensmitteln und ihre Produktionsbedingungen haben einen hohen Stellenwert. Ein viel versprechender Ansatz zur Gewinnung solcher Informationen ist die Analyse von Isotopenverhältnissen. In dieser Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen den Isotopenverhältnissen $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ und $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ in Rinderproben (Milch, Urin) und den entsprechenden Isotopenverhältnissen im Futter untersucht. Es zeigte sich, dass alle vier untersuchten Isotopenverhältnisse in den Rinderproben von der Isotopenzusammensetzung des Futters abhängig sind. Ein Vorteil der Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Strontium und Magnesium ist dabei, dass diese direkt das Isotopenverhältnis der aufgenommenen Nahrung reflektieren, da anders als bei den Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnissen keine Isotopenfraktionierung im Rinderorganismus auftritt.

Aus der in dieser Arbeit durchgeführten Fütterungsstudie geht hervor, dass ein Futterwechsel bereits innerhalb von 10 Tagen anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in der Milch und im Urin nachvollzogen werden kann. Bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten wurde eine veränderte Futterzusammensetzung lediglich im Rinderurin nach 49 Tagen sichtbar. Bei der Probenuntersuchung von Rindern aus zwei verschiedenen Standorten (Berlin und Göstling/Österreich), die darüber hinaus auch mit unterschiedlichen Futterzusammensetzungen ernährt wurden, stellte sich heraus, dass anhand der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ - und $^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ -Isotopenverhältnisse keine Unterschiede erkennbar sind. Der deutlichste Bezug zur Art der aufgenommenen Nahrung konnte dagegen in den Rinderproben für die Kohlenstoffisotope festgestellt werden. Selbst minimale Unterschiede im Futter ließen sich in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Proben feststellen. Dadurch, dass regional sehr verschiedene Fütterungen bestehen, können bei unterschiedlichen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten des aufgenommenen Futters Proben von Rindern unterschiedlicher Herkunft unterschieden werden. Die Analyse der Strontiumisotopenverhältnisse zeigte darüber hinaus, dass zwischen den Rinderproben aus Berlin und Göstling aufgrund der unterschiedlichen geologischen Gegebenheiten ebenfalls signifikante Unterschiede sowohl in den Futtermitteln als auch in den Rinderproben nachweisbar sind. Die Kohlenstoff- und Strontiumisotopenverhältnisse ermöglichten demnach die bestmögliche Unterscheidung zwischen den Rinderproben aus unterschiedlichen Standorten. Zum Teil konnten hiermit auch Indizien für die unterschiedliche Form der Tierhaltung (konventionelle bzw. ökologische Tierhaltung) abgeleitet werden.

Abstract

Information about the origin of food and associated production systems has a high significance for food control. An extremely promising approach to obtain such information is the determination of isotope ratios of different elements. In this study the correlation of the isotope ratios $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$, and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ in bovine samples (milk and urine) and the corresponding isotope ratios in feed was investigated. It was shown that in the bovine samples all four isotope ratios correlate with the isotope composition of the feed. The isotope ratios of strontium and magnesium have the advantage that they directly reflect the isotope ratios of the ingested feed since there is no isotope fractionation in the bovine organism which is in contrast to the case of carbon and nitrogen isotope ratios.

From the present feeding study it is evident, that a feed change leads to a significant change in the $\delta^{13}\text{C}$ values in milk and urine within 10 days already. For the $\delta^{15}\text{N}$ values the feed change was only visible in the bovine urine after 49 days. Investigations of cows from two different regions (Berlin/Germany and Göstling/Austria) kept at different feeding regimes revealed no differences in the $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ isotope ratios. The strongest correlation between the isotope ratio of the bovine samples and the kind of ingested feed was observed for the carbon isotope ratio. With this ratio even smallest differences in the feed composition were traceable in the bovine samples. Since different regions usually coincide with different feeding regimes, carbon isotope ratios can be used to distinguish bovine samples from different regions if the $\delta^{13}\text{C}$ values of the ingested feed are different. Furthermore, the determination of strontium isotope ratios revealed significant differences between bovine and feed samples of Berlin and Göstling due to the different geologic realities. Hence the carbon and strontium isotope ratios allow the best discrimination between bovine samples of different locations. In some cases these ratios even show indications for the production system (conventional and organic cattle breeding).

Inhaltsverzeichnis

KURZZUSAMMENFASSUNG	V
ABSTRACT	VI
INHALTSVERZEICHNIS	VII
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	XI
TABELLENVERZEICHNIS	XIII
1 EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG	1
2 THEORIE STABILER ISOTOPE UND STAND DER FORSCHUNG	3
2.1 Informationen aus Isotopenverhältnissen	3
2.1.1 Kohlenstoffisotope	5
2.1.2 Stickstoffisotope	8
2.1.3 Magnesiumisotope	11
2.1.4 Strontiumisotope	14
2.2 Authentizitätsstudien und Einfluss der Ernährung auf die Isotopenzusammensetzung tierischer Produkte	15
3 GRUNDLAGEN DER BESTIMMUNG VON ISOTOPENVERHÄLTNISSSEN	20
3.1 Analytische Methoden	20
3.1.1 Isotopenverhältnismassenspektrometrie (IRMS)	23
3.1.2 Multikollektor-Thermionenmassenspektrometrie (MC-TIMS)	26
3.1.3 Multikollektor-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (MC-ICPMS)	28
3.1.4 Massenanalysatoren	30
3.1.5 Detektorsysteme	32
3.2 Messunsicherheit bei Isotopenverhältnisbestimmungen	35
3.2.1 Spektrale Interferenzen bei der IRMS	35
3.2.2 Spektrale Interferenzen bei der MC-ICPMS und MC-TIMS	37
3.2.3 Massendiskriminierung/Massenfraktionierung	38
3.2.4 Weitere Einflussgrößen	41
3.3 Standard- und Referenzmaterialien	42

3.3.1	Standard- und Referenzmaterialien für die Bestimmung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnisse	42
3.3.2	Standard- und Referenzmaterialien für die Bestimmung der Magnesium- und Strontiumisotopenverhältnisse	44
4	MATERIAL UND METHODEN	46
4.1	Probenübersicht	46
4.1.1	Futter- und Probenübersicht für Proben aus Berlin (2005)	46
4.1.2	Futter- und Probenübersicht für Proben aus Berlin (2006)	48
4.1.3	Futter- und Probenübersicht für Proben aus Göstling an der Ybbs (Österreich) 2006	50
4.1.4	Probennahme und -lagerung	51
4.2	Arbeitsmittel und Chemikalien	52
4.2.1	Reinigung	52
4.2.2	Verwendete Laborgeräte	53
4.3	Probenvorbereitung	53
4.3.1	Gefriertrocknung von Milch und Urin	54
4.3.2	Mahlung der Futtermittel	55
4.4	Probenaufschluss	56
4.4.1	Mikrowellenaufschluss	56
4.4.2	Hochdruckveraschung	58
4.4.3	Mikrowellen-unterstützte Veraschung	59
4.5	Analyt-Matrix-Trennung	60
4.5.1	Experimentelle Durchführung der Analyt-Matrix-Trennung	60
4.5.2	Ergebnisse der Analyt-Matrix-Trennung	63
4.6	Parameter für die Isotopenverhältnisbestimmung	66
4.6.1	Parameter für die Bestimmung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnisse	66
4.6.2	Parameter für die Bestimmung des Magnesiumisotopenverhältnisses	69
4.6.3	Parameter für die Bestimmung des Strontiumisotopenverhältnisses	70
5	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	73
5.1	Qualitätssicherung	73
5.1.1	Qualitätssicherung bei der Bestimmung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnisse	73
5.1.2	Qualitätssicherung bei der Bestimmung des Magnesiumisotopenverhältnisses	75
5.1.3	Qualitätssicherung bei der Bestimmung des Strontiumisotopenverhältnisses	78
5.1.4	Vergleichspräzisionen der Futtermittel und Rinderproben	79
5.2	Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff im Rinderfutter	81
5.3	Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff in Rinderproben	91

5.3.1	Einfluss des Futterwechsels auf die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte verschiedener Rinderproben.....	92
5.3.2	Einfluss des Futterwechsels auf die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte verschiedener Rinderproben.....	98
5.3.3	Zusammenfassung der Ergebnisse der Fütterungsstudie.....	101
5.4	Vergleich zwischen Rinderproben aus Deutschland und Österreich	102
5.4.1	Kohlenstoffisotopenverhältnisse in Rinderproben aus Berlin und Götting bei unterschiedlichen Fütterungen	105
5.4.2	Stickstoffisotopenverhältnisse in Rinderproben aus Berlin und Götting bei unterschiedlichen Fütterungen	110
5.4.3	Magnesiumisotopenverhältnisse in Rinderproben aus Berlin und Götting bei unterschiedlichen Fütterungen	114
5.4.4	Strontiumisotopenverhältnisse in Rinderproben aus Berlin und Götting bei unterschiedlichen Fütterungen	119
5.4.5	Zusammenfassung der Ergebnisse der Vergleichsstudie	126
5.4.6	Relevanz der Ergebnisse für die Unterscheidung von Proben aus verschiedenen Tierhaltungssystemen und von unterschiedlicher Herkunft.....	128
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	135
	LITERATURVERZEICHNIS	138
	DANKSAGUNG	153

Abkürzungsverzeichnis

AT	Österreich
BAM	Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
DE	Deutschland
GFZ	Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum
HPA	Hochdruckverascher
HR-ICPMS	Hochauflösende Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
ICP-OES	Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
IRMS	Isotopenverhältnismassenspektrometrie
K-Faktor	Korrekturfaktor
m	Masse
MC	Multikollektor
MS	Massenspektrometrie
TIMS	Thermionenmassenspektrometrie
p	Wahrscheinlichkeit
p. A.	pro analysi, Angabe der chemischen Reinheit
PE	Polyethylen
PEP	Phosphoenolpyruvat
PFA	Perfluoralkoxylalkan
PTFE	Polytetrafluorethylen
R	Isotopenverhältnis
RuBP	Ribulose-1,5-Bisphosphat
s.b.	Subboiling
z	Ladung

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Kohlendioxid-Kreislauf (nach [6]). Zahlenangaben sind $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in ‰.....	5
Abbildung 2: Variationsbreite der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte verschiedener Kohlenstoffquellen (Daten aus [6, 9])... 7	7
Abbildung 3: Darstellung des Stickstoffkreislaufs (nach [24]).....	8
Abbildung 4: Variationsbreite der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte terrestrischer Proben (Daten aus [6, 31, 32]).	10
Abbildung 5: Variationsbreite der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte in verschiedenen Gesteinen und Flusswasserproben (nach [45]).....	12
Abbildung 6: ^{15}N -Anreicherung entlang der Nahrungskette (nach [73]).	16
Abbildung 7: Allgemeiner Aufbau der EA-IRMS	24
Abbildung 8: Schematischer Aufbau des Elementanalysators Vario ELIII der Firma Elementar (nach [143]).....	26
Abbildung 9: Darstellung der Filamente für die MC-TIMS (nach [142]).....	27
Abbildung 10: Darstellung der ICP-Plasmafackel und des Interfacesystems für die MC-ICPMS (nach [146]).....	30
Abbildung 11: Darstellung des Triplekolektors für die Bestimmung von Stickstoff, Kohlenstoff und Schwefel [142] bei entsprechenden m/z.....	32
Abbildung 12: Darstellung eines Faraday-Detektors.	33
Abbildung 13: Darstellung eines CEM.	34
Abbildung 14: Schematischer Aufbau eines Daly-Detektors (nach [146]).....	35
Abbildung 15: Probenherkunft.....	46
Abbildung 16: Analyt-Matrix-Trennung für Magnesium am Beispiel einer Milchprobe.....	63
Abbildung 17: Kontrollkarten für die Überprüfung der Stabilität und Richtigkeit der IRMS-Messungen anhand von Gerätekontrollproben für die Bestimmung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte.....	74
Abbildung 18: Kontrollkarten für die Überprüfung der Stabilität und Richtigkeit der IRMS-Messungen anhand von Gerätekontrollproben für die Bestimmung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte.....	74
Abbildung 19: Variation der $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwert der Futtermittel aus Berlin von 2005 und 2006.....	82
Abbildung 20: Variation der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Hauptfutterkomponenten aus Berlin 2006.....	83
Abbildung 21: Variation der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Hauptfutterkomponenten aus Berlin 2006.....	85
Abbildung 22: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Milch und Urin während der Futterumstellung (grau schraffierte Flächen) und bei unterschiedlichen Rinderfütterungsphasen, (1) 45/55 % C_4/C_3 -Fütterung, (2) 100 % C_3 -Fütterung, (3) 63/37 % C_4/C_3 -Fütterung. Die Pfeile entsprechen dem berechneten $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Futters in Phase 1 (a) und Phase 2 (b).....	93
Abbildung 23: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte einzelner Haarabschnitte	95
Abbildung 24: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Milchproben eines einzelnen Rindes und der Sammelmilch von 8 Rindern bei unterschiedlichen Rinderfütterungsphasen, (1) 45/55 % C_4/C_3 -Fütterung, (2) 100 % C_3 -Fütterung, (3) 48/52 % C_4/C_3 -Fütterung.	98
Abbildung 25: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in Milch und Urin während der Futterumstellung (grau schraffierte Flächen) und bei unterschiedlichen Rinderfütterungsphasen, (1) 45/55 % C_4/C_3 -Fütterung,	99

Abbildung 26: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für Milch und Urin aus Berlin (DE) und Göstling (AT) von 2006 bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter (Maissilage/ Heu), DE2: C_3 -Futter (Gras), AT1: C_3 -Futter (Grassilage), AT2: C_3 -Futter (Gras).....	105
Abbildung 27: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Milch und Milchbestandteilen [180] bei unterschiedlichen Fütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter, DE2: C_3 -Futter, AT1: C_3 -Futter, AT2: C_3 -Futter.....	109
Abbildung 28: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte für Milch und Urin aus Berlin (DE) und Göstling (AT) von 2006 bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter (Maissilage/ Heu), DE2: C_3 -Futter (Gras), AT1: C_3 -Futter (Grassilage), AT2: C_3 -Futter (Gras).....	110
Abbildung 29: $\delta^{26}\text{Mg}$ -Wert für Milch und Urin aus Berlin (DE) und Göstling (AT) von 2006 bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter (Maissilage/Heu), DE2: C_3 -Futter (Gras), AT1: C_3 -Futter (Grassilage), AT2: C_3 -Futter (Gras).....	114
Abbildung 30: Variation der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin und Göstling.....	115
Abbildung 31: $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte für Milch und Urin aus Berlin (DE) und Göstling (AT) von 2006 bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter (Maissilage/Heu), DE2: C_3 -Futter (Gras), AT1: C_3 -Futter (Grassilage), AT2: C_3 -Futter (Gras).....	119
Abbildung 32: Variation der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin und Göstling.	121
Abbildung 33: Vergleich der Isotopenzusammensetzungen von Kohlenstoff, Stickstoff, Magnesium und Strontium von Milch- und Urinproben aus Berlin (DE) und Göstling (AT) bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter (Maissilage/Heu), DE2: C_3 -Futter (Gras), AT1: C_3 -Futter (Grassilage), AT2: C_3 -Futter (Gras)	126

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Stabile Isotope und deren relative natürliche Häufigkeit [3].....	3
Tabelle 2:	Wiederholpräzisionen für verwendete Massenspektrometer [136, 137].....	21
Tabelle 3:	Massenspektrometereinheiten für die Isotopenverhältnisanalyse.....	21
Tabelle 4:	Übersicht über die Messgase und Massenbereiche für die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von C, N, H und S.....	31
Tabelle 5:	Isobare Interferenzen für CO ₂	36
Tabelle 6:	Häufige Interferenzen bei der Bestimmung der Mg-Isotopenverhältnisse (²⁴ Mg, ²⁵ Mg, ²⁶ Mg) mittels MC-ICPMS.....	37
Tabelle 7:	Isotopenverhältnisse der primären Referenzmaterialien [166].....	42
Tabelle 8:	Sekundärstandardmaterialien.....	43
Tabelle 9:	Futterübersicht der Berliner Rinder für 2005.....	47
Tabelle 10:	Probenübersicht von 2005 für Milch- und Urinproben der Kuh 292 aus Berlin.....	48
Tabelle 11:	Futterübersicht der Berliner Rinder für 2006.....	49
Tabelle 12:	Probenübersicht von 2006 für Milch- und Urinproben der Kuh 292 aus Berlin.....	50
Tabelle 13:	Probenübersicht von 2006 für Milch- und Urinproben Göstling (Österreich).....	51
Tabelle 14:	Druckprogramm für die Lyophilisierung von Milch und Urin.....	55
Tabelle 15:	Zusammensetzung der Aufschlusslösung für den Mikrowellenaufschluss.....	57
Tabelle 16:	Mikrowellenprogramm für Milch und Urin.....	57
Tabelle 17:	Mikrowellenprogramm für Futtermittel.....	58
Tabelle 18:	Temperaturprogramm für den HPA-Aufschluss der Urinproben.....	59
Tabelle 19:	Temperaturprogramm für die Veraschung.....	60
Tabelle 20:	Trennschema für die ionenchromatographische Analyt-Matrix-Trennung von Magnesium und Strontium.....	61
Tabelle 21:	Untersuchung der Fraktionierung bei der Mg-Abtrennung.....	64
Tabelle 22:	Gehalte verschiedener Elemente und Wiederfindungsraten von Mg bei der Analyt- Matrix-Trennung.....	65
Tabelle 23:	Verwendete Standardmaterialien und Gerätekontrollproben.....	68
Tabelle 24:	Verwendete Referenzgase.....	68
Tabelle 25:	Gerätekontrollproben und typische Standardabweichungen s.....	73
Tabelle 26:	²⁶ Mg/ ²⁴ Mg-Isotopenverhältnisse der Mg-Standardlösung und des Mg-Referenz- materials an verschiedenen Messtagen.....	76
Tabelle 27:	Doppelbestimmung von R(²⁶ Mg/ ²⁴ Mg) in Urin und Futtermittelproben an zwei verschiedenen Messtagen.....	76
Tabelle 28:	Vergleich der δ ²⁶ Mg-Werte der verwendeten Standardmaterialien ohne bzw. mit Analyt-Matrix-Trennung.....	77
Tabelle 29:	Typische Standardabweichung für R(⁸⁷ Sr/ ⁸⁶ Sr) vom NBS 987.....	78
Tabelle 30:	Vergleich der R(⁸⁷ Sr/ ⁸⁶ Sr)-Werte vom Referenzmaterial NBS 987 ohne bzw. mit Analyt-Matrix-Trennung.....	78

Tabelle 31: Vergleich der Isotopenverhältnisse $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ von Urinproben, die an unterschiedlichen Tagen eine Analyt-Matrix-Trennung durchlaufen haben	79
Tabelle 32: Durchschnittlich erreichte Vergleichspräzision ($\pm s$ in ‰) der Realproben	80
Tabelle 33: $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte der Futtermittel aus Berlin für die Probenzeiträume 2005 und 2006	81
Tabelle 34: $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte der Futtermittel aus Berlin für die Probenzeiträume 2005 und 2006	84
Tabelle 35: $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte der Futtermittel aus Göstling (AT) 2006	86
Tabelle 36: Berechnung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes der Gesamtnahrung F1	89
Tabelle 37: Berechnete und gemessene $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Gesamtnahrung für verschiedene Fütterungen im Jahr 2005	89
Tabelle 38: Durchschnittlicher Prozentualer Anteil der Futterkomponenten am Gesamtfutter für die Fütterungsstudie der Berliner Rinder im Jahr 2005	92
Tabelle 39: $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte vom Futter, Milch und Urin während der Fütterungsstudie 2005	96
Tabelle 40: $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte vom Futter, Milch und Urin während der Fütterungsstudie 2005	100
Tabelle 41: Gruppeneinteilung der untersuchten Rinderproben 2006	103
Tabelle 42: Futterübersicht der Berliner Rinder für 2006	104
Tabelle 43: $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte von Milch und Urin von 2005 und 2006	106
Tabelle 44: $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte vom Milch und Urin 2005 und 2006	111
Tabelle 45: $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte vom Milch und Urin während der C_4/C_3 -Mischfütterung 2006	111
Tabelle 46: Mittelwerte der Mg-Isotopenverhältnisse von Milch und Urin 2006	114
Tabelle 47: Mg-Isotopenverhältnisse für Futtermittel aus Berlin (DE) und Göstling (AT)	116
Tabelle 48: Mg-Gehalte und $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte der Futtermittelnahrung F1 der Berliner Rinder	118
Tabelle 49: Mg-Gehalte und $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte in Milchproben unterschiedlicher Herkunft und Fütterung	119
Tabelle 50: Mittelwerte der Sr-Isotopenverhältnisse vom Milch und Urin 2006	120
Tabelle 51: Sr-Isotopenverhältnisse für Futtermittel aus Berlin (DE) und Göstling (AT)	122
Tabelle 52: Sr-Gehalt und prozentualer Anteil der Futterkomponenten am Gesamtfutter	124
Tabelle 53: $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte und Rb/Sr-Verhältnisse verschiedener Milchproben aus Berlin (DE) und Göstling (AT)	125

1 Einleitung und Zielstellung

Heutzutage können Verbraucher Lebensmittel aus allen Teilen der Welt kaufen. Oftmals werden dabei Produkte aus bestimmten Regionen oder Produkte, welche unter bestimmten Produktionssystemen hergestellt wurden (z.B. fair-trade oder ökologisch hergestellte Produkte) bevorzugt, weil davon eine höhere Produktqualität erwartet wird. Qualitativ hochwertige Produkte sind in der Regel teurer als Produkte mit geringerer Qualität, was die Gefahr mit sich bringt, dass Produkte minderer Qualität aus Profitgründen als qualitativ hochwertige Ware ausgegeben werden. Abgesehen von der Täuschung der Verbraucher durch Lebensmittelverfälschungen können daraus auch gesundheitliche Risiken entstehen. Auf dem Gebiet der Fleischprodukte hat Rindfleisch neben Schweinefleisch nicht nur in Deutschland einen sehr hohen Stellenwert. Nach dem ersten Auftreten von BSE (bovine spongiform encephalopathy) und der menschlichen Variante, der Kreuzfeld-Jakob-Krankheit, sowie nach der Maul- und Klauenseuche ging der Verbrauch an Rindfleisch enorm zurück. Der Vertrauensverlust aufgrund dieser Ereignisse führte zu wirtschaftlichen Einbußen für die Produzenten von Rindfleischprodukten.

Um die Authentizität von Lebensmitteln zu überprüfen, wurden in den letzten Jahren die Isotopenverhältnisse der leichten Elemente (Kohlenstoff, Stickstoff, Schwefel, Sauerstoff, Wasserstoff) bestimmt. Die Isotopenanalytik stabiler, d.h. nicht radioaktiver Isotope eignet sich dafür besonders, weil Isotopensignaturen, die in der Natur lokal verschieden sein können, im Boden und in den Pflanzen gespeichert werden und über die Nahrungskette zu spezifischen Isotopensignaturen in Tieren, tierischen Produkten (z.B. Rindfleisch, Milch oder Milchprodukten) und im Menschen führen. Die Tierfütterung spielt eine sehr große Rolle bei Authentizitätsprüfungen, da die lokal spezifische Isotopensignatur über das aufgenommene Futter und Wasser in den Organismus der Tiere übertragen wird. Die Isotopenzusammensetzung des Futters und dementsprechend auch in den Rinderproben wird dabei von sehr vielen verschiedenen Faktoren beeinflusst: Neben klimatischen und umweltrelevanten Faktoren spielen auch landwirtschaftliche Praktiken und Tierhaltungsbedingungen eine Rolle, die lokal und global sehr verschieden sein können.

Ein Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss der Ernährung von Rindern auf die Isotopenzusammensetzung verschiedener Rinderproben, wie Milch und Urin zu untersuchen. In einer Fütterungsstudie mit Rindern des Zentrums für experimentelle Tierhaltung am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) wurden dazu

über einen Zeitraum von zwei Jahren regelmäßig Rinderproben sowie die einzelnen Futtermittel auf deren Isotopenzusammensetzung analysiert. Ein kontrollierter Futterwechsel sollte klären, wie schnell sich Änderungen der Futterzusammensetzung in der Isotopenzusammensetzung von Kohlenstoff und Stickstoff im Rinderorganismus nachvollziehen lassen.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit war der Vergleich der Isotopenzusammensetzung von Rinderproben von zwei geographisch unterschiedlichen Standorten. Dazu wurden die Isotopenvariationen der Rinderproben des BfR in Berlin (Deutschland) mit der Isotopenvariation von Rinderproben aus Göstling an der Ybbs (Niederösterreich) bei unterschiedlichen Fütterungen verglichen. In dieser Vergleichsstudie sollte aufgezeigt werden, welchen Einfluss lokal variable Fütterungen auf die Isotopenzusammensetzung der Rinderproben ausüben. Die Rinder aus Berlin wurden unter kontrollierten Bedingungen mit bekannten Fütterungen gehalten, welche der konventionellen Tierhaltung entsprechen. Die Rinder aus Göstling an der Ybbs wurden hingegen unter ökologischen Bedingungen gehalten. Ein Vergleich zwischen den Isotopenvariationen im Futter mit den Isotopenvariationen in den Rinderproben Milch und Urin sollte nachweisen, dass die Isotopenvariationen der Futtermittel auch in den Produkten der Rinder vorhanden sind. Dieses sollte Aufschluss über mögliche Verfahren zur Herkunftsbestimmung tierischer Proben (Milch, Milchprodukte, Rindfleisch) liefern.

Um aussagekräftige Parameter für die Bestimmung der geographischen Herkunft tierischer Proben zu erhalten, wurden in der Vergleichsstudie neben den Isotopenverhältnissen von Kohlenstoff und Stickstoff auch die Isotopenverhältnisse von Magnesium und Strontium in den Rinderproben und Futtermitteln bestimmt. Die Analyse der Strontiumisotopenverhältnisse ist ein neues Gebiet und wurde bisher nur in sehr wenigen Studien zur Bestimmung der Authentizität verschiedener Lebensmittel eingesetzt. So wurde erst in jüngerer Zeit von der Anwendung von Strontiumisotopenverhältnismessungen für die Herkunftsbestimmung von Milch [1] und Rindfleisch [2] berichtet. Isotopenverhältnisse von Magnesium wurden bisher nicht für Authentizitätsprüfungen herangezogen. In dieser Arbeit wurde die Eignung der Magnesiumisotopenverhältnisse für diesen Zweck erstmalig untersucht.

2 Theorie stabiler Isotope und Stand der Forschung

2.1 Informationen aus Isotopenverhältnissen

Der Begriff Isotop leitet sich aus den griechischen Wörtern Iso = gleich und Topos = Ort ab und verdeutlicht, dass sich die Isotope eines Elementes an der gleichen Stelle im Periodensystem befinden. Verschiedene Isotope eines Elementes haben die gleiche Protonen- und Elektronenzahl, unterscheiden sich aber in der Anzahl ihrer Neutronen. Die Isotope eines Elementes haben unterschiedliche natürliche Häufigkeiten. In *Tabelle 1* ist eine Übersicht über wichtige stabile (nicht radioaktive) Isotope und deren relative natürliche Häufigkeit gegeben.

Tabelle 1: Stabile Isotope und deren relative natürliche Häufigkeit [3]

Element	Masse n- zahl	Relative natürliche Isotopenhäufigkeit (Atom-%)	Natürliche Variationsbreite (Atom-%)
H	1	99,984	99,9816–99,9974
	2	0,016	0,0026–0,0184
C	12	98,892	98,853–99,037
	13	1,108	0,963–1,147
N	14	99,634	99,579–99,654
	15	0,366	0,346–0,421
O	16	99,762	99,738–99,776
	17	0,038	0,038–0,040
	18	0,200	0,188–0,222
S	32	95,041	94,454–95,281
	33	0,749	0,730–0,793
	34	4,196	3,976–4,734
	36	0,015	0,013–0,019
Sr	84	0,557	0,55–0,58
	86	9,857	9,75–9,99
	87	7,002	6,94–7,14
	88	82,585	82,29–82,75

In der Natur kommt es aufgrund physikalischer, chemischer oder biologischer Prozesse zu Isotopenfraktionierungen, welche zu natürlichen Isotopenvariationen führen. Die

Fraktionierungsprozesse, welche zu diesen kleinen Schwankungen der Isotopenhäufigkeiten führen werden in Gleichgewichts- und Nichtgleichgewichtseffekte eingeteilt.

Beim *Gleichgewichts-Isotopeneffekt* werden zwischen Verbindungen, die miteinander im chemischen Gleichgewicht stehen, Isotope ausgetauscht. Dabei wird das schwerere Isotop in derjenigen Verbindung angereichert, in der das entsprechende Element am stärksten gebunden ist. *Nichtgleichgewichtseffekte* können kinetischer und thermodynamischer Natur sein. Beim kinetischen Isotopeneffekt weisen Moleküle mit unterschiedlichen Isotopenzusammensetzungen unterschiedliche Reaktionsraten auf. Ist an dem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt einer Reaktion ein Bindungsbruch in Molekülen beteiligt, so reichern sich im Produkt vorwiegend die leichteren Isotope an, da das Brechen von Bindungen in Molekülen mit leichteren Isotopen einfacher geht als in Molekülen mit schwereren Isotopen (normaler kinetischer Isotopeneffekt). Infolge dieses Fraktionierungsprozesses wird das schwerere Isotop diskriminiert. Thermodynamische Isotopeneffekte stellen ein Wechselspiel zwischen zwei kinetischen Isotopeneffekten dar. Ein Beispiel ist die unterschiedliche Verteilung von Isotopen zwischen zwei verschiedenen Phasen, z.B. CO₂ in Luft und in einer Lösung, bei der sich ein Isotop in einer der beiden Phasen anreichert. Ein ausführlicher Überblick über die physikalischen Grundlagen der Isotopeneffekte wird von Hoefs [4] und Criss [5] gegeben.

Die Variation der Isotopenverhältnisse in der Natur liegt nur im Promillebereich. Um diese geringen Unterschiede zu verdeutlichen und eine Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Laboratorien zu erreichen, wird die so genannte δ -Skala mit einem einheitlichen Bezugspunkt, welcher in der Regel ein international anerkanntes Primärreferenzmaterial ist, verwendet. Der δ -Wert berechnet sich aus dem Isotopenverhältnis der Probe (R_{Probe}) und des Standards ($R_{\text{Int.Std.}}$) nach Gleichung 1 und wird in ‰ angegeben.

$$(1) \quad \delta_{\text{int.Std.}}^{\text{Probe}} = \left(\frac{R_{\text{Probe}}}{R_{\text{Int.Std.}}} - 1 \right) \times 1000$$

Die natürlich vorkommenden Isotopenvariationen der verschiedenen Elemente können häufig ausgenutzt werden, um Informationen über die Herkunft einer biologischen Probe zu erhalten. In den folgenden Kapiteln wird ein Überblick über die wichtigsten Fraktionierungsprozesse gegeben, welche für die in dieser Arbeit untersuchten Elemente relevant sind. Weiterhin werden die Informationen, die daraus erhalten werden können, diskutiert.

2.1.1 Kohlenstoffisotope

Kohlenstoff in der Biosphäre stammt in wesentlichen aus zwei CO_2 -Reservoiren, der Atmosphäre und der Hydrosphäre. Abbildung 1 gibt eine Übersicht über den Kohlenstoffkreislauf. Aufgrund von thermodynamischen Isotopeneffekten, die beim Austausch von CO_2 zwischen diesen beiden Reservoiren auftreten, ist der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des CO_2 der Atmosphäre ca. 7 ‰ kleiner als der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von gelösten HCO_3^- in den Ozeanen (Hydrosphäre, 0 ‰). In Industrieregionen kann atmosphärisches CO_2 auch deutlich negativere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aufweisen, die durch Verbrennung fossiler Brennstoffe, z.B. Kohle oder Petroleum, mit $\delta^{13}\text{C}$ -Werten von bis zu -30 ‰ verursacht werden. Durch die Verbrennung fossiler Brennstoffe kommt es zu einer weiteren relativen Abreicherung an ^{13}C in der Atmosphäre [6, 7].

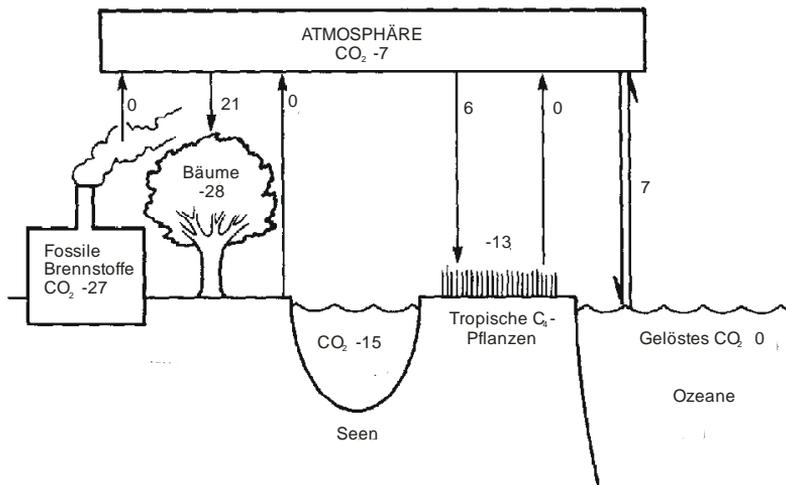


Abbildung 1: Kohlendioxid-Kreislauf (nach [6]). Zahlenangaben sind $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in ‰.

Das organisch gebundene CO_2 in der Biosphäre ist im Vergleich zum atmosphärischen CO_2 an ^{13}C angereichert, wobei das Ausmaß der Isotopenfraktionierung unterschiedlich stark ist. Die primäre CO_2 -Aufnahme von Pflanzen ist mit einer Isotopenfraktionierung verbunden. Pflanzen werden in die drei Klassen C_3 -, C_4 - und CAM-Pflanzen unterteilt, in denen eine unterschiedlich starke Kohlenstoff-Isotopenfraktionierung stattfindet. Die primäre CO_2 -Aufnahme dieser Pflanzenklasse erfolgt in unterschiedlichen Photosynthesewegen.

Die so genannten C_3 -Pflanzen binden atmosphärisches CO_2 in den Chloroplasten durch die Ribulose-bisphosphat-(RuBP)-Carboxylasereaktion im Calvin-Zyklus. Als Produkt entsteht eine Kohlenstoffverbindung mit 3 C-Atomen, die Phosphoglycerinsäure [7]. Typische C_3 -Pflanzen sind Weizen, Reis, Roggen, Gras, Sojabohnen, Zuckerrüben und Kartoffeln. C_3 -Pflanzen zeigen $\delta^{13}C$ -Werte zwischen -24 und -32 ‰ mit einem Mittelwert von -27 ‰. Die CO_2 -Aufnahme der C_3 -Pflanzen ist demzufolge mit einer Abreicherung von ^{13}C von ca. 21 ‰ gegenüber atmosphärischem CO_2 verbunden.

Die meist tropischen C_4 -Pflanzen (Mais, Hirse, Zuckerrohr) nehmen das CO_2 aus der Atmosphäre vorwiegend nachts auf und binden es im Hatch-Slack-Zyklus über die Phosphoenolpyruvat-(PEP)-Carboxylasereaktion. Als primäres Produkt wird Oxaloesigsäure, eine Kohlenstoffverbindung mit 4 C-Atomen gebildet, welche in den Mesophyllzellen fixiert und als Malat zwischengespeichert wird [7, 8]. Das Malat wird in die Bündelscheidenzellen transportiert, die kranzförmig von den Mesophyllzellen umgeben sind. Dort wird das Malat decarboxiliert und das freigesetzte CO_2 dem Calvin-Zyklus zugeführt. Im Calvin-Zyklus erfolgt ein vollständiger Umsatz des CO_2 , so dass die Fraktionierung durch die RuBP in diesem Schritt gegen Null geht. Die primäre CO_2 -Aufnahme durch die PEP-Carboxylase bei C_4 -Pflanzen ist im Vergleich zu der CO_2 -Aufnahme durch die RuBP-Carboxylase bei C_3 -Pflanzen mit einer geringeren Isotopenfraktionierung gegenüber dem schwereren Isotop ^{13}C verbunden. Die $\delta^{13}C$ -Werte der C_4 -Pflanzen sind positiver als die $\delta^{13}C$ -Werte der C_3 -Pflanzen und liegen zwischen -10 und -16 ‰. Wird der Mittelwert von -13 ‰ betrachtet, liegt bei den C_4 -Pflanzen eine ^{13}C -Abreicherung von ca. 6 ‰ im Vergleich zur Atmosphäre vor.

CAM-(*Cassulacean Acid Metabolism*)-Pflanzen, wie beispielsweise Ananas oder Vanille, können atmosphärisches CO_2 auf beiden Photosynthesewegen, d.h. sowohl wie C_3 -Pflanzen als auch wie C_4 -Pflanzen binden. Aus diesem Grund liegen die für die verschiedenen CAM-Pflanzen charakteristischen $\delta^{13}C$ -Werte zwischen denen der C_3 - und C_4 -Pflanzen bei -10 bis -30 ‰.

Ein weiterer Aspekt, der eine Rolle für die Kohlenstoffisotopenverhältnisse spielt, ist die auftretende Isotopenfraktionierung bei der Bildung von Sekundärmetaboliten. Innerhalb einer Pflanze können Unterschiede zwischen Fetten, Proteinen und Kohlenhydraten von bis zu 7 ‰ auftreten [9]. So zeigen Lipide häufig negativere $\delta^{13}C$ -Werte als Proteine oder Kohlenhydrate [8, 10]. Als Ursache wird eine kinetische Isotopenfraktionierung von ^{13}C bei der Pyruvat-Dehydrogenasereaktion als einleitenden Schritt für die Biosynthese von Lipiden und einigen Aminosäuren ausgehend von Kohlenhydraten angegeben [9, 11, 12].

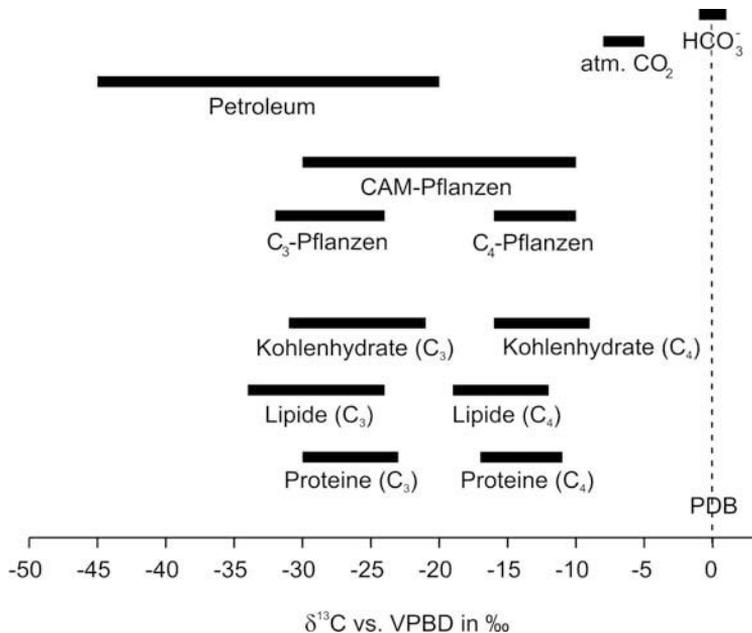


Abbildung 2: Variationsbreite der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte verschiedener Kohlenstoffquellen (Daten aus [6, 9]).

Obwohl die Analyse der Kohlenstoffisotope in der Regel nur Hinweise auf verschiedene Pflanzengruppen bzw. deren unterschiedliche Photosynthesewege geben, treten auch innerhalb einer Gruppe signifikante Unterschiede der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte auf. Ein Überblick über die Variationsbreite der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte terrestrischer Proben wird in *Abbildung 2* gegeben. Oftmals sind standortspezifische Bedingungen, die die Photosynthese beeinflussen, z.B. Temperatur, Lichtverhältnisse, Salzgehalt und Feuchtigkeit, die Ursachen dafür. So erhöhen sich die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von C₃-Pflanzen, wenn sie höheren Temperaturen bzw. größerer Trockenheit ausgesetzt sind oder auf Böden mit hohem Salzgehalt wachsen. Erhöhter Niederschlag führt hingegen zu einer Absenkung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte. Der Breitengrad und die Höhe des Meeresspiegels haben ebenfalls einen Einfluss auf den ^{13}C -Gehalt von C₃-Pflanzen [13, 14]. Mit zunehmender Höhe und zunehmender Entfernung vom Äquator nehmen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von C₃-Pflanzen zu. In den Übersichtartikeln von O' Learly [7], Tieszen [8], Winkler et al. [9] und Farquhar [15] wird ein guter Überblick über die Ursachen der Variationsbreite der Pflanzengruppen aufgrund exogener Faktoren gegeben.

2.1.2 Stickstoffisotope

Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in der Biosphäre variieren zwischen -10 und +10 ‰. Pflanzen spiegeln in der Regel die Isotopenverhältnisse des Bodens wider, auf dem sie gewachsen sind. Die Aufnahme des Stickstoffs aus dem Boden erfolgt meist ohne Isotopenfraktionierung, hauptsächlich als Nitrat (NO_3^-). Die Stickstoffisotopenverhältnisse im Boden werden vorwiegend durch verwendete Düngemittel, Niederschlag, Industrieemissionen und durch Mikroorganismen verursachte Fraktionierungsprozesse (Nitrifikation, Denitrifikation und Ammonifikation) bestimmt [16–23]. *Abbildung 3* zeigt den Stickstoffkreislauf des Bodens.

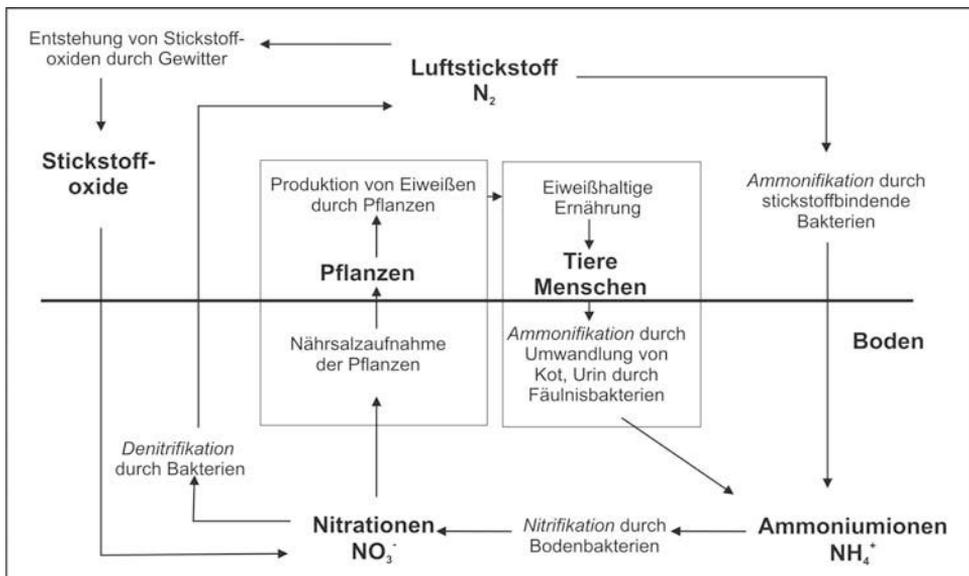


Abbildung 3: Darstellung des Stickstoffkreislaufs (nach [24]).

Stickstoffbindende Bakterien und Fäulnisbakterien wandeln atmosphärischen und organisch gebundenen Stickstoff während der Ammonifikation in NH_4^+ -Ionen um. Im Zuge der Nitrifikation durch Bodenorganismen werden zunächst Nitriten gebildet, welche weiter zu Nitrationen oxidiert werden, auf die die Pflanze zugreifen kann. Während der Denitrifikation wird aus den Nitrationen durch zum Teil anaerobe Bodenbakterien molekularer Stickstoff gebildet, welcher wieder in die Atmosphäre freigesetzt werden kann. Die im Boden durch Mikroorganismen verursachten Fraktionierungen sind oftmals abhängig von klimatischen Bedingungen und können sehr große Isotopeneffekte (bis zu -30 ‰) bewirken [25]. Oftmals sind die Isotopeneffekte, die zu Isotopenanreicherungen und -abreicherungen führen, gegenläufig. So führt die Denitrifikation zu

einer Anreicherung des schweren Isotops im verbleibenden Bodennitrat, während bei der Nitrifikation ein an ^{15}N abgereichertes Nitrat entsteht und ein an ^{15}N angereichertes Ammonium im Boden zurückbleibt, da hier die Oxidation leichter Stickstoffverbindungen bevorzugt abläuft [26, 27]. Der zusätzliche Eintrag weiterer Stickstoffquellen, wie Düngemittel, oder veränderte klimatische Bedingungen, welche die Feuchtigkeit und den Salzgehalt des Bodens beeinflussen, können den Stickstoffkreislauf und dementsprechend die komplexen Mechanismen der Isotopenfraktionierung beeinträchtigen [16, 25–30].

Bei der Synthese von künstlichen Düngemitteln basierend auf Ammonium, Nitrat oder Harnstoff wird atmosphärischer Stickstoff verwendet. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der künstlichen Mineraldünger liegen größtenteils zwischen -5 und +5 ‰. Ammoniumdünger weisen in der Regel niedrigere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auf (-1 ‰ bis +1 ‰) als Düngemittel, die Nitrat (0,5 ‰ bis 4 ‰) enthalten. Die Verwendung von künstlichen Düngemitteln führt oftmals zu einer Abreicherung von ^{15}N in der Pflanze [19, 21, 22, 31]. Düngemittel, die aus tierischen Exkrementen gewonnen wurden (Stallmist) oder auf organischen Bestandteilen basieren (Kompost, Gülle) zeigen im Vergleich zu den Kunstdüngern deutlich positivere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (10 ‰ bis 20 ‰). *Abbildung 4* stellt die Variationsbreite der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte verschiedener Stickstoffquellen dar. Da bei den Pflanzen keine Isotopenfraktionierung bei der N_2 -Aufnahme auftritt und die Stickstoffisotopenverhältnisse daher abhängig vom pflanzenverfügbaren Stickstoff aus dem Boden sind, führt die zunehmende Düngung mit organischen Düngemitteln zu positiveren $\delta^{15}\text{N}$ -Werten in der Pflanze.

Wie diese Betrachtungen nahe legen, lassen sich durch die Analyse der Stickstoffisotopenverhältnisse von Pflanzen unterschiedliche landwirtschaftliche Praktiken erkennen. Bauern, welche sich auf ökologische Landwirtschaft spezialisiert haben, dürfen in der Regel nur organische Düngemittel verwenden. Wie bereits erwähnt, lassen sich Pflanzen, welche auf organisch gedüngten Böden wachsen, anhand ihrer Stickstoffisotopenverhältnisse von Pflanzen unterscheiden, welche auf Böden mit künstlichen Düngemitteln wachsen.

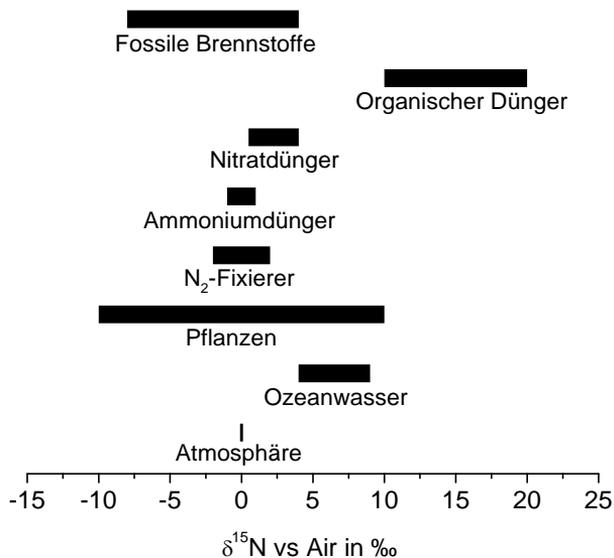


Abbildung 4: Variationsbreite der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte terrestrischer Proben (Daten aus [6, 31, 32]).

Dabei muss allerdings beachtet werden, dass in der ökologischen Landwirtschaft oftmals Leguminosen (Hülsenfrüchte) zur Anreicherung des Bodens mit Stickstoff und einer dementsprechenden Verbesserung der Bodenfruchtbarkeit eingesetzt werden. Zu den Leguminosen zählen z.B. Klee, Erbsen, Bohnen und Sojabohnen. Das Besondere an den Leguminosen ist, dass sie oftmals in Symbiose mit Knöllchenbakterien (Rhizobien) leben. Rhizobien können elementaren Stickstoff aus der Luft binden, aber nur durch die Symbiose mit Leguminosen in pflanzenverfügbare Stickstoffverbindungen umwandeln. Letztere weisen $\delta^{15}\text{N}$ -Werte zwischen -2‰ und $+2\text{‰}$ auf. Diese Pflanzengruppen sind dementsprechend nicht von denen zu unterscheiden, welche unter Einsatz von künstlichen Düngemitteln angebaut wurden. Wie Untersuchungen von Yoneyama [23] gezeigt haben, beeinflusst die Leguminosenkultivierung lang anhaltend die Bodenverhältnisse. Daher spielt nicht nur die Dauer und Intensität der Düngung, sondern auch die Art der Bodenbehandlung nachhaltig eine große Rolle. Hinzu kommt, dass in der konventionellen Landwirtschaft oft wechselnde Bodenkultivierungen vorgenommen werden. Oftmals wird außerdem eine Mischung aus künstlichen und organischen Düngemitteln verwendet, so dass es hier zu einer großen Variationsbreite der Stickstoffisotopenverhältnisse in den Pflanzen kommt.

2.1.3 Magnesiumisotope

Magnesium kommt als eines der Hauptelemente in den großen Erdreservoirs Lithosphäre, Hydrosphäre und Biosphäre vor. Es hat drei stabile Isotope: ^{24}Mg (78,99 %), ^{25}Mg (10 %) und ^{26}Mg (11,01 %). Als essentielles Element wird Magnesium hauptsächlich durch die Nahrung aufgenommen. Es ist das intrazellulär am häufigsten vorkommende Kation, welches an einer Vielzahl fundamentaler biochemischer Reaktionen, wie zum Beispiel der Proteinsynthese, im Organismus beteiligt ist. Eine Magnesiumunterversorgung führt zu verschiedenen Krankheiten wie Diabetes, Bluthochdruck und Herz-Kreislauf-erkrankungen [33]. Um die genauen Ursachen dieser Krankheiten aufzuklären, wurden einige Tracerstudien mit hochangereichertem ^{26}Mg durchgeführt. Dabei ging es vor allem darum, das Absorptionsverhalten des Tracerstoffes im Körper durch Untersuchung des ^{26}Mg -Gehaltes in verschiedenen Kompartimenten (Blut, Urin, Faeces) zu ermitteln [34–37]. Aufgrund der hohen relativen natürlichen Isotopenhäufigkeiten von ^{25}Mg und ^{26}Mg sind ernährungsspezifische Tracerstudien oftmals sehr schwierig und vor allem sehr teuer, da dem Organismus eine relativ hohe Menge an hochangereichertem Isotop zugesetzt werden muss, um überhaupt detektierbare isotopenangereicherte Signale in den einzelnen Kompartimenten zu erhalten [38].

Ein limitierender Faktor für die Bestimmung der Magnesiumisotopenvariation in früheren Untersuchungen war, dass die Magnesiumisotopenverhältnisse oftmals nur mit einer verhältnismäßig hohen Unsicherheit von 1–2 ‰ bestimmt werden konnten. Catanzaro et al. [39] untersuchten in den 1960er Jahren verschiedene Gesteinsarten (Silikate, Carbonate, Hydroxide) sowie biologische Proben und Seewasser mittels Multikollektor-Thermionenmassenspektrometrie (MC-TIMS). Aufgrund der sehr hohen Unsicherheiten von 2 ‰ konnten aber keine Probenunterschiede anhand der Magnesiumisotopenverhältnismessung festgestellt werden. Beim Einsatz von Multikollektor-Massenspektrometern mit induktiv gekoppeltem Plasma (MC-ICPMS), die es erst seit Mitte der 1990er Jahre gibt, war lange die Bestimmung des Massenfractionierungsfaktors das Hauptproblem, das die erreichbare Messunsicherheit festlegte. Mittlerweile ist die instrumentelle Entwicklung der MC-ICPMS-Geräte so weit fortgeschritten, dass bei Isotopenverhältnismessungen Präzisionen von ca. 0,1 ‰ erreicht werden können [40–44]. Dennoch gibt es bisher nur sehr wenige Veröffentlichungen über Magnesiumisotopenvariationen von terrestrischen Proben. Dieses liegt unter anderem an der sehr aufwendigen Probenvorbereitung.

Der Schwerpunkt bisheriger bekannter Untersuchungen natürlicher Mg-Isotopenvariationen lag vorwiegend in der Bestimmung der Mg-Isotopenverhältnisse in verschiedenen Gesteins- und Wasserproben [42, 43, 45–52]. Galy et al. [47] konnten 2002 bei Untersuchungen von Stalaktiten und Wasserproben aus verschiedenen Tropfsteinhöhlen in Israel und Frankreich zeigen, dass die $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte der Wasserproben unabhängig vom Ort ca. 2 ‰ positiver sind als die der untersuchten Höhlenminerale. Unterschiede zwischen Boden-, Stein- und Wasserproben konnten auch in den Arbeiten von Tipper et al. [45, 46] und Brenot et al. [51] ermittelt werden. Silikatische Bodenproben zeigen hier höhere $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte, während Proben des Flusswassers, welches in die Silikatgesteine versickert systematisch kleinere $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte als die Silikatgesteine aufweisen. Als Ursache für diese Mg-Isotopenvariation werden Isotopenfraktionierungen durch Verwitterungsprozesse angeführt.

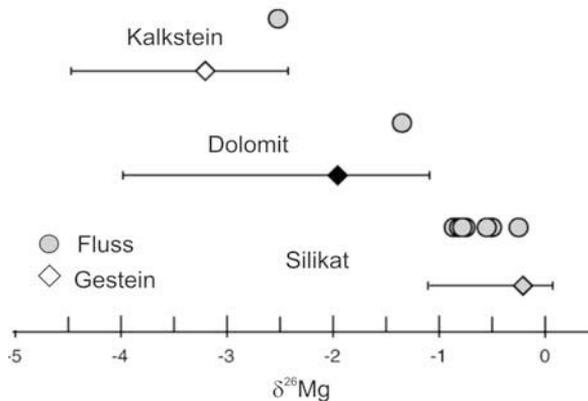


Abbildung 5: Variationsbreite der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte in verschiedenen Gesteinen und Flusswasserproben (nach [45]).

Beim Vergleich von Flusswasserproben der größten Flüsse der Erde [45] konnten Unterschiede in den $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werten von bis zu 2,5 ‰ festgestellt werden, wobei die Unterschiede von Flusswasserproben innerhalb einer Region oftmals kleiner als 0,5 ‰ sind. Wie aus *Abbildung 5* entnommen werden kann und wie auch aktuelle Untersuchungen von Boul-Bi et al. [42] und Wombacher et al. [43] bestätigen, zeigen verschiedene Gesteinsarten unterschiedliche Mg-Isotopenverhältnisse. So sind die $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte von Silikatgesteinen 1–2 ‰ positiver als die von carbonathaltigen Sedimentgesteinen (Dolomit, Kalkstein), wobei auch innerhalb dieser Klasse Unterschiede in den $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werten festzustellen sind [45, 47].

Ein Überblick über mögliche Fraktionierungsprozesse wird ebenfalls in der Arbeit von Galy et al. [40]. gegeben. Demnach wird die Variation der Magnesiumisotope in der Natur unter anderem von folgenden Prozessen wesentlich beeinflusst:

- Radioaktiver Zerfall von ^{26}Al zu ^{26}Mg
- Isotopenfraktionierung bei Tieftemperatur-Fluid/Stein-Wechselwirkungen
- Isotopenfraktionierung während Verdampfungs- und Kondensationsprozessen
- Kinetische und thermodynamische Isotopeneffekte während der Einlagerung und Freisetzung von Mg in biologischen Systemen

Außer den erwähnten Prozessen beeinflussen die lokalen mineralogischen Gegebenheiten, sowie Temperatur und Verwitterungsprozesse sehr stark das Verhältnis der Magnesiumisotope in terrestrischen Proben und führen zu unterschiedlich stark ausgeprägten Isotopenfraktionierungen. Die letzten drei Prozesse zeigen Fraktionierungen, die in der gleichen Größenordnung wie die instrumentell auftretende Massenfractionierung liegt. Sie können also nur detektiert werden, wenn diese mit hinreichend kleiner Messpräzision bestimmt werden kann.

Aufgrund der Geräteoptimierung stieg in den letzten fünf Jahren das Interesse an der Aufklärung von biologischen Prozessen anhand der Analyse der natürlichen stabilen Magnesiumisotopenverhältnisse. Neuere Veröffentlichungen von Black et al. [53] und Ra et al. [17] beschäftigten sich mit der Untersuchung von Chlorophyllmolekülen, welche eine große Rolle bei der Photosynthese spielen, da diese als Metallzentrum Magnesium enthalten. Andere Untersuchungen von Pflanzen sind bis auf die Analyse von Chlorophyll in Referenzmaterialien, Spinat, Algen und marinem Phytoplankton [40, 42] nicht bekannt. Bisher gibt es auch nur eine Arbeit, die sich mit der Analyse von Magnesiumisotopenverhältnissen in Milch, Urin und Faeces beschäftigt hat, wobei diese jedoch nur im Rahmen einer Tracerstudie durchgeführt wurde [44]. Natürliche Isotopenvariationen wurden bisher noch nicht untersucht.

2.1.4 Strontiumisotope

Strontium ist ein ubiquitäres Element und ist als eines der Spurenelemente, die am häufigsten in Oberflächenablagerungen und Gesteinen vorzufinden sind. Strontium hat vier natürlich vorkommende Isotope, wovon drei nicht radiogen sind (^{84}Sr , ^{86}Sr , ^{88}Sr). Das vierte Strontiumisotop ^{87}Sr ist radiogen und wird aus dem radioaktiven β -Zerfall von ^{87}Rb mit einer Halbwertszeit von $4,88 \times 10^{10}$ Jahren gebildet. Der Rb-Sr-Zerfall ist ein sehr gut untersuchtes System, welches in der Geologie und Geochemie eine breite Anwendung für die Altersdatierung und Aufklärung der Herkunft von Mineralien findet.

Das Sr-Isotopenverhältnis ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$), welches auch als $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Wert bezeichnet wird, ist in Gesteinen im Wesentlichen durch das ursprünglichen Sr-Isotopenverhältnis ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) und das $^{87}\text{Rb}/^{87}\text{Sr}$ -Isotopenverhältnis zum Zeitpunkt der Gesteinsentstehung geprägt. Je älter das Gestein ist und je höher das Rb/Sr-Verhältnis zum Zeitpunkt der Entstehung war, desto höher ist der $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Wert. Als initialer $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Wert für die Strontiumisotopenzusammensetzung von Gesteinen auf der Erde wird der in Achondriten bestimmte BABI-(basaltic achondrite best initial)-Wert von 0,69908 angesehen. Achondrite sind Meteoritgesteine, welche ähnliche Silikat- und Oxid-Mineralien wie die Vulkangesteine der Erde aufweisen. Außerdem zeichnen sie sich dadurch aus, dass sie nur sehr geringe Konzentrationen an langlebigen radioaktiven Isotopen, wie z.B. ^{87}Rb , enthalten [54]. Gesteine, die älter als 100 Millionen Jahre alt sind und hohe Rb/Sr-Verhältnisse aufweisen (z.B. Granit), haben in der Regel $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte größer als 0,710, während jüngere Gesteine (< 1–10 Millionen Jahre) mit relativ geringem Rb/Sr-Verhältnis (z.B. Basalt) oftmals $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte von 0,702–0,704 zeigen [55, 56].

Pflanzen nehmen zum großen Teil Strontium aus dem Boden auf. Das Strontiumisotopenverhältnis des Bodens setzt sich vorwiegend aus dem Strontiumisotopenverhältnis des Muttergesteins zusammen. Flüsse, Bodenwässer oder Grundwässer zeigen wiederum aufgrund von Auswaschungsprozessen eine Mischung aus den Verhältnissen verschiedener Gesteinsarten der Umgebung. Die Hydrologie, Sedimentbewegungen, aber auch die Verwendung von Düngemitteln, sowie atmosphärische Einflüsse, wie z.B. Staubpartikel und Industrieemissionen können ebenfalls das Sr-Isotopenverhältnis im Boden beeinflussen. In den Übersichtsartikeln von Bentley 2006, Capo 1989 und Stewart 1998 werden die hier genannten Einflüsse ausführlich beschrieben [55–57]. Das $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ -Verhältnis biologischer Proben reflektiert die Strontiumisotopenzusammensetzung der lokalen Umgebung, da keine Isotopenfraktionierung bei biologischen Prozessen bekannt sind [1, 58, 59].

2.2 Authentizitätsstudien und Einfluss der Ernährung auf die Isotopenzusammensetzung tierischer Produkte

Anfang der 1950er bis 60er Jahre erfolgten die ersten Bestimmungen der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff vorwiegend um Isotopenfraktionierungsprozesse in Pflanzen und Böden zu untersuchen. Ende der 1970er Jahre wurden erste Isotopenanalysen auch in tierischen Proben durchgeführt. Dabei galt es besonders herauszufinden, wie sich die unterschiedlichen Kohlenstoffisotopenzusammensetzungen von C₄- und C₃-Pflanzen und die unterschiedliche Stickstoffisotopenzusammensetzung aufgrund unterschiedlicher Ackerbaubedingungen im tierischen Organismus auswirken. In den ersten grundlegenden Arbeiten wurde der Einfluss der Ernährung auf die Isotopensignatur der leichten Elemente Kohlenstoff und Stickstoff in verschiedenen tierischen Kompartimenten untersucht. Neben der vorwiegenden Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenbestimmung in Mäusen [60–62] und anderen Klein- und Nutztieren (Fliege, Schwein) [63, 64] fanden auch einige Untersuchungen von Rinderproben (Milch, Urin, Faeces) statt. In diesen ersten Fütterungsstudien mit C₃- und C₄-Pflanzen wurde festgestellt, dass die Isotopenzusammensetzung in tierischen Proben eng verknüpft ist mit der Isotopenzusammensetzung des aufgenommenen Futters. Außerdem konnte ermittelt werden, dass es bei jedem Schritt in der Nahrungskette zu einer Isotopenfraktionierung kommt, die zu einer Anreicherung des schwereren Isotops führt.

Weiterhin ist aus der Literatur bekannt, dass verschiedene Gewebeteile aus dem gleichen Tier unterschiedliche *Kohlenstoffisotopenzusammensetzungen* aufweisen. Es konnte gezeigt werden, dass z.B. Fette im Vergleich zu anderen tierischen Kompartimenten und der aufgenommenen Nahrung stark an ¹³C angereichert sind, d.h. im Vergleich zu den anderen Kompartimenten die negativsten δ¹³C-Werte aufweisen. Bei der Biosynthese von Fetten kommt es zu einer kinetischen Isotopenfraktionierung, die zu einer Isotopendiskriminierung gegenüber ¹³C und somit zu niedrigen δ¹³C-Werten führt [60, 63]. Knochenkollagen ist im Vergleich zur Nahrung und anderen biologischen Gewebeteilen am stärksten an ¹³C angereichert, gefolgt von Haut, Muskel und Haaren [65–68]. Unterschiedliche biochemische Kompartimente zeigen oftmals verschiedene δ¹³C-Werte, da bei der Biosynthese dieser körpereigenen Stoffe, zum Beispiel beim Muskelaufbau oder Haarwachstum, erstens verschiedene Prozesse stattfinden und zweitens dafür unterschiedliche Nahrungsbestandteile eingebaut und umgesetzt werden. Wird ein Futterwechsel, zum Beispiel von einer Ernährung mit C₄-Pflanzen zu einer Ernährung mit C₃-Pflanzen, durchgeführt, werden für unterschiedliche Kompartimente unterschiedliche Zeiten ermittelt, nach denen in den Organen, Geweben oder anderen

tierischen Proben der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert dem neuen Futter entspricht. Während sich ein Futterwechsel in Milch- und Faecesproben von Rindern innerhalb von ca. 6 Tagen [69–71] widerspiegelt, dauert es im Muskelfleisch des Rindes ca. 230 Tage [65] und im Blut ca. 70 Tage [72] bis sich der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des neuen Futters eingestellt hat.

Untersuchungen der *Stickstoffisotopenverhältnisse* verschiedener Tierproben in Abhängigkeit von der Ernährung zeigten [64, 74] dass die Nahrungsaufnahme und Verwertung der Nahrung bei jedem Tier mit einer Isotopenfraktionierung verbunden ist. Bei jedem Schritt in der Nahrungskette kommt es bei den Stickstoffisotopen zu einer Anreicherung von ca. 3 ‰ [6, 73] (siehe Abbildung 6).

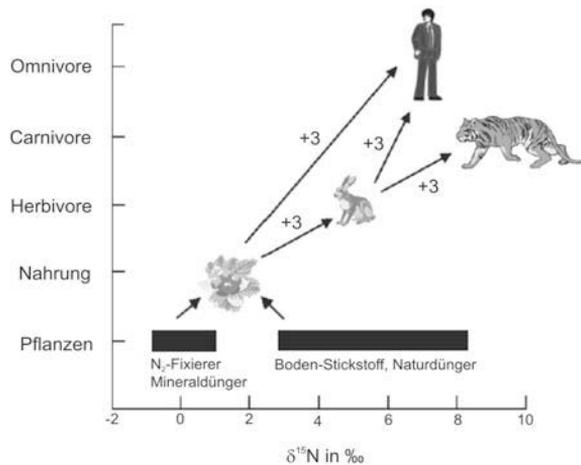


Abbildung 6: ^{15}N -Anreicherung entlang der Nahrungskette (nach [73]).

Bei Untersuchungen der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von Urin, Milch, Faeces, Haaren und Blut von Rindern zeigte sich ein weiterer sehr interessanter Aspekt: Der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von Rinderurin ist um 1–4 ‰ negativer als in der Nahrung, während Milch [69, 70, 75–78], Faeces [63, 64, 71, 78–80], Haare [63, 64, 68, 79, 81] und Blut [78] im Vergleich zur Nahrung um 1–3 ‰ an ^{15}N angereichert sind. Die Ursache ist, dass bei der Harnstoffsynthese eine sehr ausgeprägte Isotopendiskriminierung gegenüber ^{15}N auftritt [64, 82], d.h. aufgrund der vorwiegenden Exkretion des leichteren Stickstoffisotops wird der Urin sehr stark an ^{15}N abgereichert. Weitere Untersuchungen zeigten, dass das Ausmaß der Isotopenverschiebung oftmals auch von der Qualität des Futtermittels abhängig ist. Dies liegt daran, dass qualitativ hochwertige Futtermittel geringere C/N-Verhältnisse aufweisen [65, 76, 83].

In neueren Arbeiten wird der Einfluss der Ernährung auf die Isotopensignatur tierischer Proben unter einem anderen Gesichtspunkt untersucht. Im Unterschied zu den früheren Arbeiten, die sich um die Aufklärung grundlegender Mechanismen und der Aufklärung tierphysiologischer Aspekte bemühten, liegt das Ziel heute darin, die Herkunft und Authentizität der Tiere und tierischen Produkte (Milch, Fleisch) zu bestimmen. Dabei wird ausgenutzt, dass die Isotopenzusammensetzung in tierischen Produkten von sehr vielen verschiedenen Faktoren (Tierfütterung, Bodenverhältnissen, saisonalen Schwankungen klimatischer und umweltrelevanter Faktoren sowie unterschiedlichen Isotopenfraktionierungen im Tiermetabolismus) abhängig ist. Um mehr aussagekräftige Parameter zu finden, die verschiedene Informationen bezüglich der Probenherkunft geben können, werden im Gegensatz zu den früheren Arbeiten die Isotopenverhältnisse mehrerer Elemente, vorwiegend der leichten Elemente Kohlenstoff, Stickstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Schwefel analysiert. Seit Anfang der 1980er Jahre finden Untersuchungen der Stabilisotopenverhältnisse der leichten Elemente zur Aufklärung von Etikettenschwindel und Lebensmittelverfälschungen statt. Sie werden in der Lebensmittelüberwachung eingesetzt, um zum Beispiel Verfälschungen von Wein [84, 85] oder Fruchtsäften durch Streckung mit Wasser oder unzulässiger Anreicherung mit Fremdzucker [86–90], Verschnitte von Spirituosen und Olivenölen [91–94], sowie Streckung von Bienenhonig mit Ahornsirup [95–97] aufzudecken. Ein zusammenfassender Überblick wird in den folgenden Übersichtsartikeln [9, 73, 98–105] gegeben. Weiterhin gibt es einige Arbeiten, in denen gezielte Fütterungsstudien durchgeführt oder Standorte mit verschiedenen Fütterungsbedingungen verglichen wurden, um zum Beispiel Hinweise auf die unterschiedliche Herkunft von Fleisch (Schwein [106, 107], Lamm [108–110], Rind [2, 31, 65, 72, 77, 111, 112, 113]), Milch [1, 70, 76, 77, 114] und Milchprodukte [115–120]) zu erhalten.

Oftmals ist jedoch die Analyse der leichten Elemente allein nicht ausreichend, um eine Aussage über die Probenherkunft zu machen. In den letzten Jahren wurden daher zunehmend neben den Isotopenverhältnissen leichter Elemente auch die von Strontium verwendet, um zusätzliche Informationen bezüglich der geographischen Herkunft verschiedener Nahrungsmittel (Orangensaft [121], Cidre [122], Wein [123–126], Spargel [127], Fleisch [2], Milch, Milchprodukte [1, 128]) zu erhalten. Bei Strontium ist bereits gut bekannt, dass der Isotopentransfer von den Gesteinen zum Boden und über die Pflanzen zu den Menschen und Tieren ohne Isotopenfraktionierungen verläuft. Die Strontiumisotopenverhältnisse von Tieren oder tierischen Produkten reflektieren demzufolge direkt das Strontiumisotopenverhältnis der aufgenommenen Nahrung (Wasser, Pflanzen) und somit einer Mischung aus den Strontiumisotopenverhältnissen

des Grundwassers, Bodens und der darunter liegenden Gesteine [56]. Ernähren sich Menschen oder Tiere vorwiegend mit pflanzlichen Produkten aus der lokalen Umgebung sind die Sr-Isotopenzusammensetzungen vergleichbar mit denen aus der lokalen Vegetation [129].

Über die Bestimmung von Magnesiumisotopenverhältnissen zum Einsatz für Authentizitätsnachweise sind bisher keine Arbeiten bekannt. Die Eignung natürlicher Magnesium-Isotopenverhältnisse zur Herkunftsbestimmung von biologischen Proben wird im Rahmen dieser Studie erstmalig untersucht.

Ein weiteres aktuelles Anwendungsgebiet der Stabilisotopenanalyse mit nur sehr wenigen Literaturbeispielen ist die Bestimmung der Authentizität hinsichtlich konventionell und ökologisch hergestellter Produkte [31, 66, 112, 130–132]. Ein wichtiges Kriterium dabei ist die Größenordnung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes. Wie bereits erwähnt wurde, können über das Kohlenstoffisotopenverhältnis tierischer Proben Informationen über unterschiedliche Fütterungsbedingungen erhalten werden. In europäischen Ländern zeichnet sich die ökologische Tierhaltung im Gegensatz zur konventionellen Tierhaltung dadurch aus, dass keine bzw. nur sehr geringe Anteile an Mais oder Mineralzusätzen in der Nahrung zu finden sind. Dagegen werden Mais- und Mineralfutterzusätze in der konventionellen Tierhaltung oftmals eingesetzt, um das Rinderwachstum zu beschleunigen oder die Milchproduktion zu steigern. Durch Analyse der Kohlenstoffisotopenzusammensetzung in Tierproben werden dementsprechend Informationen erhofft, die Aussagen über den Maisanteil in der Nahrung geben können. Die Analyse der Stickstoffisotopenzusammensetzung wird ebenfalls eingesetzt, um Hinweise auf das Produktionssystem (ökologisch bzw. konventionell) zu erhalten. Hier spielen vor allen Dingen die unterschiedlichen Düngemittel eine Rolle. Wie bereits im Kapitel 2.1.2 erwähnt wurde, zeigen künstliche und organische Düngemittel sehr verschiedene Stickstoffisotopenzusammensetzungen. Allerdings ist eine Zuordnung zu Produkten konventioneller oder ökologischer Herstellung aufgrund der Vermischung verschiedener Düngemittel sehr schwierig und bisher nur unter genau kontrollierten Bedingungen erfolgreich gewesen [132].

Einige wenige Arbeiten beschäftigten sich darüber hinaus mit der Gehaltsbestimmung verschiedener Elemente in einem Multielementscreening, um weitere Möglichkeiten und Parameter für die Unterscheidung von Nahrungsmitteln wie Tee [133], Käse [118], Wein [134] und Fleisch (Rind [2, 135], Lamm [109]) zu finden. Die Interpretation der verschiedenen Elementgehalte von Produkten unterschiedlicher Herkunft ist jedoch sehr komplex, da bisher kaum Informationen verfügbar sind, wie die

Elementgehalte vom Boden in die Pflanze und zu den tierischen Produkten gelangen und dort gespeichert werden [135].

3 Grundlagen der Bestimmung von Isotopenverhältnissen

3.1 Analytische Methoden

Die Untersuchung von natürlichen Isotopenvariationen im Promillebereich erfordert entsprechend präzise analytische Messmethoden. Die Massenspektrometrie eignet sich hierfür besonders, weil mit dieser Technik Isotopenverhältnisse über einen weiten dynamischen Bereich (10^{12}) bestimmt werden können. Für die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Wasserstoff wird oftmals aber auch die Kernresonanzspektrometrie (NMR) angewendet. Für die Analyse schwererer Elemente stehen je nach Anforderung an die Präzision und Probenart verschiedene Massenspektrometer zur Verfügung. Eine direkte Isotopenbestimmung fester Proben kann mittels der Sekundärionenmassenspektrometrie (SIMS) erfolgen. Mit der SIMS können Wiederholpräzisionen bis zu 0,01 % erreicht werden, allerdings müssen die Analyten hier in hohen Konzentrationen vorliegen. Etwas seltener werden bei den direkten Isotopenverhältnismessungen fester Proben die SSMS (Spark Source MS), LIMS (Laserionisationsmassenspektrometrie) und Laserablationsmassenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (LA-ICPMS) angewendet. Der Einsatz dieser Techniken ist aufgrund der geringen Wiederholpräzision, die im unteren Prozentbereich liegt, begrenzt. Bei der Bestimmung von radiogenen Isotopen im Ultrapurenbereich zur Analyse von biochemischen, kosmochemischen und umweltrelevanten Proben findet häufig die Resonanzionenmassenspektrometrie (RIMS) und Beschleunigungsmassenspektrometrie (AMS) Anwendung. Diese Verfahren zeichnen sich besonders durch ihre hohe Isotopen-selektivität aus und werden zur Bestimmung von extrem geringen Isotopenhäufigkeiten und Isotopenverhältnissen von bis zu 10^{12} angewendet.

Die drei massenspektrometrischen Methoden, die am häufigsten für die hochpräzise und richtige Bestimmung von Isotopenverhältnissen bei der Untersuchung von natürlichen Isotopenvariationen, Aufklärung von Umweltmechanismen, Metabolismustudien, Tracerstudien, geologischen Altersdatierungen, archäologischen und metrologischen Fragestellungen eingesetzt werden, sind die IRMS (Isotopenverhältnismassenspektrometrie), die MC-TIMS (Multikollektor-Thermionenmassenspektrometrie) und die MC-ICPMS (Multikollektor-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma). Typische Wiederholpräzisionen dieser drei Massenspektrometer sind in *Tabelle 2* angegeben.

Alle drei Massenspektrometer sind Magnetsektorfeldgeräte, die sich durch ihre Ionisierungseinheit und die Art der Analyten, die damit untersucht werden können, unterscheiden. Durch die Kombination von Magnetsektorfeld-Analysatoren mit Multikollektor-Detektoren können während der gesamten Messzeit die Ionenströme aller Isotope eines Elementes simultan gemessen werden. Im Folgenden wird ein Überblick über die wichtigsten Charakteristika der in dieser Arbeit verwendeten Massenspektrometer gegeben. Allgemein bestehen Massenspektrometer aus einem Probenzuführungssystem, einer Ionisierungseinheit, einem Trennsystem zur Auftrennung der Ionen nach ihrem Masse/Ladungs-Verhältnis (m/z) und einer Detektionseinheit zum Nachweis der Ionen. *Tabelle 3* gibt eine Übersicht über die prinzipiellen Bestandteile der verwendeten Massenspektrometer.

Tabelle 2: Wiederholpräzisionen für verwendete Massenspektrometer [136, 137]

Massenspektrometer	Wiederholpräzision in %
IRMS	0,02–0,01
MC-TIMS	0,002–0,01
MC-ICPMS	0,002–0,01

Tabelle 3: Massenspektrometereinheiten für die Isotopenverhältnisanalyse

	Ionisierungseinheit	Massenanalysator	Ionendetektion
IRMS	Elektronenstoß-ionisation	Magnetsektorfeld	Faraday
MC-TIMS	Thermionenquelle	Magnetsektorfeld	Faraday, Ionenzähler
MC-ICPMS	Induktiv gekoppeltes Plasma	Elektrostatisches- & Magnetsektorfeld	Faraday, Ionenzähler

Die IRMS dient ausschließlich zur Bestimmung der Isotopenverhältnisse der leichten Elemente (C, N, S, O, H). Hier werden feste oder flüssige Proben in spezifische Verbrennungsgase (z.B. CO₂, NO₂, SO₂, CO und H₂O) überführt und deren Isotopenverhältnisse nach Elektronenstoßionisation bestimmt. Bei der MC-TIMS können hingegen nach Ionisierung an einer heißen Metalloberfläche unter anderem die Isotopenverhältnisse von Alkali- und Erdalkalielelementen, Seltenen Erden und Aktinoiden bestimmt werden. Nichtmetallelemente (Cl, Br) können mit Hilfe der negativen Thermionenmassenspektrometrie analysiert werden. Die IRMS und MC-TIMS waren über Jahrzehnte die einzigen Methoden, mit welchen hochpräzise Isotopenverhältnisse

bestimmt wurden. Die TIMS wird auch heute noch als Referenzverfahren genutzt, um zum Beispiel Isotopenhäufigkeiten oder Atomgewichte mit einer sehr hohen Genauigkeit zu bestimmen. Der Nachteil dieser Technik ist, dass sie sehr zeitaufwendig und somit kostenintensiv ist, da vor der Analyse eine sehr aufwendige Analyt-Matrix-Trennung durchgeführt werden muss.

Eine Alternative zu dieser Technik stellt nach zahlreichen Neuentwicklungen in den letzten 15 Jahren die MC-ICPMS dar. Quadrupolmassenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma sind seit 1983 kommerziell erhältlich. Sie sind durch ein großes Nachweisvermögen gekennzeichnet und ermöglichen eine zuverlässige Bestimmung von Elementgehalten im Spuren- und Ultraspurenbereich (ng/L). Darüber hinaus sind bei ICPMS-Geräten die Analysenzeiten gering und ein hoher Probendurchsatz möglich. Für die Quantifizierung von Elementgehalten kann oftmals sogar auf den Probenaufschluss und eine Analyt-Matrix-Trennung verzichtet werden, da ein Großteil der organischen Probenbestandteile durch die sehr hohen Temperaturen (6000–10000 K) im Plasma zerstört werden. Die zahlreich auftretenden isobaren Interferenzen, die vorwiegend von dem Plasmagas und der Probenmatrix verursacht werden, sowie die schlechteren Reproduzierbarkeiten sind aber das Hauptproblem, warum die weniger teuren Quadrupolgeräte nicht für die präzise Bestimmung von Isotopenverhältnissen geeignet sind. Konventionelle Quadrupol-ICPMS- oder TOF-MS-(Flugzeit-MS)-Geräte erreichen Präzisionen von 0,1–0,5 %.

Erst durch die Entwicklung von doppelt fokussierenden (ICP-)Magnetsektorfeldgeräten und der Verwendung von Multikollektor-Detektoren werden Präzisionen erreicht, die mit der MC-TIMS vergleichbar sind. Leider können viele Vorteile der ICP-Massenspektrometer bei der Verwendung der Multikollektortechnik (MC-ICPMS) häufig nicht ausgenutzt werden. Oftmals muss ebenso wie bei der TIMS eine sorgfältige Probenvorbereitung durchgeführt werden, um die Matrixeinflüsse, isobare Interferenzen und Massendiskriminierungseffekte zu minimieren. Die MC-ICPMS ist als eine komplementäre Methode zur MC-TIMS anzusehen, weil mit dieser Technik Elemente analysiert werden können, welche für TIMS-Messungen nicht zugänglich sind, z.B. weil die zu untersuchenden Analyten hohe Ionisierungspotentiale aufweisen. Welche Methode für die Bestimmung von Isotopenverhältnissen der schwereren Elemente angewendet wird, ist unter Berücksichtigung der möglichen auftretenden Störungen letztendlich vom Analyten selbst abhängig.

3.1.1 Isotopenverhältnismassenspektrometrie (IRMS)

Die heutigen Gasmassenspektrometer für die Bestimmung von Isotopenverhältnissen der leichten Elemente in Form von H₂, CO₂, N₂, SO₂ gehen auf die Anordnung von Nier (1947) [138] und McKinney (1950) [139] zurück. Alle IRMS-Geräte arbeiten unter Ultrahochvakuumbedingungen ($< 10^{-5}$ Pa), mit niedrigen Auflösungen ($m/\Delta m = 100$) und erreichen extrem hohe Ionenstrahlstabilitäten.

Probenzuführung

Um Drifteffekte der Ionenströme zu reduzieren, erfolgt die Isotopenanalyse durch das abwechselnde Messen eines Referenzgases und der Probe. Als Probeneinlasssysteme stehen das Dual-Inlet- und das Continuous-Flow-System zur Verfügung. Mit den in dieser Arbeit verwendeten Continuous-Flow-Geräten werden nur Präzisionen von 0,1–0,2 % erreicht. Dafür bietet das System große Vorteile in der Probenhandhabung. Mit diesem Einlasssystem, in welchem die Probe und das Referenzgas im Wechsel mit Hilfe eines Trägergasstromes (in der Regel Helium) über ein so genanntes „open split“-System in die Ionenquelle geführt werden, ist es möglich, durch Kopplung der IRMS an einen Elementanalysator (EA-IRMS) Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff, Stickstoff, Wasserstoff und Schwefel unter Oxidation, sowie Sauerstoff unter Pyrolyse zu bestimmen. Durch Kopplung des IRMS-Basisgerätes an einen Gaschromatographen (GC-IRMS) oder Flüssigchromatographen (LC-IRMS) ist es weiterhin möglich, komponentenspezifische Analysen durchzuführen. Weiterführende Informationen über die komponentenspezifischen Analysetechniken werden in Übersichtsartikeln von Brand, Preston und Brenna [136, 140, 141] gegeben. Die Kopplung des Elementanalysators mit der IRMS ist die am meisten verbreitete Anwendung für Continuous-Flow-Systeme und wird im Folgenden ausführlicher beschrieben, da sie in dieser Arbeit für die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff verwendet wurde. Die C- und N-Isotopenverhältnisse wurden zu Beginn der Arbeit am EA-IRMS-Gerät des BfR bestimmt. Bei diesem System handelt es sich um einen Elementanalysator des Typs EA 1100 CHN der Firma CE Instruments, welcher über ein Continuous-Flow-Interface (ConFlo IITM) mit dem DeltaPlusTM-Massenspektrometer von ThermoQuest Finnigan gekoppelt wurde. Ab 2007 stand ein neues EA-IRMS-Gerät zur Verfügung, eine EA-Kopplung des VarioELIII der Firma Elementar mit dem IsoPrime-Massenspektrometer von VG Instruments. Im folgenden Abschnitt werden die Gemeinsamkeiten und Unterschiede der beiden verwendeten EA-IRMS-Kopplungssysteme erläutert. *Abbildung 7* stellt zunächst den

allgemeinen Aufbau der Kopplung des Elementanalysators mit einem Massenspektrometer dar.

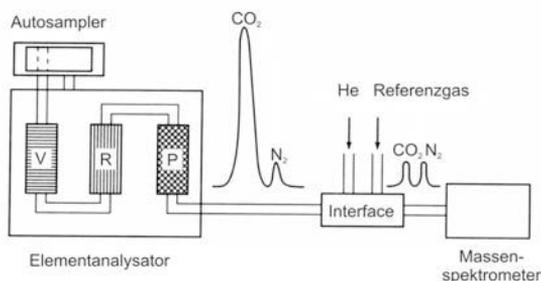


Abbildung 7: Allgemeiner Aufbau der EA-IRMS (mit V = Verbrennungsrohr, R = Reduktionsrohr, P = Gaschromatographische Trenneinheit, (nach [142])).

Funktionsweise des Elementanalysators

Die in Zinn-Kapseln eingewogenen Proben gelangen über einen Autosampler in das Verbrennungsrohr. Dieses wird zuvor mit Helium gespült, um den Eintritt von Luft in den Oxidationsreaktor zu vermeiden. Direkt vor Messbeginn werden eventuell vorhandene Verunreinigungen mit Hilfe eines kurzen Sauerstoffpulses oxidiert und entfernt. Die Probe fällt in das Verbrennungsrohr (ca. 1000 °C) und wird durch einen weiteren Sauerstoffpuls vollständig zu den Messgasen CO₂, NO₂, H₂O und SO₂ oxidiert. Verschiedene Oxidationsmittel (Chromoxid, Wolframoxid) fördern die Reaktion. Gleichzeitig wird die Oxidation durch einen schlagartigen Temperaturanstieg (bis auf 1800 °C) aufgrund der Oxidation der Zinn-Kapsel unterstützt. Störende Gase (z. B. Halogene), die bei der Verbrennung anfallen können, werden im Verbrennungsrohr an versilbertem Cobaltoxid bzw. Silberwolle gebunden und somit aus dem Messgas entfernt. Während des gesamten Oxidationsprozesses wird gleichzeitig Helium als Trägergas durch das Verbrennungsrohr geleitet, dieses führt die Oxidationsprodukte in ein zweites, so genanntes Reduktionsrohr. Das Reduktionsrohr ist unter anderem mit Kupfer gefüllt, welches die bei der Oxidation entstandenen Stickoxide bei einer Temperatur von 640 °C (EA 1100 CHN) bzw. 850 °C (VarioELIII) zu N₂ reduziert. Gleichzeitig wird dabei überschüssiger Sauerstoff entfernt. Im Anschluss wird am EA 1100 CHN das bei der Verbrennung entstandene Wasser an einer Magnesiumperchlorat-Wasserfalle gebunden. Im VarioELIII erfolgt die Entfernung des Wassers durch ein H₂O Konverterrohr, welches mit P₂O₅ und Mg gefüllt ist. In diesem wird H₂O zu H₂ reduziert und kann für die D/H-Analyse verwendet werden.

Bei dem EA 1100 CHN werden die Komponenten N_2 und CO_2 aus dem Gasgemisch mit Hilfe des He-Trägergasstromes in einer gaschromatographischen Säule (Porapak QS) bei $50\text{ }^\circ\text{C}$ abgetrennt. Eine Trennung dieser Gase voneinander ist notwendig, da bei der Ionisierung von CO_2^+ auch CO^+ entstehen kann, welches eine isobare Interferenz auf $m/z = 28$ verursacht und das Messergebnis für N_2 bei $m/z = 28$ verfälschen kann. Über das Continuous-Flow-Interface gelangt N_2 , gefolgt von CO_2 , in die Ionenquelle und wird im Wechsel mit dem entsprechenden hochreinen Referenzgas analysiert.

Beim VarioELIII wird das Gasgemisch nicht über eine GC-Säule, sondern über Absorptionsrohre getrennt. Abgesehen von N_2 , welcher direkt ins Massenspektrometer gelangt, werden die einzelnen Gaskomponenten CO_2 , H_2O und SO_2 in separat gefüllten Rohren reversibel absorbiert. Durch langsames Aufheizen der einzelnen Rohre können die Gase anschließend nacheinander freigesetzt und mit Hilfe des Trägergases über das Continuous-Flow-System zur Ionenquelle geführt werden. Auch hier erfolgt ein jeweiliger Wechsel zwischen Zuführung der Probe und des entsprechenden Referenzgases (N_2 , CO_2 , H_2 , SO_2). Der allgemeine Aufbau des VarioELIII ist in *Abbildung 8* dargestellt.

Der Vorteil des VarioELIII gegenüber dem EA 1100 CHN ist, dass prinzipiell eine Bestimmung von C, N, H und S in einer Messung ermöglicht wird. Beim EA 1100 CHN ist hingegen die gleichzeitige Bestimmung der C- und N-Isotopenverhältnisse oft nicht möglich, da der N-Gehalt in vielen organischen Proben sehr viel niedriger als der C-Gehalt ist. Das führt dazu, dass für eine C/N-Bestimmung mit dem EA 1100 CHN am BfR zwei Messungen nötig sind, da für die C- bzw. N-Bestimmung sehr unterschiedliche Probenmengen für eine Messung im linearen Bereich des Gerätes erforderlich sind. Außerdem ist mit dem EA 1100 CHN keine Bestimmung der Schwefelisotope möglich. Der Vorteil des EA 1100 CHN liegt aber darin, dass mit geringeren Probeneinwaagen (weniger als die Hälfte im Vergleich zum VarioELIII) höhere Ionenströme erzeugt werden können. Die höhere Empfindlichkeit ist besonders erforderlich, wenn nur geringe Probenmengen zur Verfügung stehen, wobei die Homogenität der Probe gewährleistet sein muss.

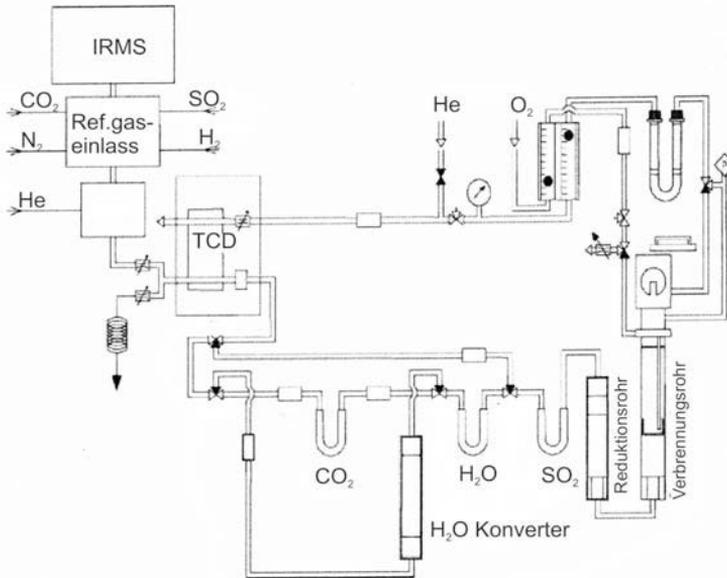


Abbildung 8: Schematischer Aufbau des Elementanalytors Vario ELIII der Firma Elementar (nach [143]).

Ionisierung

Die Ionisierung der Messgase erfolgt über Elektronenstoß im Vakuum. Durch Zusammenstöße der Gasmoleküle mit den aus einer Glühkathode emittierten Elektronen hoher kinetischer Energie werden einfach positiv geladene Ionen gebildet. Diese werden durch Anlegen einer Beschleunigungsspannung (typischerweise 2–5 kV) zum Massenanalysator des einfach fokussierenden Massenspektrometers beschleunigt und mit Hilfe von drei Faraday-Detektoren nachgewiesen.

3.1.2 Multikollektor-Thermionenmassenspektrometrie (MC-TIMS)

Bei der Thermionenmassenspektrometrie werden ca. 50–100 ng einer reinen Analytlösung auf ein Metallband (Filament) aufgetragen und dieses in Abhängigkeit vom Analyten bis zur Rotglut erhitzt. Für die TIMS stehen Einband-, Zweiband- und Dreibandfilamente zur Verfügung, welche aus Wolfram oder Rhenium bestehen und als Ionisierungsquelle dienen. Die für die TIMS verwendeten Filamente sind in *Abbildung 9* dargestellt.

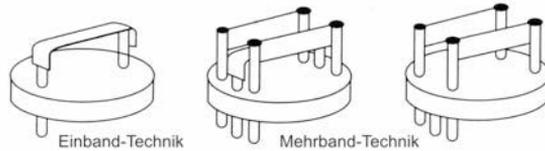


Abbildung 9: Darstellung der Filamente für die MC-TIMS (nach [142]).

Bei der Einbandtechnik, welche in dieser Arbeit verwendet wurde, erfolgt die Probenverdampfung und Ionisierung vom gleichen Bändchen aus. Bei der Mehrbandtechnik wird die auf einem Bändchen aufgetragene Probe zunächst verdampft und die entstanden gasförmigen Moleküle bzw. Atome an der Metalloberfläche des anderen Filamentes ionisiert. Welche Technik verwendet wird, ist abhängig vom Analyten. Die Mehrbandtechnik wird oftmals bei leicht flüchtigen Elementen angewendet, wenn die Verdampfungsenergie einer Substanz gering ist, aber hohe Ionenausbeuten nur bei sehr hohen Filamenttemperaturen erreicht werden können. Die Bildung von positiv geladenen Ionen wird begünstigt, wenn die erste Ionisierungsenergie des Analyten klein, d.h. in der Regel < 7 eV ist, und das Filament aus einem Material mit hoher Elektronenaustrittsarbeit und hohem Schmelzpunkt (> 2500 °C) besteht, wodurch hohe Temperaturen erreicht werden können. Das in dieser Arbeit verwendete Rhenium weist einen Schmelzpunkt von 3180 °C und eine Elektronenaustrittsarbeit von $4,98$ eV auf und ist aus diesem Grund sehr gut für die positive Thermionenmassenspektrometrie geeignet. Um eine bessere Ionenausbeute oder einen stabileren Ionenstrahl zu erhalten, wird die Probe oftmals nicht direkt auf die Metalloberfläche gegeben, sondern je nach Analyt zuerst Kiesegel, Salpetersäure oder Phosphorsäure aufgetragen und dann die Probe hinzugefügt. Bei der Bestimmung von Strontiumisotopenverhältnissen hat sich der Zusatz von Birckscher Lösung [144, 145], einer TaF₅ Lösung, die durch Umsetzung von TaCl₅ mit verschiedenen Säuren (HF, H₃PO₄ und HNO₃) nach [144] hergestellt wird, zur Empfindlichkeitssteigerung bewährt. Die Verwendung der Zusatzstoffe bewirkt eine langsame und gleichmäßige Verdampfung und Ionisierung der Probe, da die Analytmoleküle im Hilfsmittel zunächst eingeschlossen und im Aufheizprozess langsam wieder freigesetzt werden.

Die einzelnen Probenbändchen werden über einen Probenhalter in das Massenspektrometer (Sektor 54, VG Instruments) eingebracht. Die automatische Filamentaufheizung erfolgt im Hochvakuum. Der erzeugte Ionenstrahl wird durch ein ionenoptisches System in das einfach fokussierende Magnetsektorfeld beschleunigt. Die nach ihrem m/z aufgetrennten Ionen werden über eine Multikollektoranordnung aus neun

verstellbaren Faraday-Detektoren detektiert. Bei der thermischen Ionisierung werden im Gegensatz zu MC-ICPMS-Geräten Ionen mit einer geringen Energieverteilung (~ 1 eV) gebildet, so dass eine Einfachfokussierung durch das Magnetfeld ausreicht, um hohe Präzisionen zu erreichen.

3.1.3 Multikollektor-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (MC-ICPMS)

Ein großer Unterschied der ICPMS-Geräte im Vergleich zur IRMS oder MC-TIMS ist, dass eine Probenionisierung nicht im Vakuum, sondern unter Atmosphärendruck stattfindet. Bei konventionellen ICPMS-Geräten werden flüssige Proben über einen Zerstäuber dem induktiv gekoppelten Plasma zugeführt. Alternativ können aber auch feste Proben direkt über die Ankopplung eines Lasers zur Probenverdampfung an das Massenspektrometer (LA-ICPMS) analysiert werden. Im Folgenden wird nur auf die MC-ICPMS für die Analyse flüssiger Proben eingegangen.

Probenzuführung

Über eine peristaltische Pumpe gelangt die flüssige Probe in den Zerstäuber (in der Regel Meinhard- oder Cross-flow-Zerstäuber), welcher die Probe in ein feines Aerosol überführt. Damit eine vollständige Atomisierung im Plasma und eine hohe Plasmastabilität gewährleistet werden kann, müssen die Aerosoltröpfchen kleiner als $10 \mu\text{m}$ sein. Die Abtrennung zu großer Flüssigkeitstropfen kann je nach Analyt durch eine (wahlweise gekühlte oder ungekühlte) Scott- oder eine zyklonische Zerstäuber kammer erfolgen. In Abhängigkeit vom verwendeten Zerstäuber gelangen nur ca. 5–8 % des Proben aerosols zur Ionisierungseinheit, der Plasmafackel. Die restlichen 90 % der angesaugten Probe werden über einen Ablaufschlauch wieder abgeschieden. Um den Faktor 10 bis 50 verbesserte Nachweisgrenzen können mit einem Ultraschallzerstäuber (USZ) oder so genannten Desolvatisierungseinheiten erreicht werden, allerdings führen diese auch zu höheren Memory-Effekten und schlechteren Stabilitäten bei der Aerosolbildung, was negative Auswirkungen auf die Präzision hat.

Ionisierung

Über den Zerstäuber gelangt das Proben-aerosol in die Mitte der Plasmafackel. Diese besteht aus drei konzentrischen Quarzrohren, in deren Zwischenräume Argon als Plasmagas strömt (*Abbildung 10*). Das im äußeren Rohr strömende Plasmagas dient zur Erzeugung des Plasmas und schützt die Gehäusewand vor den hohen Temperaturen (6000–10000 K), die nach der Zündung des Plasmas entstehen. Im mittleren Rohr strömt ein Hilfsgasstrom, durch den Ablagerungen von hochsalzhaltigen Lösungen sowie Kohlenstoffablagerungen von organischen Lösungsmitteln an der oberen Öffnung der Plasmafackel vermieden werden können. Im inneren Rohr wird das Analysenaerosol transportiert. An der oberen Öffnung des Brenners befindet sich eine Spule mit zwei bis drei Windungen, die von einem Hochfrequenzgenerator mit Energie versorgt wird. Die Anfangsionisierung des Argongasstromes erfolgt durch einen Funken hoher Energiedichte (Teslafunken). Die daraus resultierenden Ionen und Elektronen kreisen dann im elektromagnetischen Feld der Spule auf geschlossenen Kreisbahnen. Durch Stöße der beschleunigten energiereichen Ionen und Elektronen mit weiterem Argogas werden lawinenartig neue Ladungsträger erzeugt. Die Bestandteile des Plasmas, bestehend aus hochangeregten Argonatomen, Argonionen und Elektronen, können durch Kollisionen die Analyt-Atome bzw. -Moleküle ionisieren.



Die Ionisierung mit dem induktiv gekoppelten Plasma zeichnet sich durch eine extrem hohe Ionisierungseffizienz aus. Ein Problem ist jedoch das Auftreten von zahlreichen Störungen durch spektrale Interferenzen aufgrund von Reaktionen zwischen der Probenmatrix und dem Plasmagas. Die positiv geladenen Ionen gelangen über das Interface ins Hochvakuum des Massenspektrometers. Im Vergleich zu einfachen Quadrupol-ICPMS-Geräten wird bei Sektorfeldgeräten mit Hilfe von sehr leistungsstarken Pumpsystemen ein sehr niedriger Druck ($< 10^{-6}$ Pa) erreicht. Dies ist notwendig, um Stöße mit Restgasmolekülen zu minimieren und so gute Signalformen und Empfindlichkeiten zu erhalten. In *Abbildung 10* ist der Aufbau der Ionisierungseinheit (ICP-Fackel) und des Interfaces abgebildet. Das Interface besteht aus zwei konusförmigen Lochblenden (Sampler und Skimmer) mit unterschiedlichen Lochdurchmessern (0,3 bis 1 mm). Sie bestehen in der Regel aus Nickel, es kommen aber auch Platin- und Aluminium- Lochblenden zum Einsatz. Das Interface sorgt dafür,

dass der größte Teil des Plasmagases sowie die zum Teil im Zwischenraum gebildeten Oxide nicht ins Massenspektrometer gelangen.

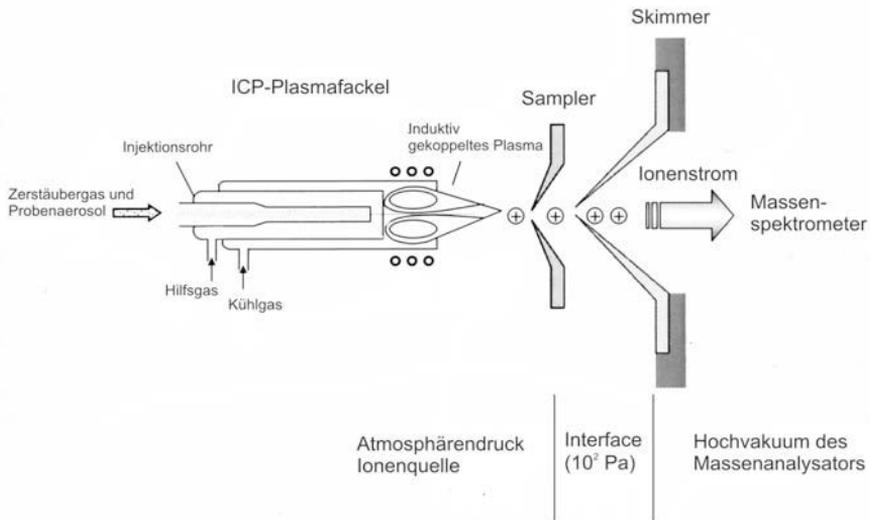


Abbildung 10: Darstellung der ICP-Plasmafackel und des Interfacesystems für die MC-ICPMS (nach [146]).

3.1.4 Massenanalytoren

Nach der Ionisierung wird der Ionenstrahl über verschiedene elektrische Linsen in die Massentrenneinheit beschleunigt. Im Massenanalysator eines *einfach fokussierenden Massenspektrometers* erfolgt die Auftrennung des Gesamtionenstrahls in verschiedene Ionenstrahlen nach ihrem Masse/Ladungs-Verhältnis (m/z) durch einen Permanent- oder Elektromagneten. Ionen mit unterschiedlichen m/z werden nach Beschleunigung mit einer Spannung U bei gleicher Magnetfeldstärke (B) auf Kreisbahnen mit unterschiedlichen Radien (r) gelenkt (siehe Gleichung 2).

$$(2) \quad \frac{m}{z} = \frac{r^2 \times B^2}{2 \times U}$$

Aufgrund der unterschiedlich großen Kreisbahnen kommen Ionen mit unterschiedlichen m/z an verschiedenen Orten auf der Detektorebene an. Bei der Multikollektor-(MC-)Technik werden mehrere Detektoren nebeneinander angeordnet, die simultan die Ionenströme verschiedener Isotope mit benachbarten Massen messen können.

Bei der IRMS werden die Massenbereiche durch Veränderung der Magnetfeldstärke für das jeweilige zu bestimmende Isotopenverhältnis eingestellt (Tabelle 4) und während der Messung konstant gehalten. Die Massenauflösung ($m/\Delta m = 100$) [141] ist gerade ausreichend, um die Ionen der leichten Elemente (C, H, N, O, S) aufzulösen.

Tabelle 4: Übersicht über die Messgase und Massenbereiche für die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von C, N, H und S

Isotopenverhältnis	Messgas	m/z
D/H	H ₂	2, 3
¹³ C/ ¹² C	CO ₂	44, 45, 46
¹⁵ N/ ¹⁴ N	N ₂	28, 29, 30
¹⁸ O/ ¹⁶ O	CO	28, 30
¹⁸ O/ ¹⁶ O	CO ₂	44, 46
³⁴ S/ ³² S	SO ₂	64, 65, 66

Magnetsektorfeldgeräte, welche wie hier bei niedriger Auflösung arbeiten, haben die Besonderheit, dass so genannte Flat-Top-Peaks erzeugt werden, so dass der gemessene Ionenstrom in einem kleinem Massenbereich unabhängig von der exakten Position ist, an welchem er detektiert wird. Dies ist besonders im „Peak Jumping“-Modus vorteilhaft, wenn in einer Messreihe Isotope mit unterschiedlichen m/z analysiert werden und somit zwischendurch die Magnetfeldstärke geändert werden muss.

Im Magnetfeld wird der Ionenstrahl nicht nur nach den unterschiedlichen Masse/Ladungs-Verhältnissen abgelenkt, sondern auch nach der kinetischen Energie der Ionen aufgetrennt. Im induktiv gekoppelten Plasma werden im Vergleich zu anderen Methoden Ionen mit einer sehr großen Energieverteilung (10–20 eV [147]) erzeugt. Dies beeinträchtigt das Auflösungsvermögen bei einfach fokussierenden Magnetsektorfeld-Massenspektrometern. Im Unterschied zur IRMS und TIMS handelt es sich bei dem in dieser Arbeit verwendeten MC-ICPMS (Neptune, Thermo Scientific) nicht um ein einfach fokussierendes sondern um ein *doppelt fokussierendes Magnetsektorfeldgerät*. Die Energiedispersion des Ionenstrahls wird hier durch ein elektrisches Sektorfeld (ESA = electrostatic Analyser) kompensiert. Das verwendete MC-ICPMS-Gerät ist nach der Nier-Johnson-Geometrie gebaut. In dieser Anordnung erfolgt erst die Energiefokussierung durch den ESA und dann eine Richtungsfokussierung durch das Anlegen eines Magnetfeldes. Mit der Doppelfokussierung wird eine höhere Massenauflösung des Ionenstrahls und damit einhergehend eine bessere Auflösung von spektralen

Interferenzen erreicht. Sowohl die Massenauflösung als auch die Peakform werden durch die Breite des Eintritts- und Austrittspaltes am Massenanalysator bestimmt. Bei einer hohen Auflösung ($m/\Delta m = 4000$) sind die Signalintensitäten klein und die Peaks schmal und abgerundet. MC-ICPMS-Geräte werden im Normalfall mit einer relativ geringen Auflösung von ca. 400–500 eingesetzt. Bei dieser Auflösung, bei der der Eintrittspalt kleiner als der Austrittspalt ist, können wie bei der IRMS so genannte Flat-Top-Peaks erzeugt werden. Diese sind essenziell für die präzise Bestimmung von Isotopenverhältnissen.

3.1.5 Detektorsysteme

Bei der IRMS werden relativ hohe Ionenströme erzeugt. Die Detektion erfolgt mit einer Multikollektorordnung aus drei feststehenden Faraday-Detektoren (Triplekolektor). Dabei sind die beiden äußeren Detektoren breiter als der mittlere (siehe Abbildung 11).

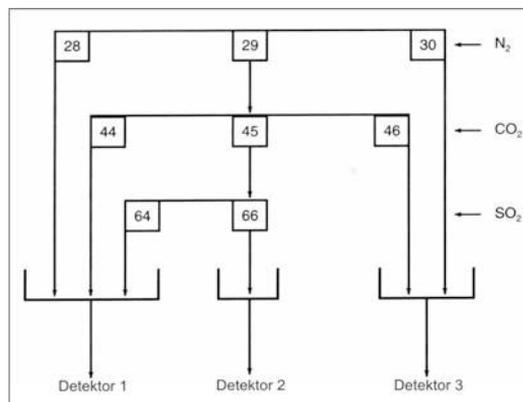


Abbildung 11: Darstellung des Triplekolektors für die Bestimmung von Stickstoff, Kohlenstoff und Schwefel [142] bei entsprechenden m/z .

Der mittlere Detektor wird außerdem zur Optimierung des einfallenden Ionenstrahls verwendet. Zum Teil sind die IRMS-Geräte zusätzlich mit zwei weiteren Faraday-Detektoren versehen, die auch die Bestimmung von D/H ermöglichen. Dies ist bei der verwendeten IsoPrime, aber nicht beim DeltaPlus der Fall. Die Ionenströme der Hauptisotope liegen im Bereich von 10^{-8} bis 10^{-9} A, während die Isotope mit geringerer Häufigkeit Ionenströme $< 10^{-10}$ A erzeugen. Aus diesem Grund werden die simultan detektierten Ionenströme verschieden hoch verstärkt und nach einer Spannungsfrequenzumwandlung digital ausgewertet. Um Ionenströme in einem weiten

dynamischen Bereich (10^{-19} – 10^{-8} A) bestimmen zu können, wird oft eine Kombination von analogen Detektoren (Faraday) und digitalen Ionenzähldetektoren verwendet.

Im Unterschied zur IRMS, welche nur mit drei bis fünf feststehenden Faraday-Detektoren arbeitet, werden in der MC-TIMS und MC-ICPMS neun verstellbare Faraday-Detektoren für die Messung von großen Ionenströmen und zusätzlich ein oder mehrere Sekundärelektronenvervielfacher für die Detektion kleinerer Ionenströme verwendet.

Faraday-Detektor

Faraday-Detektoren sind zwar im Vergleich zu den Ionenzähldetektoren weniger empfindlich, haben aber eine längere Lebensdauer, sind sehr robust, messen stabil sehr hohe Ionenströme und zeigen im Gegensatz zu den Ionenzählern keine Massendiskriminierungs- und Totzeiteffekte. Der Faraday-Detektor besteht aus einem Metallkäfig, in welchem sich eine Kollektorelektrode befindet. Diese ist häufig mit Graphit beschichtet. Der Käfig dient zur Verhinderung von Spannungsüberschlägen, sowie dem Austreten reflektierter Ionen oder ausgeschlagener Sekundärelektronen. Der Käfig und die Kollektorelektrode sind über einem Hochohmwiderstand mit dem Erdpotential verbunden. Die auf die Kollektorelektrode auftreffenden Kationen geben ihre positive Ladung an die Elektrode ab, woraufhin zur Ladungsneutralisation Elektronen von der Gerätemasse über den Widerstand fließen. Für die Dauer des Ladungseinfangs entsteht über den Widerstand ein messbarer Spannungsabfall, welcher zusätzlich verstärkt wird. In *Abbildung 12* ist der allgemeine Aufbau eines Faraday-Detektors dargestellt. Der Vorteil des Faraday-Detektors ist, dass der gemessene Ionenstrom nur von der Ladung des Ions und nicht von der kinetischen Energie, Masse oder chemischen Eigenschaften abhängig ist.

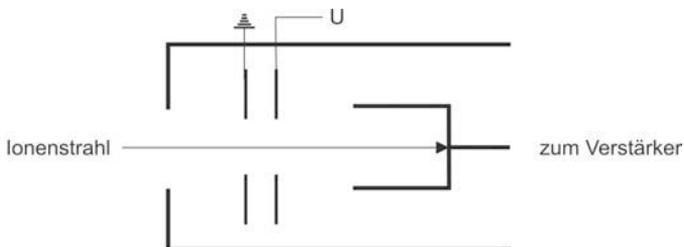


Abbildung 12: Darstellung eines Faraday-Detektors.

Ionenzähler

Zu den wichtigsten Ionenzählern gehören der Sekundärelektronenvervielfacher (SEM) und der Kanalelektronenvervielfacher (CEM). Bei den Ionenzählern wird nicht der Ionenstrom direkt, sondern die Anzahl der Impulse (Ionen) pro Zeiteinheit (counts per second) gemessen. Der CEM hat die breiteste Anwendung in der Massenspektrometrie. Er besteht, wie in *Abbildung 13* dargestellt ist, aus einem sich verjüngenden Glas- oder Keramikröhrchen, welches mit einer Pb-Silikatschicht ausgekleidet ist. An diesem Röhrchen entlang wird eine Hochspannung angelegt. Das aus dem Massenanalysator austretende Ion trifft auf den Eingang des CEM, wobei Elektronen aus der Beschichtung herausgeschlagen werden. Aufgrund des Spannungsgradienten wird eine Elektronenlawine ausgelöst. Der dabei entstehende Stromimpuls wird an einer Kollektorelektrode gemessen. Der CEM zeichnet sich durch ein hohes Signal-zu-Rausch-Verhältnis aus. Nachteilig ist seine begrenzte Lebensdauer.

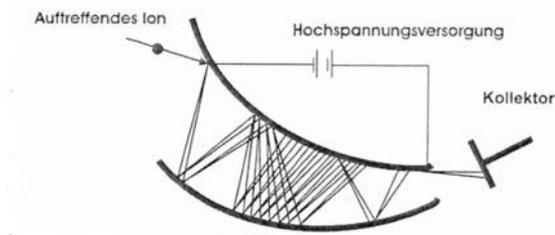


Abbildung 13: Darstellung eines CEM.

Bei der TIMS wird als Ionenzähler der Festkörperszintillationsdetektor (Daly) angewendet. Dies ist der Detektor mit der höchsten Nachweisempfindlichkeit. Die Vorteile des Daly gegenüber Kanalelektronenvervielfachern sind, dass er in einem sehr hohen dynamischen Bereich (10^8) arbeitet, eine hohe Lebensdauer hat und keine Totzeitkorrektur (siehe Kapitel 3.2.4) notwendig ist. Beim Daly trifft der aus dem Massenanalysator austretende Ionenstrahl zuerst auf eine Konversionsdynode, an welcher ein hohes Potential (> 20 kV) angelegt ist. Pro auftretendes Ion werden drei bis fünf Elektronen ausgeschlagen, die dann auf einen Festkörperszintillationsdetektor (NaI, BaF₂) beschleunigt werden, wobei sie dort einzelne Photonen freisetzen. Die Photonen werden dann außerhalb des Vakuums über einen Photomultiplier zu einem Spannungs- oder Stromimpuls umgeformt. Der allgemeine Aufbau des Daly-Detektors ist in *Abbildung 14* dargestellt.

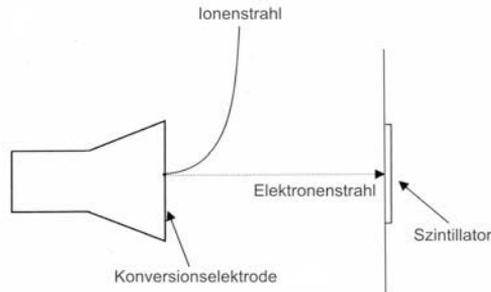


Abbildung 14: Schematischer Aufbau eines Daly-Detektors (nach [146]).

3.2 Messunsicherheit bei Isotopenverhältnisbestimmungen

Wie bereits im letzten Kapitel erwähnt wurde, kann es bei der massenspektrometrischen Isotopenanalyse mittels MC-TIMS und MC-ICPMS zu Effekten kommen, welche die Messunsicherheit eines Analyseergebnisses beeinflussen. Zu diesen Effekten zählen unter anderem Matrixeinflüsse, eine Intensitätsdrift des Ionenstromes, spektrale Interferenzen, Massendiskriminierungs- und Massenfraktionierungsprozesse. Die Messunsicherheit ist nach dem „Internationalen Wörterbuch der Metrologie (VIM)“ [148], welcher sich auf die Definition im „Guide To The Expression Of Uncertainty In Measurement (GUM)“ [149] bezieht, ein „dem Messergebnis zugeordneter Parameter, der die Streuung der Werte kennzeichnet, die vernünftigerweise der Messgröße zugeordnet werden könnte“. Die Messunsicherheit kann die Standardabweichung oder ein Vielfaches davon sein. Im Folgenden wird ein Überblick über auftretenden Effekte und deren Korrekturmöglichkeiten gegeben. Der Fokus liegt dabei auf Effekten, welche eine Rolle bei der Bestimmung der in dieser Arbeit untersuchten Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), Stickstoff ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), Magnesium ($^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$) und Strontium ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) spielen.

3.2.1 Spektrale Interferenzen bei der IRMS

Heutzutage sind die IRMS-Geräte für die Bestimmung von Kohlenstoff und Stickstoff soweit optimiert, dass systematische Fehler vernachlässigbar klein sind [150]. Der Abgleich des Ionenstromes des Referenzgases mit dem Ionenstrom des Messgases führt dazu, dass im linearen Bereich des Massenspektrometers Instabilitäten des Ionenstromes minimiert werden können. Auch die relativ große Energieverteilung der

Ionen nach der Ionisierung (2–10 eV), welche oftmals einen Einfluss auf die Präzision ausübt, kann durch eine spezielle Bauweise des einfach fokussierenden Massenspektrometers [150] kompensiert werden. Selbst die sonst sehr häufig auftretenden Matrixprobleme sind hier nicht vorzufinden, da die Probe vollständig in Messgase umgewandelt wird und hochreine Referenzgase für die Analyse verwendet werden.

Eine nicht zu vernachlässigende Störung ist jedoch das Auftreten von spektralen Interferenzen. Bei spektralen Interferenzen handelt es sich um Störungen durch Ionen mit gleichem Masse/Ladungs-Verhältnis (m/z). Bei der IRMS treten spektrale Interferenzen vor allem in Form von isobaren Interferenzen auf. *Isobare Interferenzen* werden durch Signalüberlappungen von Isotopen verschiedener Elemente mit gleichem m/z verursacht. In dieser Arbeit müssen sie hauptsächlich bei der Bestimmung des Kohlenstoffisotopenverhältnisses $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ berücksichtigt werden. Das $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnis wird über die Ionenströme 45/44 bestimmt. Dabei muss beachtet werden, dass auf den Massen 45 und 46 Interferenzen durch die in *Tabelle 5* aufgelisteten CO_2 -Isotopologe auftreten. Der Ionenstrom für $m/z = 45$ setzt sich demnach aus $^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ und $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$ im Verhältnis 1,1/0,07 zusammen. Um exakte $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Werte zu erhalten, muss auf der Masse 45 eine ^{17}O -Korrektur erfolgen. Dieses wird üblicherweise nach der Korrektur von Craig oder Santrock durch Messung des Ionenstromes bei $m/z = 46$ unter Berücksichtigung des gemessenen $\delta^{18}\text{O}$ -(46/44-)Wertes und der relativen natürlichen Häufigkeiten von ^{18}O und ^{17}O durchgeführt [151, 152]. Auf den Massen 44, 45 und 46 können weiterhin verschiedene isobare Interferenzen von N_2O -Isotopologen auftreten. Auch bei Stickstoff ($m/z = 28$) ist eine Interferenz durch $^{12}\text{C}^{16}\text{O}$ möglich. Auf diese wird hier aber nicht weiter eingegangen, da sie so klein sind, dass sie nicht korrigiert werden müssen.

Tabelle 5: Isobare Interferenzen für CO_2

m/z	Analyt (relative natürliche Häufigkeiten)	Interferenz (relative natürliche Häufigkeiten)
44	$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$ (98,4 %)	
45	$^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$ (1,1 %)	$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}^+$ (0,07 %)
46	$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}^+$ (0,4 %)	$^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}^+$ (0,0008 %), $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{17}\text{O}^+$ (0,00001 %)

3.2.2 Spektrale Interferenzen bei der MC-ICPMS und MC-TIMS

Bei der Bestimmung von Magnesium mittels MC-ICPMS treten spektrale Interferenzen vor allem in Form von polyatomaren Interferenzen und Interferenzen durch doppelt geladene Ionen auf. *Polyatomare Interferenzen* entstehen aus dem Plasmagas, Matrixbestandteilen der Probe und dem Lösungsmittel. Störungen durch *doppelt geladene Ionen* treten bevorzugt dann auf, wenn bei der doppelten Masse des Analyt-Elementes ein Matrixelement im großen Überschuss vorhanden ist. Bei der Bestimmung von $^{24}\text{Mg}^+$ tritt eine spektrale Interferenz durch das Calciumion $^{48}\text{Ca}^{2+}$ auf. Liegt in den Proben ein Ca/Mg-Verhältnis $> 0,5$ vor, so kann dies zu erhöhten und somit falschen $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ -Werten führen [40]. Eine weitere mögliche Interferenz durch die Probenmatrix kann durch $^{23}\text{NaH}^+$ verursacht werden, welche aber nur eine untergeordnete Rolle spielt. In *Tabelle 6* sind die wichtigsten Interferenzmöglichkeiten aufgelistet. Andere Interferenzen waren aufgrund der geringeren Isotopenhäufigkeiten und der geringen Elementkonzentrationen im Fall der hier untersuchten Proben vernachlässigbar.

Tabelle 6: Häufige Interferenzen bei der Bestimmung der Mg-Isotopenverhältnisse (^{24}Mg , ^{25}Mg , ^{26}Mg) mittels MC-ICPMS

Interferenz	Interferenzart
$^{12}\text{C}_2^+$, $^{12}\text{C}_2\text{H}^+$, $^{12}\text{C}_2\text{H}_2^{2+}$, $^{12}\text{CN}^+$, $^{23}\text{NaH}^+$	Polyatomare Interferenz
$^{48}\text{Ca}_2^+$, $^{48}\text{Ti}^{2+}$, $^{50}\text{Ti}_2^+$, $^{50}\text{V}^{2+}$, $^{50}\text{Cr}^{2+}$, $^{52}\text{Cr}^{2+}$	doppelt geladene Ionen

Die präzise Bestimmung des Strontiumisotopenverhältnisses mittel MC-TIMS wird maßgeblich vom Rb/Sr-Verhältnis in den Proben beeinflusst, da für das Strontiumisotop auf der Masse 87 eine isobare Interferenz von ^{87}Rb auftritt. Der gemessene Ionenstrom, der auf der Masse 87 detektiert wird, entspricht der Summe der Ionenströme von ^{87}Sr und ^{87}Rb . Dabei müssen jedoch auch noch systematische Abweichungen durch auftretende Massenfraktionierungen berücksichtigt werden.

Generell treten spektrale Interferenzen durch polyatomare oder doppelt geladene Ionen bei ICPMS-Geräten häufiger auf als bei der TIMS und sind in der Regel nur schwer zu korrigieren [153]. Isobare Interferenzen entstehen durch die natürliche Isotopenverteilung der Elemente im Periodensystem und sind demzufolge geräteunabhängig. Allgemein können die spektralen Interferenzen vermindert werden, wenn vor der eigentlichen Probenmessung eine sorgfältige Analyt-Matrix-Trennung durchgeführt wird [153, 154]. Der Entstehung von Oxiden, Hydroxiden oder Nitriden kann

durch Verwendung von desolvatisierenden Zerstäubern entgegengewirkt werden [155]. In einigen Quadrupol-ICPMS-Geräten sowie in der MC-ICPMS IsoProbe können polyatomare und isobare Interferenzen auch durch Verwendung einer Kollisionszelle reduziert werden. Allerdings kann es hier wiederum zur Bildung von störenden Molekülionen durch das verwendete Kollisionsgas kommen [156–158].

3.2.3 Massendiskriminierung/Massenfraktionierung

Wenn die Transmissioneffizienz von Ionen durch die einzelnen Massenspektrometer-einheiten abhängig vom ihrem Masse/Ladungs-Verhältnis (m/z) ist, spricht man von Massendiskriminierung bzw. Massenfraktionierung. Der Effekt kann in allen massenspektrometrischen Bauelementen, angefangen von den Ionisierungseinheiten, Ionenoptiken bis hin zur Massentrennung und Detektion, auftreten. Die Summe der Massendiskriminierungen im Messsystem führt zu systematischen Fehlern und wird in der Literatur mit „mass bias“ bezeichnet [146, 154, 159, 160]. Das Ausmaß der Abweichungen ist abhängig von der relativen Massendifferenz zwischen den Isotopen eines Elementes und ist bei leichten Elementen, mit größeren relativen Massendifferenzen signifikanter als bei schwereren Elementen.

Der Begriff der Massendiskriminierung wird im Allgemeinen bei ICPMS-Geräten angewendet. Den größten Einfluss auf die Massendiskriminierung übt hier der so genannte Raumladungseffekt aus [137, 159]. Verlassen die durch das induktiv gekoppelte Plasma erzeugten Ionen den Skimmer (Lochblende), kommt es zur Coulomb-Abstoßung der positiv geladenen Ionen. Dies führt zu einem Transmissionsverlust der Ionen durch die Ionenoptik. Darüber hinaus werden leichte Ionen stärker abgelenkt als schwere, so dass im Ionenstrahl vermehrt schwerere Ionen bleiben. Dieser Effekt bezieht sich nicht nur auf einen Ionenstrahl, welcher Ionen von verschiedenen Elementen mit leichten und schweren Massen enthält, sondern auch auf die unterschiedliche Transmission von leichten und schweren Isotopen des gleichen Elementes. Die Massendiskriminierung ist abhängig von der Probenmatrix und der Höhe des Gesamtionenstroms der durch die ionisierte Probe im ICP gebildet wird [160]. Im Gegensatz zur Thermionenmassenspektrometrie ist die Massendiskriminierung zeit-unabhängig, weil bei ICPMS-Geräten eine kontinuierliche Probenezuführung erfolgt.

Bei der Thermionenmassenspektrometrie ist die unterschiedliche Transmission von Ionen mit verschiedenen m/z sowohl von der Masse als auch von der Zeit abhängig und

wird hier als Massenfraktionierung bezeichnet. Der größte Einfluss auf die Massenfraktionierung wird durch den Verdampfungsprozess der Probe beim Aufheizen des Filaments ausgeübt. Leichte Isotope verdampfen schneller als schwere Isotope. Am Anfang des Verdampfungsprozesses ist demzufolge das gemessene Isotopenverhältnis vom leichteren zum schwereren Isotop größer als der wahre Wert. Während des Verdampfungsprozesses erfolgt mit zunehmender Aufheizrate eine stärkere Abreicherung des leichteren Isotops infolge des Probenverbrauchs. Das Isotopenverhältnis nimmt demzufolge ab und wird gegebenenfalls kleiner als der wahre Wert. [142, 159]. Verschiedene Einflussgrößen, wie zum Beispiel die Probenmenge, Reinheit, chemische Zusammensetzung der Probe, die Technik der Auftragung der Probe auf das Filament sowie das verwendete Filamentmaterial, die Heizrate und Glühtemperatur des Filaments sind Parameter, welche das Ausmaß der Massenfraktionierung bei dem Verdampfungsprozess beeinflussen können [142].

Die instrumentelle Massendiskriminierung bzw. Massenfraktionierung, welche bei ICPMS-Messungen in der Größenordnung von 10^{-2} und bei TIMS-Messungen sehr viel niedriger liegt [153], kann über die Berechnung eines Korrekturfaktors (K-Faktor) korrigiert werden.

$$(3) \quad K = \frac{R_w}{R_m}$$

Der K-Faktor berechnet sich nach Gleichung 3 aus dem Verhältnis des „wahren“ Isotopenverhältnisses R_w , welches in der Regel einem zertifizierten Referenzmaterial oder einem aus IUPAC-Werten ermittelten Isotopenverhältnisses einer Standardlösung gleichgesetzt wird und dem gemessenen Isotopenverhältnis (R_m) des gleichen Materials. Bei der *externen Korrektur* wird dieses Referenzmaterial oder eine Standardlösung mit bekanntem Isotopenverhältnis unter denselben Bedingungen gemessen wie die Probe. Mit diesem K-Faktor wird dann das gleiche Isotopenverhältnis der Probe korrigiert.

Hierbei ist zu beachten, dass vorher separat eine Korrektur der Drift des Ionenstromes durchgeführt und der K-Faktor auf die driftkorrigierten Werte angewendet wird. Eine Driftkorrektur erfolgt bei MC-ICPMS-Messungen häufig mit der so genannten Standard-Bracketing-Methode. Sie wird als externe Standardisierungsmethode bezeichnet, weil hier Standard und Probe immer abwechselnd gemessen werden. Diese Korrekturmöglichkeit ist besonders geeignet, wenn die instrumentelle Massendiskriminierung driftet, so wie es bei ICPMS-Geräten der Fall sein kann und führt zu einer sehr guten Richtigkeit und Präzision des Messergebnisses [150, 154, 159]. Die

externe Korrektur mit der Standard-Bracketing-Methode wurde in dieser Arbeit bei der Bestimmung des $^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ -Isotopenverhältnisses mittels MC-ICPMS angewendet.

Eine Korrektur des Isotopenverhältnisses von Strontium, d.h. der $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte, erfolgte über eine *interne Korrektur*, speziell der internen Normierung. Sie wird häufig dann angewendet, wenn ein Element drei oder mehrere Isotope hat, wovon eines radiogen ist und die anderen nicht. Dann kann davon ausgegangen werden, dass ein Isotopenpaar in der Natur unveränderlich ist und somit ein konstantes Isotopenverhältnis aufweist. Bei der Korrektur des Strontiumisotopenverhältnisses ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) wird üblicherweise angenommen, dass das $^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$ -Isotopenverhältnis konstant ist und einen international anerkannten $R(^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr})$ -Wert von 0,1194 aufweist. In der neuen Literatur [161–164] sind allerdings Hinweise zu finden, dass in der Natur eine Variation des $^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$ -Isotopenverhältnisses auftreten kann, was eventuell bei der Auswertung zukünftiger Arbeiten berücksichtigt werden müsste. In Folge der fortschreitenden Verdampfung der Probe tritt bei der MC-TIMS eine zeitabhängige Massenfraktionierung auf, die leichte Unterschiede von Filament zu Filament aufweisen kann. Die Korrektur der Massenfraktionierung kann bei der internen Normierung durch Berechnung eines K-Faktors ($K = R_w/R_m$) nach den folgenden drei mathematischen Gesetzmäßigkeiten (lineares (4), potentiell (5), exponentielles (6) Gesetz) erfolgen.

$$(4) \quad \text{linear} \quad K_{\text{lin}} = 1 + (\Delta m \times \varepsilon_{\text{lin}})$$

$$(5) \quad \text{potenziell} \quad K_{\text{pot}} = (1 + \varepsilon_{\text{pot}})^{\Delta m}$$

$$(6) \quad \text{exponentiell} \quad K_{\text{exp}} = \exp(\Delta m \times \varepsilon_{\text{exp}})$$

Dabei ist ε der Massenfraktionierungsfaktor und Δm die Massendifferenz zwischen den beiden betrachteten Isotopen für die Berechnung des R-Wertes (Beispiel: für das $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ -Isotopenverhältnis ist $\Delta m = 1$ und für das $^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$ -Isotopenverhältnis ist $\Delta m = -2$). Bei der linearen und der potenziellen Gleichung wird angenommen, dass die Massenfraktionierung abhängig von der Massendifferenz und unabhängig von der Masse selbst ist. Bei sehr präzisen Messungen sowie bei Elementen mit großer Massendifferenz der betrachteten Isotope tritt jedoch eine Abhängigkeit der Massenfraktionierung von der Masse auf. Alle drei Gesetze geben ähnlich gute Ergebnisse,

wenn der Massenfraktionierungsfaktor (ϵ) hinreichend klein ist. Bei größeren Massenfraktionierungsfaktoren werden jedoch in der Regel das potentielle und exponentielle Gesetz angewendet [154].

Viel gravierender als die instrumentelle Massenfraktionierung ist der Einfluss auf das Strontiumisotopenverhältnis ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) durch eine auftretende isobare Interferenz von ^{87}Rb . Obwohl vor der Bestimmung der Isotopenverhältnisse generell eine Matrixabtrennung durchgeführt und Rb bei der MC-TIMS vorher verdampft wurde, erfolgte zur Sicherheit dennoch eine Rb-Korrektur bei der Auswertung der Messsignale unter Berücksichtigung der auftretenden Massenfraktionierung sowohl für die Rubidium- als auch für die Strontiumisotope (siehe Kapitel 4.6.3).

3.2.4 Weitere Einflussgrößen

Ein weiterer Parameter, welcher die Richtigkeit und Präzision von Isotopenverhältnismessungen beeinflussen kann, ist die *Detektortotzeit*. Faraday-Detektoren sind von diesem Phänomen nicht betroffen, da hier direkt die Ionenströme detektiert werden. Detektortotzeiten treten vor allen Dingen bei Ionenzähl-detektoren (SEM, CEM) auf. Sie spielen eine große Rolle bei ICPMS-Geräten, wenn die Ionenzählraten größer als $10^5/\text{s}$ sind. In diesem Bereich kann es passieren, dass vom Detektor weniger Ionen gezählt werden, als tatsächlich auftreten. Der Detektor ist in diesem Fall überlastet und daher teilweise blind für ankommende Ionen. Das Ausmaß ist abhängig vom Detektor selbst aber auch von der Zählelektronik. Eine Korrektur der Detektortotzeit ist immer dann erforderlich, wenn Isotopenverhältnisse ungleich eins bestimmt werden [153]. Ein weiterer Parameter, welcher einen Einfluss auf die Messunsicherheit bei der Bestimmung von Isotopenverhältnissen ausübt, ist der Nachbarmasseneffekt. Sie gibt den Anteil der Intensität des Isotops der Masse m an, der zur Nachbarmasse $m \pm 1$ beiträgt. Der Nachbarmasseneffekt liegt normalerweise im Bereich von 10^{-6} . Ein sehr intensiver Ionenstrom von 10^6 auf der einen Masse m führt entsprechend diesem Verhältnis zu einem zusätzlichen Signal auf der Nachbarmasse von 1 cps. Dies stört die Bestimmung von sehr hohen Isotopenverhältnissen (> 100000) oder wenn benachbarte Elemente in sehr hoher Konzentration vorliegen.

Nicht nur die *Konzentration* der Probenmatrix, sondern auch die Konzentration des Analyten, sowie Art und Konzentration der für Verdünnungen verwendeten Säuren können die Ionisierungseigenschaften der Probe und demzufolge die Präzision der

Messung beeinflussen [154]. Aus diesem Grund ist es besonders wichtig, eine sorgfältige Analyt-Matrix-Trennung durchzuführen und die Isotopenverhältnisse sowohl der verwendeten Referenz- bzw. Standardlösungen als auch der Probenlösungen unter gleichen Messbedingungen, d.h. in ähnlichen Konzentrationsbereichen und mit gleichen Massenspektrometer-Parametern zu bestimmen.

3.3 Standard- und Referenzmaterialien

3.3.1 Standard- und Referenzmaterialien für die Bestimmung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnisse

In *Tabelle 7* wird ein Überblick über die primären Referenzmaterialien gegeben, die bei der Bestimmung der Isotopenverhältnisse der leichten Elemente mittels IRMS eingesetzt werden. In der Vergangenheit stand für die Bestimmung des Kohlenstoffisotopenverhältnisses $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ das fossile Calciumcarbonat (Pee Dee Belemnite, PDB) und für das Stickstoffisotopenverhältnis $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ atmosphärischer Stickstoff (N_2 -Air) zur Verfügung. Aufgrund des Verbrauchs des primären Referenzmaterials PDB wurde von der IAEA ein neues Referenzmaterial das NBS 19-Limestone hergestellt, welches einen δ -Wert von 1,95 ‰ in Bezug auf PDB aufweist. Um zu verdeutlichen, dass sich die experimentell ermittelten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für das Kohlenstoffisotopenverhältnis $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ auf das neue Referenzmaterial NBS 19 beziehen, wurde 1994 die Empfehlung von der IAEA heraus gegeben [165], das Kohlenstoffisotopenverhältnis $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in der Vienna-PDB-Skala (VPDB) anzugeben.

Tabelle 7: Isotopenverhältnisse der primären Referenzmaterialien [166]

Primäres Referenzmaterial	Isotope	δ -Wert in ‰	Isotopenverhältnis R
Standard Mean Ocean Water (SMOW)	$^2\text{H}/^1\text{H}$ $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	0	$0,00015576 \pm 0,0000001$ $0,0020052 \pm 0,00000043$
Pee Dee Belemnite (PDB)	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	0	$0,011237 \pm 0,000009$
Atmosphärisches N_2	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	0	$0,036765 \pm 0,0000081$
Canon Diabolo Triolit	$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	0	$0,0450045$

Die von der IAEA erhältlichen international anerkannten Referenzmaterialien können zum Teil nur alle 3 Jahre und in sehr geringen Mengen erworben werden. Für den täglichen Laborbetrieb stehen Sekundärreferenzmaterialien zur Verfügung, die gegen die

Primär- bzw. Sekundärreferenzmaterialien kalibriert sind. Eine Übersicht über diese Standardmaterialien wird in *Tabelle 8* gegeben. Die δ -Werte der Sekundärmaterialien wurden anfangs von der IAEA durch Einpunktkalibrierung ermittelt. Im Jahr 2006 wurde eine Studie von Coplen et al. [165] veröffentlicht in der eine Vielzahl Sekundärreferenzmaterialien mit Hilfe einer Zweipunktkalibrierung unter Angabe von Unsicherheiten neu bestimmt wurden. In dieser Arbeit werden noch die älteren δ -Werte verwendet, um eine durchgängig einheitliche Auswertung zu erhalten.

Tabelle 8: Sekundärstandardmaterialien

Name	Isotopenverhältnis	δ -Wert [‰]	Bezugsstandard	Material
NBS 22	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	-29,7	VPDB	Mineralöl
NBS 22*	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	$-30,031 \pm 0,043$	VPDB	Mineralöl
IAEA-CH-7	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	-31,8	VPDB	PE-Folie
IAEA-CH-7*	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	$-32,151 \pm 0,050$	VPDB	PE-Folie
IAEA-NO-3	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$4,7 \pm 0,2$	Air N ₂	KNO ₃
IAEA-N-1	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$0,4 \pm 0,2$	Air N ₂	(NH ₄) ₂ SO ₄
USGS-40	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	$26,389 \pm 0,042$	VPDB	L-Glutaminsäure
USGS-40	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$-4,5 \pm 0,1$	Air N ₂	L-Glutaminsäure

* Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von NBS 22 Mineralöl und PE-Folie wurden 2006 erneut bestimmt und die Ergebnisse mit ihrer neu berechneten Unsicherheit veröffentlicht [165, 167]. Während der vorliegenden Arbeit wurden noch die älteren Werte ohne Unsicherheiten verwendet.

Bei der IRMS werden die δ -Werte der Proben in Bezug auf ein Referenzgas bestimmt (Gleichung 7). Das Isotopenverhältnis der Probe (R_{Probe}) bzw. des Referenzgases ($R_{\text{Ref.gas}}$) wird aus dem Verhältnis der Ionenströme des jeweiligen Nebenisotops zum leichteren Hauptisotop der Probe bzw. des Referenzgases bestimmt. Für die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes wird Kohlendioxid und für die Bestimmung des $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes Stickstoff als Referenzgas verwendet. Nach jedem Gasflaschenwechsel wurde der δ -Wert mit Hilfe zweier Sekundärreferenzmaterialien mit bekannten δ -Werten (NBS 22 und IAEA-CH-7 für CO₂ bzw. IAEA-NO-3 und IAEA-N-1 für N₂) neu bestimmt.

Aus der Kalibrierung des Referenzgases wird der δ -Wert des Referenzgases gegenüber dem international anerkannten Primärreferenzmaterial nach Gleichung 8 erhalten.

$$(7) \quad \delta_{\text{Ref.gas}}^{\text{Probe}} = \left(\frac{R_{\text{Probe}}}{R_{\text{Ref.gas}}} - 1 \right) \times 1000$$

$$(8) \quad \delta_{\text{Int.Std}}^{\text{Ref.gas}} = \left(\frac{R_{\text{Ref.gas}}}{R_{\text{Int.Std}}} - 1 \right) \times 1000$$

Durch Umstellung von Gleichung 7 und 8 nach $R_{\text{Probe}}/R_{\text{Int.Std}}$ und Einsetzen in Gleichung 7 kann der δ -Wert der Probe im Verhältnis zum internationalen Primärreferenzmaterial nach Gleichung 9 berechnet werden.

$$(9) \quad \delta_{\text{Int.Std}}^{\text{Probe}} = \delta_{\text{Ref.gas}}^{\text{Probe}} + \delta_{\text{Int.Std}}^{\text{Ref.gas}} + \frac{\delta_{\text{Ref.gas}}^{\text{Probe}} \times \delta_{\text{Int.Std}}^{\text{Ref.gas}}}{1000}$$

mit:

$\delta_{\text{Int.Std}}^{\text{Probe}}$ = δ -Wert der Probe in Bezug auf das Primärreferenzmaterial = gesuchte Größe

$\delta_{\text{Ref.gas}}^{\text{Probe}}$ = δ -Wert der Probe in Bezug auf das Referenzgas (Arbeitsstandard) =
Messwert

$\delta_{\text{Int.Std}}^{\text{Ref.gas}}$ = δ -Wert des Referenzgases in Bezug auf das Primärreferenzmaterial =
Messwert

3.3.2 Standard- und Referenzmaterialien für die Bestimmung der Magnesium- und Strontiumisotopenverhältnisse

Die $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte werden nach der Gleichung 1 auf das Standardreferenzmaterial SRM 980 (Magnesiumlösung, Nationales Institut für Standards und Technologie (NIST), Washington USA) bezogen. Das SRM 980 ist seit 1967 kommerziell erhältlich. Zu diesem Zeitpunkt lagen die Messunsicherheiten noch bei 1 bis 2 ‰ [40]. Verschiedene Arbeitsgruppen zeigten jedoch, dass dieses primäre Referenzmaterial inhomogen ist und die in verschiedenen Laboratorien bestimmten Isotopenverhältnisse oftmals außerhalb der angegebenen Unsicherheiten liegen [48, 168]. Darüber hinaus können mittlerweile Messpräzisionen von 0,14 ‰ oder besser erreicht werden [169], so dass das SRM 980 nicht mehr den heutigen Ansprüchen und den technischen Möglichkeiten gerecht wird. Ein neues Referenzmaterial ist jedoch noch nicht erhältlich. In der neueren Literatur [43,

51] wird sich für die Berechnung der δ -Werte häufig auf das in der Arbeitsgruppe von Galy hergestellte und vertriebene Mg-Material DMS-3 [48] bezogen, welches für kosmochemische und geochemische Zwecke brauchbare Mg-Isotopenverhältnisse aufweist. Es wurde als neues Referenzmaterial vorgeschlagen, aber bisher nicht zertifiziert. Für die Berechnung der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte wurden die in dieser Arbeit bestimmten Magnesium-Isotopenverhältnisse auf den IRMM 009 Standard vom IRMM (Institut für Referenzmaterialien und -Messungen, Geel, Belgien) bezogen. Dieses ist eine Magnesium-Lösung, die durch Auflösung des SRM 980 (elementares Magnesium) mit 2 M HNO_3 hergestellt wurde. Das $^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ -Isotopenverhältnis des IRMM 009 Referenzmaterials wird im Zertifikat [170] mit $0,013932 \pm 0,00026$ angegeben.

Für das Strontiumisotopenverhältnis $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ dient als Bezugsgröße das international anerkannte Standardreferenzmaterial SRM 987, ein Strontiumcarbonat vom NIST (Nationales Institut für Standards und Technologie, Washington, USA). Dieses ist das einzige Material, welches für die Bestimmung der Strontiumisotopenverhältnisse zur Verfügung steht. Allerdings wurde in dieser Arbeit nicht der im Zertifikat angegebene $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Wert ($0,71034 \pm 0,00026$) verwendet, sondern ein über Langzeitstudien ermitteltes Isotopenverhältnis von $0,710251 \pm 0,000026$, welches eine kleinere Unsicherheit aufweist [171]). Durch eine CCQM (P105 „Sr isotope ratio measurement“) mit anderen international anerkannten Laboratorien wurde dies bestätigt.

4 Material und Methoden

4.1 Probenübersicht

In den Jahren 2005 und 2006 wurde im Rahmen eines gemeinsamen Projektes zwischen dem BfR und der BAM in Berlin eine Fütterungsstudie mit Holstein-Kühen des Versuchsgutes vom BfR durchgeführt. Dazu wurden regelmäßig verschiedene Rinderproben (Milch, Urin, Faeces, Haar) sowie Futtermittel- und Wasserproben genommen. Hauptsächlich wurden in dieser Arbeit die Proben von der am Anfang des Probenzeitraumes vierjährigen Holstein Kuh mit der internen Nummer 292 untersucht und ausgewertet.



Abbildung 15: Probenherkunft

Des Weiteren wurden im Jahr 2006 regelmäßig Milch-, Urin- und Wasserproben, sowie verschiedene Futtermittel einer Kuh aus Götting an der Ybbs in Niederösterreich gesammelt. Bei der Kuh aus Österreich handelte es sich um ein fünf Jahre altes Fleckvieh, welches unter ökologischen Bedingungen gehalten wurde. Die Lage der beiden Standorte Berlin und Götting wird in *Abbildung 15* gezeigt.

4.1.1 Futter- und Probenübersicht für Proben aus Berlin (2005)

Vom 25. April 2005 bis zum 17. Juni 2005 wurden dreimal wöchentlich, jeweils montags, mittwochs und freitags, jeden Morgen gegen 5:00 Uhr Milch-, Urin-, Faeces- und Wasserproben der Kuh 292, sowie die Sammelmilch von 8 Rindern des Versuchsgutes des BfR genommen. In den ersten vierzehn Tagen der Probennahme wurden zusätzlich jeden Mittwochmittag und -abend Proben genommen, um Isotopenschwankungen innerhalb eines Tages zu bestimmen. Vom 17. Juni bis zum 26. Oktober 2005 wurden die Probennahme einmal wöchentlich, jeden Mittwoch gegen 5:00 Uhr morgens durchgeführt. In diesem Probenzeitraum erfolgte nach einer Anfangsperiode mit konstanten Fütterungsbedingungen innerhalb von sieben Tagen (10. bis 17. Mai 2005) eine langsame Futterumstellung, in welcher der Maisanteil der Nahrung um die Hälfte verringert und dafür der Grasanteil der Nahrung erhöht wurde. Vom 18. Mai bis 7. Juli 2005 wurde die Kuh hauptsächlich mit Gras ernährt. Ab dem 08. Juli erfolgte eine

abrupte Rückumstellung der Nahrung von Gras auf Maissilage. Vom 11. bis 26. Juli wurde hauptsächlich Mais (ohne Grünfütterzusatz) gefüttert. Vom 27. Juli bis 11. September 2005 bestand die Nahrung aus 2/3 Maissilage und 1/3 Gras und ab dem 12. September wurden die Rinder wieder hauptsächlich mit Maissilage (ohne Grasanteil) ernährt. *Tabelle 9* zeigt den Futterplan und *Tabelle 10* die untersuchten Proben von den Futterzeiträumen aus dem Jahr 2005. Wie aus *Tabelle 9* ersichtlich ist, erhalten die Rinder außer den Hauptnahrungsmitteln Maissilage und Gras noch weitere Futtermittel, wie Heu und Stroh, Rüben, Zuckerrübenschnitzel, Rapsextraktionsschrot, Sojaextraktionsschrot, Mineralfutter und Kraftfutter. Das Mineralfutter enthält eine Mischung aus verschiedenen Mineralien (Ca, P, Mg, Na, Cu), Vitaminen (A, D3 und E), Melasse und Triticale, eine aus Weizen und Roggen gekreuzte Getreideart. Das Kraftfutter besteht aus einer Mischung verschiedener C₃-Pflanzen (Gerste, Rapsschrot, Sojaschrot, Sojabohnen, Roggen, Melasse, Weizenkleie) in denen Mineralien (Ca, P, Na, Mg, Se, Cu) und Vitamine (A, D3, E) in geringeren Mengen als im Mineralfutter enthalten sind. Weiterhin nehmen die Rinder je nach Tagesform und Temperatur täglich 60–120 L Wasser pro Tag auf.

Tabelle 9: Futterübersicht der Berliner Rinder für 2005

Anteil der Futterkomponente am Gesamtfutter in kg/Tag 2005									
ab (Datum)	18.04.	01.05.	10.05.	18.05.	20.06.	08.07.	11.07	18.7	27.7
Futtermittel	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Maissilage	16	16	8	0	0	9	18	18	12
Gras	0	0	0	29,5	30,5	19,5	0	0	11,3
Heu	1	1	0,5	0	0	0,5	0,5	0,5	0,5
Stroh	1,5	1,5	0,5	0	0	0,5	1	1	1
Rüben	6	6	3	0	0	0	0	0	0
Sojaschrot	0,5	0,5	0,3	0	0	0,5	0,5	0,5	0,5
Rapsschrot	1	1	0,5	0	0	1	1	1	1
Zuckerrübenschnitzel	1	1	1	1,5	1,5	1	1	1	1
Mineralfutter	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Kraftfutter	8	7	7	7	6	6	6	5,5	5,5
Summe [kg]	36	35	21,8	39	39	38,5	29	28,5	33,8
Sonstiges	a	a	b	c	c	a	a	a	a

a: abends Heu und Stroh ad libitum, b: plus Grünfütter ad libitum, c: Grünfütter satt, Heu und Stroh ad libitum

Tabelle 10: Probenübersicht von 2005 für Milch- und Urinproben der Kuh 292 aus Berlin

Futtration	Tag der Proben- nahme	Probennummer MILCH	Probennummer URIN
F1	25.04.2005	1	2
F1	27.04.2005	14	16
F1	29.04.2005	15	33
F2	02.05.2005	47	49
F2	04.05.2005	57	58
F3	11.05.2005	75	77
F3	13.05.2005	82	83
F4	18.05.2005	91	92
F4	20.05.2005	97	98
F4	27.05.2005	119	120
F5	03.06.2005	137	138
F5	10.06.2005	157	158
F5	17.06.2005	174	175
F5	22.06.2005	181	180
F5	29.06.2005	187	186
F5	06.07.2005	193	192
F7	13.07.2005	197	196
F9	27.07.2005	209	208
F9	17.08.2005	227	226
F9	24.08.2005	233	232

4.1.2 Futter- und Probenübersicht für Proben aus Berlin (2006)

Im Jahr 2006 erfolgte ebenfalls eine regelmäßige Probennahme von Futtermitteln, Wasser, Milch und Urin von der Kuh 292 bei unterschiedlichen Fütterungen. Hier traten geringfügige Abweichungen der monatlichen Futterzusammensetzungen im Vergleich zum Vorjahr auf. Um tageszeitliche Schwankungen zu vermeiden, wurden nur die morgendliche Milch und der morgendliche Urin verwendet, welche täglich gegen 5:00 Uhr genommen wurden. In dem Probennahmezeitraum Mai bis September 2006 wurden die Rinder vom Versuchsgut in Berlin mit sechs verschiedenen Futterzusammensetzungen ernährt. *Tabelle 11* gibt eine Übersicht über die tägliche Futtration eines

Rindes im gesamten Probennahmezeitraum. Vom 11. Mai 2006 bis 28. Mai 2006 wurden die Rinder hauptsächlich mit Maissilage gefüttert. In der Zeit vom 29. Mai bis 04. Juni 2006 erfolgte die Umstellung des Futters von Maissilage auf Gras. In dieser Zeit bestand die Nahrung der Rinder jeweils hauptsächlich aus einer halben Ration Maissilage und einer halben Ration Gras. Vom 05. Juni 2006 bis zum 06. Juli 2006 wurden die Rinder hauptsächlich mit Gras und Heu gefüttert. Ab dem 07. Juli 2006 erhielten die Rinder wieder hauptsächlich Maissilage. Die Probenübersicht der Rinderproben aus den verschiedenen Fütterungszeiträumen ist in *Tabelle 12* gegeben.

Tabelle 11: Futterübersicht der Berliner Rinder für 2006

ab (Datum)	Gehalte in kg/Tag 2006					
	11.05.	29.05.	05.06.	07.07.	09.08.	29.09.
Futtermation	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Maissilage	18	9	0	18	18	16
Gras	0	9	29,5	0	0	0
Heu	1	0,5	0	1	1	1
Stroh	1	0,5	0	1	1	1
Rüben	0	0	0	0	0	6
Sojaschrot	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,5
Rapsschrot	1	0,5	0	1	1	1
Zuckerrübenschnitzel	1	1	1	1	1	1
Mineralfutter	1	1	1	1	1	1
Kraffutter	5	6	6	5,5	5,5	4,5
Summe	28,5	28	37,5	29	29	32
Sonstiges	a	a	c	a	a	a

a: abends Heu und Stroh ad libitum, c: Grünfütter satt, Heu und Stroh ad libitum

Tabelle 12: Probenübersicht von 2006 für Milch- und Urinproben der Kuh 292 aus Berlin

Futtration	Tag der Proben- nahme	Probennummer MILCH	Probennummer URIN
F1	22.05.2006	540	537
F1	23.05.2006	550	547
F1	24.05.2006	560	557
F1	26.05.2006	570	567
F1	27.05.2006	580	577
F3	16.06.2006	752	749
F3	21.06.2006	773	770
F3	28.06.2006	805	801
F3	03.07.2006	822	819
F3	05.07.2006	845	842
F4	07.07.2006	864	861
F4	26.07.2006	1036	1033
F4	28.07.2006	1057	1054
F4	02.08.2006	1078	1075
F4	09.08.2006	1108	1105

4.1.3 Futter- und Probenübersicht für Proben aus Göstling an der Ybbs (Österreich) 2006

Vom 16. Mai bis 09. Juni wurden täglich Milch-, Urin-, und Wasserproben einer Kuh aus Göstling an der Ybbs genommen. In der Zeit vom 12. bis 26. Juni 2006 erfolgte die Probennahme nur dreimal pro Woche (montags, mittwochs und freitags) und vom 26. Juni bis 21. Juli nur noch einmal pro Woche jeden Mittwoch. Auch hier wurde darauf geachtet, dass die Probennahme täglich zur gleichen Zeit (ca. 5:00 Uhr) durchgeführt wurde. Eine Übersicht über die analysierten Proben ist in *Tabelle 13* gegeben. In der Zeit vom 16. bis 21. Mai 2006 wurden die Rinder hauptsächlich mit Grassilage, Gerste, Heu und Stroh gefüttert. Ab dem 22. Mai 2006 erfolgte eine abrupte Futteränderung von Grassilage auf frisches Weidegras. Bis zum 12. Juli wurden die Rinder dann hauptsächlich mit frischem Gras ernährt. Zusätzlich erhielten die Rinder zwei- bis dreimal pro Woche maximal 200 g Mineralfutter. Je nach Bedarf wurden drei verschiedene Mineralfutter eingesetzt. Diese unterscheiden sich nur in den Mineralgehalten und

-zusammensetzungen. Neben den Mineralien Ca, P, Na, Mg, Zn, Mn, Cu, I, Co und Se sind keine organischen Zusätze enthalten. Der tägliche Wasserbedarf betrug ca. 40–100 L. Eine genaue Aufstellung oder eine Abschätzung für die prozentuale Zusammensetzung der einzelnen Futterkomponenten am Gesamtfutter kann nach Rücksprache mit dem Bauern aus Göstling leider nicht angegeben werden. Der Bauer aus Göstling ist Mitglied beim BIO-Austria-Verband, welcher sich unter anderem an die EG Verordnung Ökologischer Landbau (EG) Nr. 889/2008 hält. Aus diesem Grund ist anzunehmen, dass das Futter mindestens aus 60 % Weidegang bzw. Grünfutter in den Sommermonaten und 60 % Grassilage in den Wintermonaten bestand.

Tabelle 13: Probenübersicht von 2006 für Milch- und Urinproben Göstling (Österreich)

Tag der Probennahme	Probennummer MILCH	Probennummer URIN	Hauptfutterkomponente
16.05.2006	M1-At	U1-At	
18.05.2006	M3-At	U3-At	Grassilage
21.05.2006	M6-At	U6-At	
05.06.2006	M21-At	U21-At	
07.06.2006	M23-At	U23-At	
09.06.2006	M25-At	U25-At	
12.06.2006	M26-At	U26-At	frisches
14.06.2006	M27-At	U27-At	Weidegras
19.06.2006	M29-At	U29-At	
21.06.2006	M30-At	U30-At	
26.06.2006	M32-At	U32-At	
05.07.2006	M33-At	U33-At	
12.07.2006	M34-At	U34-At	
21.07.2006	M35-At	U35-At	

4.1.4 Probennahme und -lagerung

Die Probennahme der Milch- und Urinproben am Versuchsgut in Berlin Marienfelde erfolgte direkt in gereinigte 250 mL PE-Flaschen. Nach der Probennahme wurden die Proben vom Versuchsgut an das BfR in Berlin Lichterfelde West geliefert. Dort wurden sie abgeholt, an der BAM jeweils in zweimal vorgereinigte 100 mL PE-Flaschen umgefüllt

und bei -20 °C eingefroren. Die Wasserproben wurden ebenfalls in 250 mL PE-Flaschen gefüllt, an der BAM zusätzlich mit Parafilm verschlossen und bei Raumtemperatur im Lagerschrank in Tüten eingepackt gelagert. Die Faecesproben wurden auf dem Versuchsgut in Tüten eingeschweißt und nach Anlieferung ebenfalls bei -20 °C eingefroren. Die Haarproben wurden in verschließbaren Tüten bei Raumtemperatur gelagert.

Die Milch-, Urin- und Wasserproben aus Göstling (Österreich) wurden direkt nach der Probennahme vor Ort in 250 mL PE-Flaschen abgefüllt und bei -20 °C eingefroren. Anschließend erfolgte ohne Unterbrechung der Kühlung der Transport an die BAM, wo die Proben bis zur Analyse bei -20 °C aufbewahrt wurden.

4.2 Arbeitsmittel und Chemikalien

4.2.1 Reinigung

Alle Arbeiten wurden unter Reinraumabzügen durchgeführt und alle Arbeitsmaterialien vor ihrer Verwendung einer Reinigung unterzogen. Die für die Lyophilisierung verwendeten PFA-Becher und Quarzglaskolben wurden zunächst mehrmals mit Reinstwasser gespült und anschließend drei Tage in ein 10 %iges HNO_3 (p. A.)-Säurebad eingelegt. Anschließend wurden sie erneut mit Reinstwasser gespült. Die PE-Flaschen, welche für die Probennahme verwendet wurden, sowie die ICP-Messröhrchen (Firma Falken und Grainer) wurden durch mehrmaliges Spülen und Schütteln mit Reinstwasser, Zwischenspülen mit 2 %iger HNO_3 (p. A.) und Nachspülen mit Reinstwasser gereinigt. Für die Reinigung der Mikrowellengefäße wurde nach mehrmaligem Spülen mit Reinstwasser zunächst ein Säureaufschluss mit 7,5 mL HNO_3 und 7,5 ml Reinstwasser durchgeführt. Nach einem Zwischenspülgang mit Reinstwasser wurde ein weiterer Aufschluss mit 15 ml Reinstwasser durchgeführt und im Anschluss daran die Mikrowellengefäße mit Reinstwasser nachgespült. Die Quarzglasschalen und -deckel, die bei der Probenveraschung verwendet wurden und die HPA-Quarzglasgefäße wurden in einer Ausdampfapparatur (Terminal 20, MLS GmbH, Leutkirch) gereinigt. Bei der Gefäßreinigung mit Hilfe einer Ausdampfapparatur werden die Gefäßinnenwände kontinuierlich mit frischem heißem Säuredampf gespült. Nach einer Spülung mit Reinstwasser werden die Quarzoberflächen mit Reinstwasser abgesättigt, wobei es zu einer Verringerung von Verlusten des Analyten durch Adsorption kommt. In der Praxis wurden die Gefäße 1 h mit HNO_3 ausgedämpft und nach ca. 2 h Abkühlen mit

Reinstwasser nachgespült. Zur Trocknung wurden alle Arbeitsmittel in Plastikboxen verpackt und im Trockenschrank bei 50 °C über Nacht getrocknet. Die Boxen wurden anschließend in PE-Tüten verpackt gelagert.

4.2.2 Verwendete Laborgeräte

Zur Probeneinwaage für die nasschemischen Aufreinigungsschritte wurde die Analysenwaage AX 205, sowie die Elektromechanische Waage H 315 der Firma Mettler-Toledo (Greifensee, Schweiz) genutzt. Zur Probeneinwaage lyophilisierter Proben für die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel wurde die Analysenwaage MX5 der Firma Mettler-Toledo verwendet.

Das Reinstwasser wurde aus einer Milli-Q[®] Gradient A10 Anlage der Firma Millipore (Millipore GmbH, Schwalbach) bezogen.

Für alle relevanten Analysen wurden Säuren verwendet (Salpetersäure, p. A.; Salzsäure, p. A.; Merck KGaA, Darmstadt), welche vorher über eine zweistufige Destillation gereinigt wurden. Die erste Stufe wurde mit einer Quarzglasdestille (Kürner Analystechnik, Rosenheim) durchgeführt und das Destillat aus dieser Zwischenstufe in einer PTFE-Apparatur (BSB-930-IR, Berghof Products + Instruments GmbH, Eningen) erneut destilliert. Da die Destillationstemperatur unterhalb der Siedepunkte der verwendeten Säuren liegt, wird das Verfahren auch als so genannte „subboiling (s.b.)“ Destillation bezeichnet. Die daraus erhaltenen Säuren werden demzufolge mit dem Zusatz s.b. versehen.

4.3 Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung gliedert sich in drei Schritte. Zuerst wurden die Milch- und Urinproben lyophilisiert und die Futtermittel fein gemahlen. Die lyophilisierten und gemahlene Proben konnten dann direkt für die Bestimmung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnisse mittels IRMS verwendet werden. Für die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Magnesium mittels MC-ICPMS und Strontium mittels MC-TIMS war eine aufwendige Probenaufarbeitung notwendig, da zur Vermeidung von Interferenzproblemen und sonstigen Matrixeffekten (siehe Kapitel 2.4), besonders aufgereinigte Analyten zur Verfügung stehen mussten. Nach der Lyophilisierung erfolgte ein Probenaufschluss zur Überführung der Probe in die für die Bestimmung notwendige

Form. Danach schloss sich eine ionenchromatographische Analyt-Matrix-Trennung an. Im Folgenden werden die einzelnen Schritte genauer beschrieben.

4.3.1 Gefriertrocknung von Milch und Urin

Zur besseren Handhabung und Lagerung wurden die Milch- und Urinproben von 2005 mit dem Lyophilisator am BfR des Typs Lyovac GT2 von der Firma Steris (Hürth) gefriertrocknet. Für die Proben von 2006 wurde ein Lyophilisator an der BAM vom Typ Alpha 2-4 LSC der Firma Christ (Osterode am Harz) zur Verfügung gestellt. Die lyophilisierten Milch- und Urinproben wurden direkt für die Bestimmung der Isotopenverhältnisse der leichten Elemente Kohlenstoff und Stickstoff verwendet.

Für die Lyophilisierung wurden die eingefrorenen Proben zwei bis drei Stunden im Wasserbad aufgetaut. Nach mehrmaligem Schütteln der Flaschen wurden 30 ml Milch bzw. Urin entnommen und in PFA-Becher gefüllt. Die Proben von 2005 wurden dann am BfR für zwei bis drei Tage bei -80 °C eingefroren. Die Proben von 2006, bei denen die Lyophilisierung an der BAM erfolgte, wurden über Nacht bei -20 °C eingefroren und am nächsten Tag vor Beginn der Lyophilisierung zur zusätzlichen Kühlung in flüssigen Stickstoff getaucht. Die PFA-Behälter wurden anschließend auf vorgekühlte Stellflächen im Innenraum des Lyophilisators gestellt. Die Milchproben von 2006 wurden aber auch zum Teil in Glaskolben von 100 mL gefüllt, durch Drehen des Kolbens in flüssigen Stickstoff eingefroren und direkt über eine spezielle Schlauchverbindung des Lyophilisators angeschlossen. Für die Urinproben wurden nur zu Beginn für Testzwecke Glaskolben verwendet. Da sich das stark hygroskopische Urinpulver am Ende der Trocknung nicht mehr von der Gefäßwand entfernen ließ, wurde die Lyophilisierung von Urin dann in PFA-Schalen durchgeführt. Die Lyophilisierung von Urinproben mit dem Lyophilisator der BAM stellte sich als schwierig heraus, da die Proben während des Prozesses mehrmals auftauten. Aus diesem Grunde musste der Trocknungsvorgang mehrmals unterbrochen und die Proben erneut mit Hilfe von flüssigem Stickstoff eingefroren werden. *Tabelle 14* gibt eine Übersicht über den Ablauf der verwendeten Gefriertrocknungsprogramme. Bei der Nachrocknung wird der maximal erreichbare Druck p eingestellt. Der Trocknungsprozess ist beendet, wenn der Solldruck p_{\max} bei der Nachrocknung von 0,08 mbar erreicht ist.

Tabelle 14: Druckprogramm für die Lyophilisierung von Milch und Urin

MILCH		URIN		
Zeit	p in mbar	Zeit	p in mbar	
Haupttrocknung				
4 h	0,80	p1	10 min	4,4
20 h	0,14	p2	5 min	1,7
		p3	5 min	0,8
		p4	5 h	0,6
		p5	14 h	0,1
		Nachtrocknung		
4 h	0,085	p _{max.}	24 h	0,085

4.3.2 Mahlung der Futtermittel

Für die Zerkleinerung der Futtermittel wurde eine Rotor-Schnellmühle des Typs „Pulverisette 14“ der Firma Fritsch (Fritsch GmbH, Idar-Oberstein) verwendet. Für die Mahlung wurde der Umrüstsatz für eisenfreie Mahlung eingesetzt, um Metallverunreinigungen durch Abrieb beim Mahlen ausschließen zu können. Der Umrüstsatz beinhaltet einen Schlagrotor mit 12 Rippen und Trapezloch-Siebringe (0,2 mm und 1 mm) aus Reintitan. Der Deckel und das Auffanggefäß sind mit PTFE beschichtet. Das Mahlgut wird über einen Trichter kontinuierlich dem Mahlraum zugeführt und durch die hohe Drehzahl des Rotors radial nach außen beschleunigt. Dort wird es durch Prallwirkung an dem schnell laufenden Rotor mit angeformten Rippen zerkleinert. Scherung und Reibung der scharfkantigen Zähne des Rotors mit dem eingesetzten Sieb sorgen für eine zusätzliche Mahlung. Zur Vorzerkleinerung wurde das Mahlgut mit einem 1 mm-Trapezloch-Siebring gemahlen und für die Endzerkleinerung ein 0,2 mm-Trapezloch-Siebring verwendet.

4.4 Probenaufschluss

Um die Analyten der Probe vollständig in Lösung zu bringen und die organische Matrix zu zerstören wurden für die Milch-, Urinproben und Futtermittel verschiedene Aufschluss-techniken angewendet.

- Mikrowelle: ETHOS 1600 von MLS (MLS GmbH, Leutkirch)
- Hochdruckverascher: high pressure asher (HPA) der Firma Kürner (Kürner Analystechnik, Rosenheim)
- Mikrowellenveraschung: START-pyroFAST 1500 von MLS (MLS GmbH, Leutkirch)

4.4.1 Mikrowellenaufschluss

Beim Mikrowellenaufschluss handelt es sich um einen nasschemischen Aufschluss im geschlossenen System. Geschlossene Systeme bieten den Vorteil, dass das Oxidationsvermögen der Salpetersäure, welches häufig als Aufschlussreagenz dient, erhöht wird und Temperaturen erreicht werden können, die deutlich oberhalb des Siedepunktes der Salpetersäure (120–250 °C) liegen. Durch Zugabe von Wasserstoffperoxid wird darüber hinaus das Oxidationspotential der Salpetersäure verstärkt und die Zersetzung von organischen Materialien begünstigt. Des Weiteren wird der Gefäßinnendruck vermindert, weil H_2O_2 mit den beim Aufschluss entstehenden nitrosen Gasen zu Salpetersäure reagiert.

Der Mikrowellenaufschluss wurde auf einen Teil der lyophilisierten Milchproben sowie die Futtermittel angewendet. Urinproben wurden anfangs ebenfalls mit der Mikrowelle aufgeschlossen. Hier zeigte sich aber, dass der Aufschluss unvollständig war und der Aufschluss mit dem HPA besser geeignet ist. Beim Mikrowellenaufschluss werden die Proben direkt in die Mikrowellengefäße eingewogen, gegebenenfalls mit Reinstwasser und mit den Aufschlussreagenzien (96 %ige Salpetersäure, 31 %ige Wasserstoffperoxidlösung, Merck, Darmstadt) versetzt. *Tabelle 15* gibt eine Übersicht über die verwendeten Probeneinwaagen und den Mengen der Aufschlussreagenzien.

Tabelle 15: Zusammensetzung der Aufschlusslösung für den Mikrowellenaufschluss

Probe	Einwaage	Aufschlussreagenzien in mL		
		H ₂ O	HNO ₃	H ₂ O ₂
Milchpulver (s)	0,4 g	4	6	4
Urin (aq)	2,5 mL	4	8	4
Futtermittel (s)	0,4 g	10	8	3

Nach Abklingen der Anfangsreaktion, z.B. durch Denaturierung der Proteine in der Milch, bei Raumtemperatur wurden die Probengefäße mit einem Deckel verschlossen, in einen schützenden, druckfesten PEEK-Mantel eingesetzt und gasdicht verschraubt. Die so genannten „Druckbomben“ besitzen als Explosionssicherung ein Überdruckventil, welches bei zu heftigen Reaktionen das Reaktionsgefäß öffnet. Der Aufschluss erfolgt nach einem genau auf die Probe abgestimmten Mikrowellenprogramm, dessen Temperatur und Druckverlauf auch während des Aufschlusses mitverfolgt werden konnte. In *Tabelle 16* und *Tabelle 17* wird eine Übersicht über die verwendeten Mikrowellenprogramme für den Aufschluss der Milch- und Futtermittelproben gegeben.

Tabelle 16: Mikrowellenprogramm für Milch und Urin

$T_{\text{Anfang}} - T_{\text{Ende}}$ in °C	Aufheizzeit in min.	Leistung in W
RT–80	12	600
80–88	7	1000
88–105	5	600
105–105	3	1000
105–223	12	1000
223–223	30	800

Da gerade bei den Milchproben in der ersten Viertelstunde mit heftigen spontan induzierten exothermen Reaktionen zu rechnen war und eine Überhitzung der Probengefäße vermieden werden sollte, wurden nie mehr als fünf Proben gleichzeitig aufgeschlossen. Nach Ablauf des Mikrowellenprogramms wurde 20 min ventiliert. Die Probengefäße wurden bei einer maximalen Temperatur von 40°C ausgebaut und in PFA-Becher umgefüllt.

Tabelle 17: Mikrowellenprogramm für Futtermittel

$T_{\text{Anfang}} - T_{\text{Ende}}$ in °C	Aufheizzeit in min.	Leistung in W
RT–85	3	600
145–145	9	1000
145–200	4	600
200–200	14	1000

4.4.2 Hochdruckveraschung

Für die Hochdruckveraschung wurde die Probe in einen für den HPA (high pressure asher) vorgesehenen Quarzglasbehälter eingewogen und mit Salpetersäure als Oxidationsmittel versetzt. Nach Abklingen der Anfangsreaktion wurde der Behälter durch mehrmaliges Umwickeln mit PTFE-Band fest verschlossen, anschließend in den HPA-Einsatz aus Aluminium eingesetzt und in den HPA gestellt. Nach Schließen des Druckbehälters wurde ein Stickstoffdruck von 100 bar angelegt, so dass der Druck im Probengefäß überkompensiert wurde. Zur Steuerung des Aufschlussablaufs diente ein Temperaturprogramm. Während des Aufschlusses wurden sowohl der Druck als auch die Temperatur überwacht. Nach Abkühlung der Urinproben im HPA auf maximal 40°C erfolgte deren Umfüllen in PFA-Becher. Für die Aufschlüsse der Urinproben wurden flüssigen Proben verwendet, da eine genaue Einwaage lyophilisierter Proben aufgrund der hygroskopischen Eigenschaften nur schwer möglich war und darüber hinaus nur sehr geringe Mengen lyophilisierter Urinproben zur Verfügung standen. Für den Urinaufschluss mit dem HPA wurden 2,5 mL Urin mit 5 mL HNO₃ versetzt und das Temperaturprogramm aus *Tabelle 18* durchgeführt.

Der Vorteil des Hochdruckveraschers gegenüber dem Mikrowellenaufschluss liegt darin, dass durch den höheren Druck deutlich höhere Temperaturen auch über einen längeren Zeitraum erreicht werden, wodurch eine Zersetzung von schwer aufschließbaren organischen Materialien erreicht werden kann. Mit dem HPA-Aufschluss konnten die Urinproben vollständig aufgeschlossen werden, was mit dem Mikrowellenaufschluss nicht möglich war.

Tabelle 18: Temperaturprogramm für den HPA-Aufschluss der Urinproben

T in °C	Aufheizzeit in min.
RT	60
200	120
200	60

4.4.3 Mikrowellen-unterstützte Veraschung

Eine Veraschung durch Mikrowellenstrahlung ermöglicht im Vergleich zum üblichen Muffelofen eine schnellere und direktere Probenverbrennung. Neben der direkten Erwärmung durch Mikrowellen wird die Probe zusätzlich durch IR-Strahlung erhitzt. Der Vorteil gegenüber dem reinen Mikrowellenaufschluss liegt in einer großen Zeitersparnis und einer Verringerung von Kontaminationsmöglichkeiten, da keine Aufschlusschemikalien oder -säuren erforderlich sind. Längere Wartezeiten durch Abkühlungsvorgänge entfallen und die veraschte Probe kann direkt für weitere Probenvorbereitungsschritte ohne vorheriges Eindampfen von Lösungsmittel verwendet werden. Die trockene Veraschung beinhaltet auch einige Nachteile. So ist bei Temperaturen größer 500 °C oft mit Probenverluste durch leichtflüchtige Verbindungen (z.B. der Halogene) oder Verluste durch Einbrennen der Aschebestandteile in der Gefäßwand zu rechnen. Im Falle des Milchpulvers konnten aber keine Verluste der zu untersuchenden Analyten (Magnesium und Strontium) festgestellt werden, so dass die Veraschung auch bei Temperaturen bis 800 °C stattfinden konnte. Als weiterer Nachteil wird oft auf die Unvollständigkeit der Verbrennung hingewiesen [172]. Auch dies konnte bei der Veraschung der Milchpulverproben nicht festgestellt werden. Lyophilisierte Urinproben wurden nicht durch Veraschung aufgeschlossen, weil dafür nicht genügend Material zur Verfügung stand. Flüssige, also nicht lyophilisierte Proben sind aufgrund der Verspritzgefahr nicht so gut für die Veraschung geeignet. Für die Futtermittel hat sich wegen des unvollständigen Ablaufes der Veraschung der Mikrowellenaufschluss als beste Methode herausgestellt.

Für die Veraschung lyophilisierter Milch wurden jeweils 0,4 g Probe in Quarzschalen eingewogen. Diese wurden mit einem Quarzdeckel verschlossen, um Verstäubung der Asche im Zuge der zum Teil heftigen Verbrennung zu vermeiden. Anschließend erfolgte das kontrollierte Aufheizen der Proben (Tabelle 19).

Tabelle 19: Temperaturprogramm für die Veraschung

$T_{\text{Anfang}}-T_{\text{Ende}}$ in °C	Aufheizzeit in min.
RT–200	10
200–200	40
200–500	15
500–500	30
500–800	15
800–800	120

4.5 Analyt-Matrix-Trennung

Ein Hauptteil der vorliegenden Arbeit entfiel auf die Entwicklung von Analyt-Matrix-Trennungen für die präzise Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Magnesium ($^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$) und Strontium ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) in verschiedenen Rinder- und Futtermittelproben. Die Vermeidung von Interferenz- bzw. Matrixproblemen und somit eine unverfälschte Isotopenbestimmung gelingt nur, wenn das betrachtete Element als besonders reiner Analyt vorliegt. Wie bereits in Kapitel 3.2.2 erwähnt wurde, kann bei der Bestimmung von $^{24}\text{Mg}^+$ eine isobare Interferenz durch das Calciumion $^{48}\text{Ca}^{2+}$ auftreten. Calcium und Magnesium zählen neben Natrium und Kalium zu den Hauptelementen in Milch, Urin und Futtermitteln. Sie weisen Gehalte im Bereich von mg/kg (Ca, Mg) bzw. g/kg (Na, K) auf. Rubidium und Strontium liegen in den Realproben im unteren $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereich als Spurenelemente vor. Eine präzise Bestimmung des Strontiumisotopenverhältnisses ist maßgeblich vom Rb/Sr-Verhältnis in den Proben abhängig, da auf der Masse von ^{87}Sr eine isobare Interferenz von ^{87}Rb auftritt. Die einzelnen Optimierungsschritte der Analyt-Matrix-Trennung werden hier nicht erläutert. Im Folgenden werden nur die Ergebnisse der Entwicklungen dargestellt.

4.5.1 Experimentelle Durchführung der Analyt-Matrix-Trennung

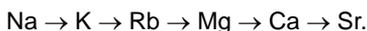
Die Magnesiumabtrennung erfolgte mit dem Kationenaustauscher AG50 W-X-12 (200–400 mesh, Firma BIORAD, USA). Dieser wurde vor seiner Benutzung in Wasser aufgeschlämmt und gelagert. Für die Magnesiumabtrennung wurden Kunststoffsäulen (\varnothing 0,7 cm, h = 20 cm) verwendet, welche mit einer Fritte und einem Trichter versehen wurden. Die Säulen wurden bis zu einer Höhe von 2 cm mit dem Kationenaustauscher

gefüllt und zunächst mit 20 mL HCl (30%) konditioniert. Anschließend erfolgte die Equilibrierung mit 20 mL 0,3 M HCl. Zur Vorbereitung der Magnesiumabtrennungen wurden die aufgeschlossenen Proben zunächst eingetrocknet und zweimal mit 0,5 mL HCl (30%) abgeraucht. In Anschluss daran wurden die Proben in dem zuerst verwendeten Elutionsmittel (10 mL 0,3 M HCl) aufgenommen und auf die präparierte Säule gegeben. Das Trennschema ist in *Tabelle 20* wiedergegeben. Die einzelnen Fraktionen wurden in PFA-Bechern aufgefangen, die Lösungen anschließend eingetrocknet, jeweils zweimal mit 0,5 mL HNO₃ abgeraucht und zur Überprüfung der Trennung mit 2 %iger HNO₃ in Messröhrchen verdünnt.

Tabelle 20: Trennschema für die ionenchromatographische Analyt-Matrix-Trennung von Magnesium und Strontium

	Austauscher, Füllhöhe	Fraktion	Elutionsablauf	abgetrennte Elemente
Mg	AG50 W-X12, 2 cm	Mg 0	10 mL Probe in 0,3 M HCl + 0,3 M HCl (6 × 5 mL) + 0,7 M HCl (2 mL)	Na, K, (Rb)
		Mg 1	0,7 M HCl (4 × 5 mL)	Mg Ca, Sr
		Mg 2	2,0 M HCl (5 × 10 mL)	
Sr	Sr-Austauscher, 400 µL	Sr 0	3 M HNO ₃ (7 × 0,4 mL)	Ca, Rb Sr
		Sr 1	0,05 M HNO ₃ (10 × 0,4 mL)	

Die Austauscheraffinität nimmt mit zunehmender Ladung und abnehmender Größe hydratisierter Ionen zu [173]. Die Elemente eluieren in der Reihenfolge



Aufgrund der chemischen Ähnlichkeit von Calcium und Strontium und dem hohen Überschuss an Calcium in den Proben, war eine Trennung von Ca und Sr mit dem Kationenaustauscher AG50 W-X12 nicht möglich. Die Verwendung einer 2 M HCl am Ende der Mg-Trennung führte zu einer nahezu gleichzeitigen Elution von Calcium und Strontium. Diese Fraktion wurde daher gesammelt und für eine separate Strontiumtrennung weiterverarbeitet.

Die Strontiumabtrennung wurde mit einem speziell dafür entwickelten Austauscher (Sr-Resin, 100–150 µmesh, Firma EICHROM) durchgeführt. Dieser wurde vor seiner Anwendung mit Wasser aufgeschlemmt und gelagert. Für die Abtrennung wurden vorgefertigte Mini-Säulen (0,5 mL) inklusiver Fritte der Firma Evergreen Scientific

(USA) verwendet. Diese wurden vor Benutzung über Nacht in einem verschlossenen PFA-Behälter mit HCl/H₂O (1:1) bei 60 °C ausgekocht und anschließend mehrmals mit Reinstwasser ausgespült. Die Säulen wurden vor Einbringung des Sr-spezifischen Austauschermaterials zehnmals mit Reinstwasser vorgereinigt und anschließend mit 400 µL Sr-Resin gefüllt. Die Konditionierung des Austauscherharzes erfolgte mit 5 × 0,4 mL 3 M HNO₃. Zur Probenvorbereitung für die Sr-Abtrennung wurde die Fraktion „Mg 2“ aus der Magnesiumabtrennung eingetrocknet und zweimal mit 0,5 mL HNO₃ (65%ig) abgeraucht. Im Anschluss daran wurden die Proben in 350 µL 3 M HNO₃ aufgenommen und auf die präparierte Säule gegeben. Die Säulen wurden am Auslauf mit Parafilm verschlossen, so dass die Proben 20 Minuten mit dem Austauscherharz wechselwirken konnten. Im Anschluss daran wurde die Elution nach dem in *Tabelle 20* aufgeführten Elutionsschema durchgeführt.

Bei der Strontiumabtrennung mit dem spezifischen Sr-Austauscher handelt es sich um ein robustes und vielfach bei geologischen Untersuchungen angewendetes Trennverfahren. Dort liegt das Augenmerk nicht auf einer vollständigen Sr-Ausbeute, sondern auf einer möglichst vollständigen Abtrennung von Rubidium. Bei der hier aufgezeigten Sr-Abtrennung wird eine Sr-Ausbeute von ca. 20–40 % erreicht. Eigene Arbeiten zeigten, dass die Ausbeute durch Verwendung von 500 mg Austauschermaterial auf ca. 70 % erhöht werden kann. Eine hohe Ausbeute spielt jedoch bei Verwendung des Sr-spezifischen Austauschers keine große Rolle, da keine Isotopenfraktionierungen durch das Austauschermaterial auftreten (siehe Kapitel 5.1). Der Vorteil der zweistufigen Trennung mit AG50W-X-12 und der nachfolgenden Verwendung des Sr-spezifischen Austauschers ist, dass bei der Mg-Abtrennung die Hauptelemente, insbesondere ein Großteil Rubidium, aus der Matrix entfernt werden und somit geringe Austauschermengen von 400 µL völlig ausreichen, um eine gute Rb/Sr-Abtrennung zu erreichen. Der Erfolg oder Nichterfolg einer Rb/Sr-Trennung wird direkt aus dem Messverlauf bei der Isotopenverhältnisbestimmung sichtbar. Aufgrund der relativ geringen Strontiumausbeute im Verlauf der zweistufigen Abtrennung wurde die gesamte Sr-Fraktion (Sr 2) für die MC-TIMS Messung verwendet. Um weitere Verluste zu vermeiden wurde keine Elementgehaltsbestimmung in der Sr-Fraktion (Sr 2) durchgeführt. Die Fraktion Sr 1 wurde nur für die Bestimmung der Elementgehalte verwendet und anschließend entsorgt.

Die Überprüfung der Trennung erfolgte durch Bestimmung der Elementgehalte in den einzelnen aufgefangenen Fraktionen mittels ICP-OES (OPTIMA 3000, Perkin Elmer)

und HR-ICPMS (Element XR, Finnigan™, Thermo Electron GmbH, Bremen). Für die Kalibrierung wurde eine Standardlösung aus folgenden Einzellösungen hergestellt, in der jedes der Metalle (Sr, Rb, Ca, Mg, K, Na) mit einer Konzentration von 100 mg kg^{-1} vorlag.

4.5.2 Ergebnisse der Analyt-Matrix-Trennung

Die ionenchromatographische Abtrennung von Magnesium wurde soweit optimiert, dass in den Milchproben Magnesium-Ausbeuten von $100 \pm 5 \%$ und eine deutliche Verringerung des M/Mg-Verhältnisses auf $\leq 0,5$ (M = Na, K) erreicht wurden.

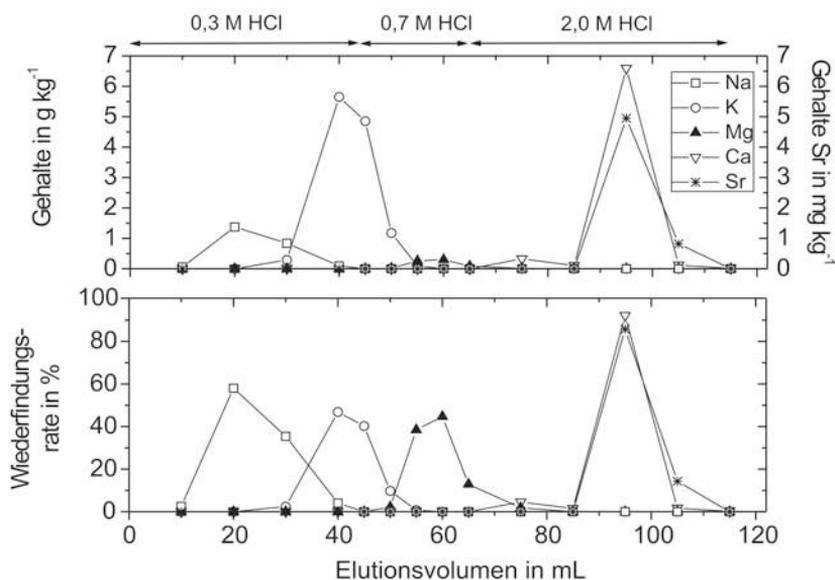


Abbildung 16: Analyt-Matrix-Trennung für Magnesium am Beispiel einer Milchprobe.

In *Abbildung 16* ist das Elutionsprofil mit den Elementgehalten und typischen prozentualen Wiederfindungsraten für die einzelnen Elemente an einem repräsentativen Beispiel einer Milchprobe vom Versuchsgut in Berlin dargestellt. Eine hohe Magnesiumausbeute ist für die Analysen entscheidend, da es während der ionenchromatographischen Abtrennung zu einer Isotopenfraktionierung und somit bei unvollständiger Abtrennung zu verfälschten Ergebnissen bei der Isotopenverhältnismessung kommen kann [40, 41]. Dies konnte auch bei eigenen Versuchen festgestellt werden. *Tabelle 21* zeigt die Ergebnisse der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte zweier Milchproben, bei denen unterschiedliche Fraktionen der Mg-Abtrennung aufgefangen und getrennt analysiert wurden. Hier zeigt sich deutlich,

dass das schwerere ^{26}Mg zuerst eluiert, während das leichtere ^{24}Mg stärker vom Kationenaustauscher AG50W-X12 zurückgehalten wird. Die erste Mg-Fraktion, welche ca. 50 % Magnesium enthält, hat einen größeren Anteil an ^{26}Mg und weist somit größere $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte auf, als die nachfolgenden Fraktionen.

Tabelle 21: Untersuchung der Fraktionierung bei der Mg-Abtrennung

Fraktion	M14		M157		
	Anteil am Mg-Gesamtgehalt in %	$\delta^{26}\text{Mg}$ vs. IRMM 009 $\pm s$	% Mg	$\delta^{26}\text{Mg}$ vs. IRMM 009 $\pm s$	
10 mL Probe in 0,3M HCl					
1 × 30 mL 0,3 M HCl	0	0,5	n.b.	0,0	n.b.
2 × 5 ml 0,7 M HCl					
0,7 M HCl (5 ml)	1	57	4,8 \pm 0,1	47,2	5,0 \pm 0,1
0,7 M HCl (5 ml)	2	38	3,5 \pm 0,1	43,6	4,0 \pm 0,1
0,7 M HCl (5 ml)	3	4	2,2 \pm 0,1	9,1	3,0 \pm 0,1
0,7 M HCl (5 ml)	4	0,1	n.b.	0,1	n.b.
0,7 M HCl (10 ml)	5	0,1	n.b.	0,0	n.b.
2 M HCl (40 ml)	6	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

n.b. = nicht bestimmt

Die einzelnen Magnesiumfraktionen wurden so zusammengeführt, dass eine vollständige Mg-Ausbeute ohne interferierende Elemente wie Na und Ca in der Mg-Messlösung enthalten war. Aufgrund unterschiedlicher Probenzusammensetzungen und dementsprechend unterschiedlichem Elutionsverhalten der Proben konnten bei den Urin- und Futtermittelproben oftmals keine 100 %igen Ausbeuten in der gemessenen Mg-Fraktion (Mg 1) erreicht werden. Aufgrund der höheren Gehalte an Natrium, Kalium und Calcium kam es hier zu einer Verschiebung des Elutionsprofils, so dass oftmals ca. 10 % des Magnesiums nicht von Calcium abgetrennt werden konnten. In *Tabelle 22* sind repräsentative Beispiele für die verschiedenen Elementgehalte und Mg-Wiederfindungsraten in Milch, Urin und Futtermitteln aufgelistet. Die Wiederfindungsraten (% Mg) geben dabei den Anteil der gefundenen Mg-Menge in der Mg-Fraktion (Mg 1) im Verhältnis zur gesamten Mg-Menge aller Fraktionen an.

Tabelle 22: Gehalte verschiedener Elemente und Wiederfindungsraten von Mg bei der Analyt-Matrix-Trennung

Probe	Fraktion	Rb	Sr	K	Na	Ca	Mg	Mg %
Milch	Mg 0	1,0	0	6953,8	3200,4	0	0	
M773	Mg 1	1,8	0	360,8	0	0	755,7	100
	Sr 0	0	1,7	0	0,1	1817,1	0,5	
Milch	Mg 0	1,2	0	4471,2	1729,4	0	0,7	
M23-AT	Mg 1	2,1	0	391,5	0	327,3	729,3	100
	Sr 0	0,0	0,7	1,2	0	2711,0	0,5	
Urin	Mg 0	5,2	0	18335,3	11753,8	0	0	
U822	Mg 1	1,8	0	2113,2	11,4	0	566,5	89
	Sr 0	0,0	0	9,1	0,0	46,6	70,6	
Urin	Mg 0	54,6	0	42049,4	24,4	0	31,7	
U23-AT	Mg 1	5,6	0	902,4	0,1	0,0	1254,1	97
	Sr 0	0	0,5	3,1	0	728,5	9,5	
Gras- silage-AT	Mg 0*	23,5	1,0	8219,2	1,2	3,9	0,9	
	Mg 1	41,4	0,9	2332,7	0,4	6,3	5359,2	91
	Sr 0	1,0	2,9	19,7	1,1	4685,6	532,3	
Gras	Mg 0*	5,3	0,9	9421,5	0,4	4,6	0,7	
	Mg 1	7,4	1,0	849,3	0,5	9,2	3170,3	93
	Sr 0	0	7,0	0	0,7	5978,1	251,8	
Stroh	Mg 0*	2,2	1,3	5554,7	0,2	3,5	0,2	
	Mg 1	4,3	1,1	1879,2	1,3	5,9	486,3	86
	Sr 0	0,1	5,4	93,7	5,2	1190,3	78,5	
Mineral- futter	Mg 0	0,2	0	4602,6	9812,1	0	0	
	Mg 1	1,0	0	673,5	2,2	0	14677,6	99
	Sr 0	0	67,0	1,2	0	35067,2	144,8	

Mg 0* = Die Inhaltsangabe für Fraktion 0 ist unvollständig, da die ersten 40 mL der Fraktion 0 nicht untersucht wurden.
Mg 0* enthält nur die Gehalte der ersten 5 mL bei Elution mit 0,7 M HCl, darin ist Na bereits abgetrennt. AT = Österreich

4.6 Parameter für die Isotopenverhältnisbestimmung

4.6.1 Parameter für die Bestimmung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnisse

Die Bestimmung der Isotopenverhältnisse $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ und $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ erfolgte an den IRMS-Geräten des BfR und der BAM. Im Folgenden wird eine Übersicht über die verwendeten Geräte und Materialien gegeben.

	BfR	BAM
Massenspektrometer (IRMS)	Delta ^{Plus} (Thermo FinniganMAT)	IsoPrime (VG Instruments)
Software	ISODAT NT 1.5, Thermo Finnigan	Ion Vantage, GV Instruments
^{17}O -Korrektur	Software-unterstützt nach Santrock (Isodat Conflo Manual 4/93, in Isodat NT 1.5 enthalten)	Software-unterstützt nach Craig (in Software-Manual enthalten)
Gase	Helium 5.0 (Linde) Kohlendioxid 4.5 (Linde) Stickstoff 6.0 (Linde) Sauerstoff 4.5 (Linde)	Helium 6.0 (AlphaGaz 2He, Air Liquide) Kohlendioxid 4.5 (Air Liquide) Stickstoff 6.0 (Air Liquide) Sauerstoff 5.5 (Air Liquide)
Linsensystem am MS	auf max. Ionenstrom justiert	auf max. Ionenstrom justiert
Elementanalysator	EA 1100 CHN (Carlo Erba) mit Autosampler AS 200 für 50 Proben	VarioELIII (Elementar) mit Autosampler für 80 Proben
Eingangsdruck O ₂	1,5 bar	1,5 bar
Eingangsdruck He	1,5 bar	1,5 bar
Heliumfluss	80 mL/min	80 mL/min
Dauer Sauerstoffzufuhr	59 s	90 s
Interface	Conflo-Interface (FinniganMAT)	Referenzgasbox (GV Instruments)

Druckeinstellung am Interface

Helium Dilution	1,4 bar	0,15 bar
Kohlendioxid	1,16 bar	0,35 bar
Stickstoff	1,6 bar	0,75 bar

Oxidationsrohr

Temperatur	1040 °C	1150 °C
Füllung (von unten nach oben)	5 cm Quarzwolle, 6 cm versilbertes Kobaltoxid, 1 cm Quarzwolle, 12 cm Chromoxid, 1 cm Quarzwolle	1 cm Quarzwolle, 6,5 cm Stützrohr, 1,5 cm Quarzwolle, 5,5 cm WO ₃ -Granulat, 0,3 cm Korundkugeln, Aschetiegel, Stützrohr

Reduktionsrohr

Temperatur	640 °C	850 °C
Füllung (von unten nach oben)	5 cm Quarzwolle, 5 cm Kupferoxid, 1 cm Quarzwolle, 15 cm reduziertes Kupfer, 1 cm Quarzwolle 5 cm Kupferoxid, 1 cm Quarzwolle	1 cm Quarzwolle, 6,5 cm Stützrohr, 1,5 cm Quarzwolle, 5 cm Kupfer, 1 cm Quarzwolle, 5 cm Kupfer, 1 cm Quarzwolle, 15 cm Kupfer, 4,5 cm Korundkugeln, 2,6 cm Silberwolle

GC-Säule

Temperatur	50 °C
Füllung	Porapak

Absorptionsrohre

ca. 110°C
Spezialfüllung des Herstellers

Wasserfalle

Temperatur	Raumtemperatur
Füllung	Magnesiumperchlorat, Granulat

Konverterrohr

150°C
Sicapent (P ₂ O ₅)

Probeneinwaage	Zinnkapseln für Feststoffe (0,02 ml): 3,2 × 4 mm	Zinnschiffchen 4 × 4 × 11 mm
----------------	--	------------------------------

Für die tägliche Laborpraxis wurden "in-house-validierte" Gerätekontrollproben verwendet, welche bereits am BfR mit Hilfe der Sekundärreferenzmaterialien validiert worden waren. *Tabelle 23* gibt eine Übersicht über die verwendeten Sekundärstandards und Gerätekontrollproben.

Tabelle 23: Verwendete Standardmaterialien und Gerätekontrollproben

Name	Isotopenverhältnis	δ -Wert in ‰	Bezugsstandard	Material
Sekundärstandards				
NBS 22	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	-29,7	VPDB	Mineralöl
IAEA-CH-7	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	-31,8	VPDB	PE-Folie
IAEA-NO-3	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$4,7 \pm 0,2$	Air N ₂	KNO ₃
IAEA-N-1	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$0,4 \pm 0,2$	Air N ₂	(NH ₄) ₂ SO ₄
USGS-40	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	26.389 ± 0.042	VPDB	L-Glutaminsäure
USGS-40	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$-4.5 \pm 0,1$	Air N ₂	L-Glutaminsäure
Gerätekontrollproben				
Casein	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	-23,37	VPDB	
Casein	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	6,16	Air N ₂	
Acetanilid	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	-25,0	VPDB	
Acetanilid	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	-8,6	Air N ₂	
Fruktose	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	-24,5	VPDB	

Bei der Bestimmung der C- und N-Isotopenverhältnisse wird routinemäßig zwischen den Proben ein Referenzgas gemessen. Dieses muss bei jedem Gasflaschenwechsel mit bekannten δ -Werten (NBS 22 und IAEA-CH-7 für CO₂, IAEA-NO-3 und IAEA-N-1 für N₂) neu kalibriert werden. Die aus der Kalibrierung erhaltenen $\delta^{13}\text{C}$ -, $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{34}\text{S}$ -Werte für die Referenzgase CO₂ und N₂ gegenüber den international anerkannten Primärreferenzmaterialien sind in *Tabelle 24* aufgelistet.

Tabelle 24: Verwendete Referenzgase

Referenzgas	Zeitraum der Verwendung	δ -Wert [‰]	Bezugsstandard
IRMS (BfR)			
CO ₂	Jan.- Febr. 05	-21,251	VPDB
CO ₂	März–Sept. 05	-28,521	VPDB
CO ₂	Sept. 05–Mai 06	-33,931	VPDB
CO ₂	Juni 06–März 07	-28,231	VPDB
CO ₂	ab März 07–Juni 08	-29,182	VPDB
N ₂	März 05–Mai 06	-13,697	Air
N ₂	ab Mai 06–Juni 08	-13,985	Air
IRMS (BAM)			
CO ₂	Okt. 07–April 09	-36,210	VPDB
N ₂	ab Okt. 07–April 09	-14,087	Air

4.6.2 Parameter für die Bestimmung des Magnesiumisotopenverhältnisses

Die Bestimmung des Magnesiumisotopenverhältnisses wurde am GFZ (Potsdam) mit der dort zur Verfügung stehenden Neptune MC-ICPMS (Thermo Fischer Scientific, Bremen) durchgeführt. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die wichtigsten Parameter.

Rf-Energie	1200 W
Zerstäuber, Sprühkammer	SIS (Stable Introduction System) Duale zyklonische Doppel-Scott-Sprühkammer
Ar-Gasflüsse:	
Plasmagas	15 mL/min
Hilfsgas	0,85 mL/min
Zerstäubergas	1,15 mL/min
Interface Cones	Ni-Sampler, Ni-Skimmer
Beschleunigungsspannung	10 kV
Ionenlinsen	Justierung für maximale Intensität mit einer 40 µg/L Mg-Standardlösung (^{24}Mg auf Cup L2: 2–3 V)
Instrumentmassenauflösung	1500
Faraday-Detektoren	L2: ^{24}Mg Center: ^{25}Mg H3: ^{26}Mg
Methode	1 Block mit 20 Messwerten pro Messung

Die Korrektur der instrumentellen Massenfraktionierung erfolgte mit Hilfe der Standard-Bracketing-Methode. Dabei wird abwechselnd Standard-Probe-Standard-Probe gemessen, wobei vor jeder Messung ein separater Blank bestimmt wird. Sowohl in der Probe als auch im Standard und in dem Referenzmaterial wurden vor der eigentlichen Messung die Konzentrationen der verwendeten Lösungen bestimmt und anschließend alle Messlösungen genau auf 40 µg/L verdünnt. Die für die Verdünnung verwendete 2 %ige HNO_3 wurde auch für die Bestimmung des Signal-Untergrundes bei der Messung verwendet und wird als Blank-Lösung bezeichnet.

Am Anfang der Messreihe erfolgte zunächst eine fünffache Wiederholmessung für die verwendete Mg-Standardlösung. Hierfür wurde bei den ersten Messreihen am GFZ eine ICP-Mg-Einzelementlösung (Merck, Darmstadt) und bei späteren Messreihen eine in der Arbeitsgruppe aus Reinstmetall Mg (Reinheit 99,980 %, Alfa Johnson Matthey) hergestellte Mg-Standardlösung verwendet. Die Mg-Standardlösung wurde für die Driftkorrektur der Massendiskriminierung verwendet. Vor der eigentlichen Probenmessung erfolgte außerdem eine Fünffachbestimmung des $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ -Wertes des Referenzmaterials IRMM 009. Aus dem Verhältnis des Mittelwertes der aus der Fünffachmessung bestimmten $R_m(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ -Werte und dem zertifizierten $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ -Wert ($R_w = 0,013932 \pm 0,00026$) des Referenzmaterials wurde der Korrekturfaktor ($K = R_w/R_m$) berechnet und auf die Untergrund- und Drift-korrigierten $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ -Werte der Proben angewendet. Der gleiche zertifizierte $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ -Wert des Referenzmaterials IRMM 009 wurde auch für die Berechnung der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte verwendet.

4.6.3 Parameter für die Bestimmung des Strontiumisotopenverhältnisses

Die Bestimmung der $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte erfolgte mittels MC-TIMS am Sector 45 der Firma VG Instruments. Für die Messung wurden die abgetrennten und eingetrockneten Proben in 1–5 μL HNO_3 (2 %) aufgenommen, so dass jeweils eine Lösung ca. 100 ng/ μL Sr zur Verfügung stand. 1 μL der Probe wurde auf ein Rhenium-Einzelfilament unter Zusatz von 1 μL Birckscher Lösung aufgetragen, die nach [144] hergestellt wird. Im Folgenden wird eine Übersicht über die Parameter gegeben.

Beschleunigungsspannung	8 kV				
Faraday-Detektoren	L2	L1	Center	H1	H2
	^{84}Sr	^{85}Rb	^{86}Sr	$^{87}\text{Sr}, (^{87}\text{Rb})$	^{88}Sr
Messdaten	1 Block mit 300 Messwerten pro Messung				
Warmup	2,2 A in 11 min				
Sollionenstrom (H2: ^{88}Sr)	3×10^{-11} A				
Druck in der Quelle	2×10^{-8} mbar				

Aufgrund der sehr guten Ergebnisse in der CCQM-Studie (P105 „Sr isotope ratio measurement“) im Jahr 2008 wurden in dieser Arbeit die dort verwendeten Korrekturverfahren eingesetzt. Eine Korrektur des gesuchten Isotopenverhältnisses ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) erfolgte dementsprechend in dieser Arbeit durch interne Normierung auf das $^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$ -Isotopenverhältnis unter Berücksichtigung der Massenfraktionierung nach dem Potenzgesetz (siehe auch Kapitel 3.2.3) (Gleichung 5). Es wurde davon ausgegangen, dass das Isotopenverhältnis $^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$ konstant ist und einen Wert von 0,1194 aufweist. Nach Umformung der Gleichung 10 (mit $\Delta m = -2$) kann der Massenfraktionierungsfaktor ε für das als konstant angenommenen $^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$ -Verhältnis nach Gleichung 11 berechnet werden, wobei R_m das Verhältnis der gemessenen Intensitäten auf den Massen 86 und 88 ist und R_w dem international anerkannten Referenzwert $R_w(^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}) = 0,1194$ entspricht.

$$(10) \quad \frac{R_w}{R_m} = (\varepsilon + 1)^{\Delta m}$$

$$(11) \quad \varepsilon = \left(\frac{R_w \left(\frac{^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}}{^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}} \right)}{R_m \left(\frac{^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}}{^{86}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}} \right)} \right)^{-\frac{1}{2}} - 1$$

Dieser Massenfraktionierungsfaktor ε wird angewendet, um das gemessene Sr-Isotopenverhältnis $R_m(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ nach Gleichung 12 zu korrigieren.

$$(12) \quad R_w \left(\frac{^{87}\text{Sr}}{^{86}\text{Sr}} \right) = (\varepsilon + 1) \times R_m \left(\frac{^{87}\text{Sr}}{^{86}\text{Sr}} \right)$$

mit $R_m \left(\frac{^{87}\text{Sr}}{^{86}\text{Sr}} \right) = I(^{87}\text{Sr}) / I(^{86}\text{Sr})$

Dabei muss wiederum berücksichtigt werden, dass sich der gemessene Ionenstrom bei $m/z = 87$ ($I_m(^{87})$) nach Gleichung 13 aus den Ionenströmen zusammensetzt, die durch ^{87}Sr ($I(^{87}\text{Sr})$) und der Interferenz ^{87}Rb verursacht werden. Durch Messung der Signalintensität $I_m(^{85}\text{Rb})$ auf der Masse 85 kann unter Berücksichtigung des Massenfraktionierungsfaktors ε und des nach IUPAC-Daten ermittelten $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$ -Verhältnisses ($R_w = 0,3857$) der Anteil von $I_m(^{87}\text{Rb})$ am Gesamtionenstrom auf der Masse 87 nach Gleichung 14 berechnet und abgezogen werden. Daraus ergibt sich der Ionenstrom

$I(^{87}\text{Sr})$. Durch Einsetzen von Gleichung 15 und 16 in Gleichung 12 wird die Gesamtgleichung (15) zur Bestimmung von $R_w(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ erhalten.

$$(13) \quad I(^{87}\text{Sr}) = I_m(^{87}) - I_m(^{87}\text{Rb})$$

$$(14) \quad I_m(^{87}\text{Rb}) = \frac{R_w(^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb})}{(\varepsilon + 1)^2} \times I_m(^{85}\text{Rb})$$

$$(15) \quad R_w(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}) = \frac{(\varepsilon + 1)}{I(^{86}\text{Sr})} \times \left(I_m(^{87}) - \frac{R_w(^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}) \times I_m(^{85}\text{Rb})}{(\varepsilon + 1)^2} \right)$$

Für das Strontiumisotopenverhältnis ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) werden die Ergebnisse sowohl als $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Wert als auch als δ -Wert angegeben. Als Bezugsgröße wurde hier das Standardreferenzmaterial SRM 987 verwendet, wobei sich nicht auf den im NIST-Zertifikat angegebenen Wert, sondern auf den von Müller-Sohnius [171] über Langzeitstudien ermittelte $R_{\text{SRM}}(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Wert von 0,710251(26) bezogen wurde.

Bei jeder Messreihe wurde das Probenrad mit jeweils fünf Referenzproben des SRM 987 und fünfzehn Rinder- bzw. Futterproben bestückt. Aus den fünf $R_w(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werten der Referenzproben wurde der Mittelwert $R_{w,\text{SRM}}(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ berechnet und mit diesem der K-Faktor nach Gleichung 16 bestimmt. Mit diesem K-Faktor wurden die $R_w(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte der Proben nach Gleichung 17 korrigiert.

$$(16) \quad K = \frac{R_{\text{SRM}}(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})}{R_{w,\text{SRM}}(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})}$$

$$(17) \quad R_{w,\text{Pr}}(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}) = K \times R_w(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$$

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Qualitätssicherung

5.1.1 Qualitätssicherung bei der Bestimmung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnisse

Mit Hilfe der IRMS werden Unterschiede in den Isotopenverhältnissen von Proben im Promillebereich bestimmt. Um diese minimalen Isotopenvariationen richtig analysieren zu können, muss eine routinemäßige Kontrolle des Messverfahrens erfolgen. Dazu wurden bei der IRMS vor jeder Messreihe mindestens zwei Gerätekontrollproben und auch innerhalb einer Messreihe nach jeder fünften bis sechsten Probe eine Doppelbestimmung der Gerätekontrollprobe durchgeführt.

Tabelle 25: Gerätekontrollproben und typische Standardabweichungen s

Standard	$\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB in ‰	$\pm s$ in ‰	$\delta^{15}\text{N}$ vs. Air in ‰	$\pm s$ in ‰
BfR				
Fruktose ¹	-24,46	0,12		
PE-Folie ²	-31,80	0,12		
Acetanilid ¹			-8,62	0,20
KNO ₃ ²			4,70	0,20
BAM				
Casein ¹	-23,37	0,10	6,15	0,11
L-Glutaminsäure ²	-26,20	0,10	-4,50	0,11

¹Validierte Gerätekontrollproben, ²IAEA-Sekundärreferenzmaterialien

Die Überprüfung der Richtigkeit der IRMS-Standards erfolgte mittels Kontrollkarten, welche in *Abbildung 17* und *Abbildung 18* dargestellt sind. Darin wird jeweils der Mittelwert der Messung und der Sollwert (SW) der jeweiligen Gerätekontrollproben, sowie die zweifache ($\pm 2s$) und dreifache ($\pm 3s$) Standardabweichung der Gerätekontrollprobe aufgetragen. *Tabelle 25* gibt eine Übersicht der Sollwerte und Standardabweichungen, die für die Qualitätsregelkarten verwendet wurden. Mit dem IRMS-Gerät der BAM (Vario ELIII, IsoPrime Kopplung der Firma Elementar und VG Instruments) werden geringere Standardabweichungen erhalten als mit dem IRMS-Gerät des BfR (EA1110, DeltaPlus, Thermo Finnigan). In der Regel liegen diese sogar unter 0,1 ‰.

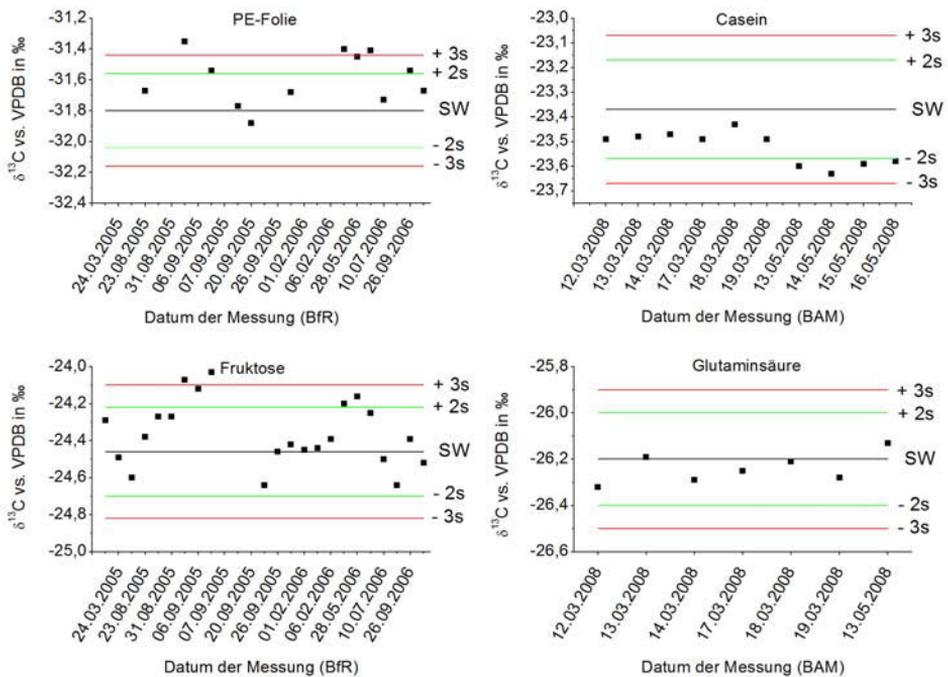


Abbildung 17: Kontrollkarten für die Überprüfung der Stabilität und Richtigkeit der IRMS-Messungen anhand von Gerätekontrollproben für die Bestimmung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte.

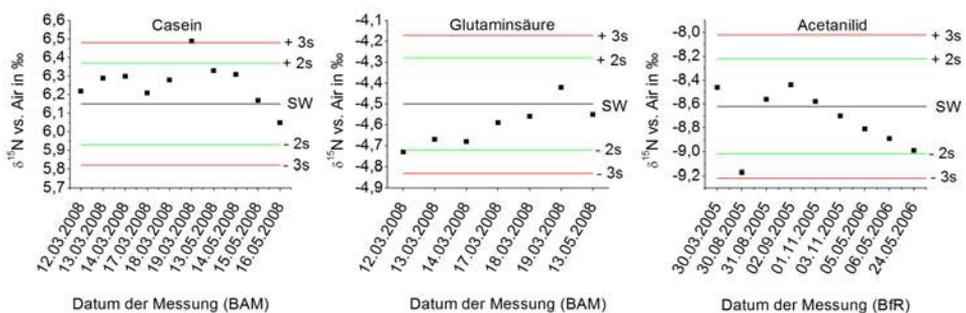


Abbildung 18: Kontrollkarten für die Überprüfung der Stabilität und Richtigkeit der IRMS-Messungen anhand von Gerätekontrollproben für die Bestimmung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte.

Hier spielen wahrscheinlich die unterschiedlichen Trenntechniken der Verbrennungsgase in den Elementaranalysatoren eine Rolle. Lagen die δ -Werte außerhalb der zweifachen

Standardabweichung wurde eine Fehlersuche durchgeführt. Da innerhalb einer Messsequenz dieselbe Gerätekontrollprobe mehrfach gemessen wurden, konnten die Messergebnisse mit einem Korrekturfaktor ($K = \delta_{\text{Sollwert}}/\delta_{\text{Messwert}}$) korrigiert werden. Die Hauptursachen für zu hohe Standardabweichungen lagen oftmals in verbrauchten Chemikalien der Reaktionsrohre, oder in verbrauchten Referenzgasen. Ersteres führt zu unvollständiger Oxidation/Reduktion, letzteres führt zu einer Verschiebung des δ -Wertes der Referenzgase, da sich die schwereren Isotope in der Flasche mit zunehmendem Verbrauch anreichern. War anhand der Kontrollkarte eine Drift der δ -Werte zu erkennen, wurden die Chemikalien am Ende der Messreihe ausgetauscht. Am häufigsten betraf das das Reduktionsrohr für die Umwandlung der Stickoxide, welches sehr häufig und spätestens nach ca. 250–350 Proben gewechselt werden musste.

Bei IRMS-Geräten hat die Linearität einen großen Einfluss auf die Wiederholpräzision. Die Probeneinwaagen für die IRMS wurden dementsprechend so ausgewählt, dass die Ionenströme sowohl der Proben als auch der Referenzgase im Bereich von 2–4 V (bzw. $2\text{--}4 \times 10^{-9}$ A) lagen.

Die routinemäßig erreichbare mittlere Standardabweichung von Kohlenstoff liegt bei 0,1 ‰ und für Stickstoff bei 0,2 ‰ (vergleiche auch Tabelle 32 am Ende des Kapitels). Die Gesamtunsicherheit ist das Produkt aus einem Überlappungsfaktor k und der Standardunsicherheit u_c . Unter der Berücksichtigung der mittleren Standardabweichung als u_c und einem Überlappungsfaktor von $k = 2$ liegt die geschätzte Gesamtunsicherheit der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei 0,2 ‰ und der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte bei 0,4 ‰.

5.1.2 Qualitätssicherung bei der Bestimmung des Magnesiumisotopenverhältnisses

Die Bestimmung des Mg-Isotopenverhältnisses ($^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$) der in dieser Arbeit untersuchten Proben erfolgte an verschiedenen Messtagen mit dem MC-ICPMS „Neptune“ Thermo Scientific am GFZ in Potsdam. Vor jeder Messreihe wurde eine Fünffachbestimmung der $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ -Werte eines Magnesiumstandards durchgeführt, welcher bei der Messsequenz auch als Standard für das Bracketing zur Korrektur der Messwertdrift verwendet wurde. Außerdem erfolgte an jedem Messtag eine Fünffachbestimmung des IRMM 009 Referenzmaterials, um die Massendiskriminierung zu korrigieren. *Tabelle 26* zeigt die Ergebnisse der gemessenen Mg-Standardlösung und des Referenzmaterials

IRMM 009 an den verschiedenen Messtagen nach der Blank- und Driftkorrektur und vor der Korrektur der Massendiskriminierung.

Tabelle 26: $^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ -Isotopenverhältnisse der Mg-Standardlösung und des Mg-Referenzmaterials an verschiedenen Messtagen

Datum	$R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ Mg-Std.	$\pm s$	$\delta^{26}\text{Mg}$ Mg-Std. in ‰	$\pm s$ in ‰	$R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ IRMM 009	$\pm s$
08.03.2007	0,155748	0,000004	3,94	0,04	0,155136	0,000007
24.07.2008	0,156700	0,000016	3,99	0,15	0,156076	0,000010
13.01.2009	0,156002	0,000009	3,82	0,08	0,155409	0,000011
14.01.2009	0,155951	0,000018	3,71	0,17	0,155374	0,000018
Mittelwert:	0,156100		3,87		0,155499	
$\pm s$	0,000415		0,13		0,000403	

Die Standard-Bracketing-Messmethode ist sehr zeitaufwendig, so dass die Bestimmung der Isotopenverhältnisse der jeweiligen Proben nur über eine Einzelmessung erfolgte. Eine Doppelbestimmung wurde nur in Ausnahmefällen durchgeführt. In diesen konnte festgestellt werden, dass für die Isotopenverhältnisse der Proben an verschiedenen Tagen innerhalb der mittleren Standardabweichung von 0,2 ‰ keine Unterschiede zu erkennen sind (siehe Tabelle 27).

Tabelle 27: Doppelbestimmung von $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ in Urin und Futtermittelproben an zwei verschiedenen Messtagen

Datum der Messung	Probe	$R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}_{\text{kor.}}) \pm s$	$\delta^{26}\text{Mg}$ vs. IRMM 009 $\pm s$ in ‰
13.01.2009	U770	0,139881 \pm 0,000015	4,02 \pm 0,15
14.01.2009	U770	0,139868 \pm 0,000027	3,94 \pm 0,27
13.01.2009	U1033	0,139873 \pm 0,000020	3,97 \pm 0,20
14.01.2009	U1033	0,139856 \pm 0,000022	3,85 \pm 0,23
13.01.2009	Heu (AT)	0,139880 \pm 0,000021	4,02 \pm 0,21
14.01.2009	Heu (AT)	0,139857 \pm 0,000019	3,85 \pm 0,19

Bei der Probenpräparation können eine unvollständige Abtrennung der Probenmatrix oder Blankprobleme zu größeren Schwankungen der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte führen. Aus diesem Grund wurde mit der Mg-Standardlösung und dem Referenzmaterial IRMM 009 ebenfalls eine ionenchromatographische Mg-Abtrennung (siehe Kapitel 4.5) durchgeführt. Dabei

muss allerdings bemerkt werden, dass die beiden Materialien verdünnte Magnesium-Standardlösungen sind, welche keine weiteren Matrixbestandteile enthalten und sich dementsprechend sehr stark von den zu untersuchenden Probenmatrizes unterscheiden.

Tabelle 28: Vergleich der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte der verwendeten Standardmaterialien ohne bzw. mit Analyt-Matrix-Trennung

Datum der Messung		Mittelwert (ungetrennte Probe)	Messwert (getrennte Probe)	Differenz $\Delta_{\text{getr. Probe - ungetr. Probe}}$
$\delta^{26}\text{Mg}$ vs. IRMM 009 ($\pm s$) in ‰				
23.07.2008	IRMM 009	0	$-0,04 \pm 0,14$	-0,04
13.01.2009	Mg-Std	$3,87 \pm 0,13$	$4,42 \pm 0,17$	0,55

Aus *Tabelle 28* kann entnommen werden, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Standard IRMM 009 und dem chromatographisch aufgearbeiteten Standard IRMM 009 gibt, aber der δ -Wert des getrennten Mg-Standards deutlich positiver ist, als der des ungetrennten Mg-Standards. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass das Referenzmaterial IRMM 009 und die Mg-Standardlösungen an unterschiedlichen Tagen getrennt und gemessen wurden.

Vor jeder Trennung wurden neue Chemikalien und Säulenmaterialien verwendet, so dass für verschiedene Mess- und Trenntage durchaus unterschiedliche Kontaminationen der Analyten möglich sind. Gerade in der letzten Messequenz (Januar 2009) gab es ungewöhnlich hohe Mg-Konzentrationen der als Blanklösung verwendeten 2 %igen HNO_3 von 0,5 ng/L im Vergleich zu $\leq 0,1$ ng/L aus den Messkampagnen davor. In jedem Fall waren jedoch die Konzentrationen der Blanklösungen mehr als drei Größenordnung kleiner als die Mg-Konzentration der Analysenlösungen, die vor den Messungen auf ca. 40 ng/L eingestellt wurden.

Die mittlere Standardabweichung der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte der Standard- bzw. Referenzmaterialien sowie der untersuchten biologischen Proben (siehe dazu auch *Tabelle 32* am Ende des Kapitels) beträgt 0,2 ‰. Bei der Bestimmung der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte muss berücksichtigt werden, dass Streuungen der Messwerte aufgrund der chemischen Probenaufarbeitung auftreten können. Die geschätzte Gesamtunsicherheit der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte beträgt 0,6 ‰ ($k = 3$).

5.1.3 Qualitätssicherung bei der Bestimmung des Strontiumisotopenverhältnisses

Das Sr-Isotopenverhältnis ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) wurde mit dem MC-TIMS Sector 54, VG Instruments bestimmt. Vor jeder Messreihe erfolgte eine Fünffachbestimmung des Sr-Referenzmaterials NBS 987. In *Tabelle 29* sind die entsprechenden Mittelwerte der ^{87}Rb -korrigierten $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte dargestellt. Für jede Messreihe wurde der Massenfraktionierungsfaktor mit $R_{\text{SRM}}(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}) = 0,710251(26)$ berechnet.

Tabelle 29: Typische Standardabweichung für $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ vom NBS 987

Datum	$R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ NBS 987	$\pm s$
04.03.2008	0,710397	0,000034
07.03.2008	0,710435	0,000028
29.07.2008	0,710372	0,000018
31.07.2008	0,710381	0,000006
31.10.2008	0,710435	0,000031

Tabelle 30 zeigt die Mittelwerte der Strontiumisotopenverhältnisse ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) nach Korrektur der Massenfraktionierung für das NBS 987 Referenzmaterial, welches die Analyt-Matrix-Trennung durchlaufen hat und das ungetrennte NBS 987 Referenzmaterial. Die Strontiumgehalte der Blanklösungen sind in der Regel kleiner als 0,5 ng, d.h. mindestens zwei Größenordnungen unterhalb der Probenkonzentration des Analyten.

Tabelle 30: Vergleich der $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte vom Referenzmaterial NBS 987 ohne bzw. mit Analyt-Matrix-Trennung

Datum	Messwert (ungetrennte Probe)	$R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}_{\text{kor.}}) \pm s$	
		Messwert (getrennte Probe)	Differenz $\Delta_{\text{getr. Probe - ungetr. Probe}}$
31.10.2008	$0,710245 \pm 0,000015$	$0,710260 \pm 0,000028$	0,000015

Anhand dieser Tabelle lässt sich erkennen, dass die Differenz der $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte des getrennten und ungetrennten Referenzmaterials NBS 987 innerhalb der einfachen Standardabweichung liegt. Aus diesem Grund kann davon ausgegangen werden, dass keine Isotopenfraktionierung während der Sr-Abtrennung z.B. durch das Austauscherharz oder die verwendeten Säuren (als Verunreinigungen) auftritt und das Sr-Isotopenverhältnis der Proben durch die Abtrennung nicht verfälscht wird. *Tabelle 31* zeigt

beispielhaft die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte von Urinproben, welche jeweils an zwei unterschiedlichen Tagen getrennt und gemessen wurden.

Tabelle 31: Vergleich der Isotopenverhältnisse $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ von Urinproben, die an unterschiedlichen Tagen eine Analyt-Matrix-Trennung durchlaufen haben

	$R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}) \pm s$		$\delta^{87}\text{Sr}$ vs. NBS 987 ($\pm s$) in ‰	
	29.07.2008	31.07.2008	29.07.2008	31.07.2008
U557	$0,70691 \pm 0,00009$	$0,70694 \pm 0,00010$	$-4,70 \pm 0,18$	$-4,66 \pm 0,19$
U822	$0,70703 \pm 0,00008$	$0,70707 \pm 0,00009$	$-4,53 \pm 0,16$	$-4,48 \pm 0,18$
U6-At	$0,70893 \pm 0,00012$	$0,70883 \pm 0,00013$	$-1,86 \pm 0,23$	$-2,00 \pm 0,27$
U26-At	$0,70865 \pm 0,00009$	$0,70861 \pm 0,00011$	$-2,25 \pm 0,18$	$-2,32 \pm 0,21$

Die in *Tabelle 30* und *Tabelle 31* dargestellten Standardabweichungen für die analysierten Referenzmaterialien sind ein bis zwei Größenordnungen kleiner als für die Urinproben. Bei dem Referenzmaterial muss berücksichtigt werden, dass die dargestellten Ergebnisse Mittelwerte aus mindestens drei Wiederholmessungen sind. Die mittlere Standardabweichung der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte bei einer Einzelbestimmung ist höher und entspricht 0,2 ‰. Die geschätzte Gesamtunsicherheit für die Bestimmung der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte beträgt 0,4 ‰. ($k = 2$). Da die chemische Abtrennung keinen Einfluss auf die Messergebnisse ausübt, kann davon ausgegangen werden, dass Unterschiede in den $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werten der Proben von $> 0,4$ ‰ außerhalb der Unsicherheit liegen und eine signifikante Differenz darstellen.

5.1.4 Vergleichspräzisionen der Futtermittel und Rinderproben

Die Vergleichspräzision einer Probe ist ein wichtiges Kriterium, um signifikante Unterschiede zwischen zwei Proben feststellen zu können. Als Maß für die Präzision eines Analyseergebnisses wird häufig die Standardabweichung oder relative Standardabweichung verwendet [174, 175].

In *Tabelle 32* sind die im Verlauf der Arbeit routinemäßig erreichten Vergleichspräzisionen für Realproben dargestellt.

Tabelle 32: Durchschnittlich erreichte Vergleichspräzision ($\pm s$ in ‰) der Realproben

Probe	Absolute Vergleichspräzision in ‰			
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{24}\text{Mg}^*$	$\delta^{87}\text{Sr}$
BAM				
Milchpulver	0,03	0,15	0,15	0,21
Urinpulver	0,11	0,08	0,19	0,21
Futtermittel	0,06	0,16	0,20	0,20
BfR				
Milchpulver	0,12	0,14		
Urinpulver	0,25	0,26		
Futtermittel	0,15	0,41		

* Messung am GFZ Potsdam

Bei der IRMS wurden für verschiedene Probenarten unterschiedliche Vergleichspräzisionen ermittelt. Milch und Urinproben werden hier direkt nach der Lyophilisierung analysiert, dabei war der Trocknungszustand der Urinproben sehr unterschiedlich, da das gefriergetrocknete Urinpulver sehr hygroskopisch ist. Aufgrund der stark hygroskopischen Eigenschaften, war die Einwaage der Urinproben für die IRMS oftmals schwierig, was sich zum Teil in den höheren Standardabweichungen widerspiegelt. Die einzelnen Futtermittel wiesen oftmals ein sehr hohes C/N-Verhältnis auf. Um die Messungen innerhalb des linearen Bereiches des Massenspektrometers durchführen zu können, waren daher sehr hohe Einwaagen für die $\delta^{14}\text{N}$ -Bestimmung notwendig. Bei der Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Mg und Sr zeigte sich keine Abhängigkeit der Standardabweichung von der Probenmatrix, da die organische Matrix durch verschiedene Probenaufschlüsse nahezu vollständig zerstört wurde. Aufgrund der in diesem Kapitel vorgestellten Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass signifikante Unterschiede in den Isotopenverhältnissen von Kohlenstoff, Stickstoff und Strontium zwischen verschiedenen Proben bereits ab 0,4 ‰ und beim Mg-Isotopenverhältnis ab 0,6 ‰ zuverlässig bestimmt werden können.

5.2 Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff im Rinderfutter

Im Rahmen einer Fütterungsstudie sollte der Einfluss der Ernährung sowie die Auswirkungen eines Futterwechsels auf die Isotopenverhältnisse verschiedener Rinderproben untersucht werden. Dazu wurden zunächst die einzelnen Futterkomponenten analysiert und Futterbilanzen aufgestellt. Diese sollten als Abschätzung dazu dienen, welche Isotopenzusammensetzung die gesamte Nahrung der Rinder hatte.

Im Folgenden werden zunächst die Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff in den Futtermitteln der Berliner Rinder und Göstlinger Rinder dargestellt und diskutiert. In *Tabelle 33* werden die Mittelwerte der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und in *Tabelle 34* die Mittelwerte der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der einzelnen Futtermittel aus Berlin wiedergegeben.

Tabelle 33: $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte der Futtermittel aus Berlin für die Probenzeiträume 2005 und 2006

	$\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB (\pm s) in ‰	
	der Einzelfutterkomponenten für das Jahr	
	2005	2006
Maissilage	-12,54 \pm 0,14 (n = 2)	-13,10 \pm 0,43 (n = 7)
Gras	-27,90 \pm 0,51 (n = 8)	-27,42 \pm 0,59 (n = 6)
Heu	-28,14 \pm 0,70 (n = 2)	-28,64 \pm 0,64 (n = 11)
Stroh	-26,93 \pm 0,27 (n = 1)	-27,46 \pm 0,40 (n = 6)
Sojaschrot	-25,57 \pm 0,27 (n = 1)	-26,14 \pm 0,08 (n = 1)
Rapsschrot	-26,64 \pm 0,21 (n = 1)	-26,21 \pm 0,06 (n = 1)
Rüben	-25,92 \pm 0,04 (n = 1)	
Zuckerrübenschnitzel	-27,57 \pm 0,28 (n = 1)	-26,82 \pm 0,03 (n = 1)
Mineralfutter	-26,74 \pm 0,26 (n = 1)	-25,66 \pm 0,02 (n = 1)
Krafffutter	-26,55 \pm 0,21 (n = 1)	-26,59 \pm 0,01 (n = 1)

Im Jahr 2005 wurden teilweise nur einmalig Futtermittelproben genommen, während im Jahr 2006 eine Probennahme der Hauptfuttermittel mehrmals pro Monat erfolgte. Dabei entspricht in allen folgenden Tabellen die Variable n der Anzahl der Proben, die von dem jeweiligen Futtermittel über das Jahr verteilt genommen wurden. Die ebenfalls angegebene Standardabweichung verdeutlicht die Varianz des jeweiligen Futtermittels innerhalb des gesamten Probennahmezeitraumes in den Jahren 2005 bzw. 2006. Bei einer Anzahl von n = 1 entspricht der angegebene $\delta^{13}\text{C}$ -Wert dem Mittelwert der Fünffachbestimmung, die bei jeder Probe zur Bestimmung der Kohlenstoff- und

Stickstoffisotopenverhältnisse durchgeführt wurde. Rüben wurden im Jahr 2006 nicht verfüttert, so dass hier kein $\delta^{13}\text{C}$ -Wert aufgeführt werden kann.

Der im Vergleich zu den anderen Futtermitteln betragsmäßig sehr kleine $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Maissilage von $\sim -13\text{‰}$ zeigt die Zugehörigkeit von Mais zu der Gruppe der C_4 -Pflanzen. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der übrigen Futtermittel liegen zwischen -26 und -28‰ , welche typisch für C_3 -Pflanzen sind. Die Schwankungsbreite der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte innerhalb einer Pflanzenklasse ist abhängig von den lokalen Besonderheiten und speziellen Pflanzenwachstumsbedingungen (z.B. Temperatur, Lichtverhältnisse und Feuchtigkeit). Ergänzungsfutter und Milchleistungsfutter enthalten zusätzlich zu den Mineralien verschiedene C_3 -Pflanzen (z.B. Gerste, Raps, Soja, Roggen und Weizenkleie) und weisen dementsprechend $\delta^{13}\text{C}$ -Werte auf, die im Bereich der C_3 -Pflanzen liegen.

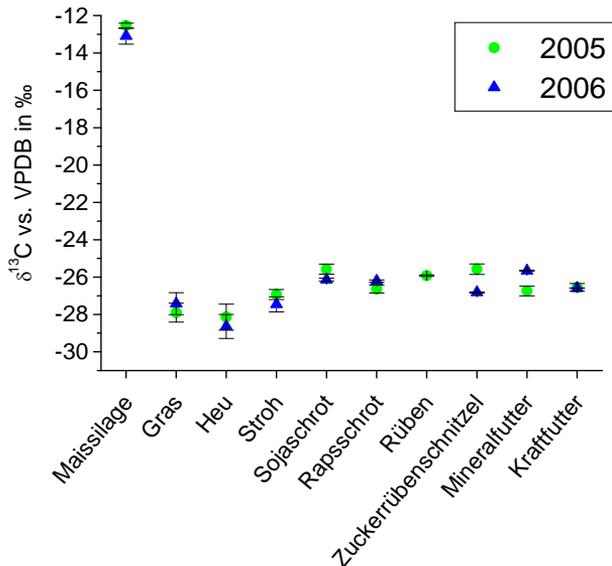


Abbildung 19: Variation der $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwert der Futtermittel aus Berlin von 2005 und 2006.

Der Vergleich der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Futtermittel aus den Jahren 2005 und 2006 verdeutlicht (Abbildung 19), dass sich die Kohlenstoffisotopenverhältnisse der meisten Futtermittel unter Berücksichtigung der Standardabweichung in den beiden Jahren nicht unterscheiden. Lediglich die relativ hohen Standardabweichungen für Gras und Heuproben weisen darauf hin, dass innerhalb des Jahres relativ hohe Schwankungen in diesen Futtermitteln auftreten können. So wurde zum Beispiel bei den untersuchten Grasproben in dem Probenzeitraum April bis Juli 2005 ein $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von

-27,57 ± 0,23 ‰ bestimmt, während der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von August bis September 2005 bei -28,45 ± 0,29 ‰ lag. Diese signifikante Verschiebung von ca. 1 ‰ zu negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten ist durch saisonal veränderte Witterungsbedingungen (Licht- und Niederschlagsverhältnisse) bedingt. Wie andere Arbeiten belegen [13, 176] kann z.B. erhöhter Regenfall zu niedrigeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten führen. Nach Angaben vom Statistischen Landesamt Berlin [177] war der Juli 2005 ein extremer Regenmonat. Die vermehrte Wasserverfügbarkeit kann die Photosynthese der neu gewachsenen Graspflanzen und der daraus erhaltenen Heuproben beeinflussen, welches sich in niedrigeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten widerspiegelt. Auch die minimalen Unterschiede der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Maissilage in den Jahren 2005 und 2006 können auf die unterschiedlichen Klimaverhältnisse zurückgeführt werden. *Abbildung 20* zeigt die saisonale Schwankung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Hauptfutterkomponenten (Maissilage, Gras, Heu, Stroh) im Jahr 2006.

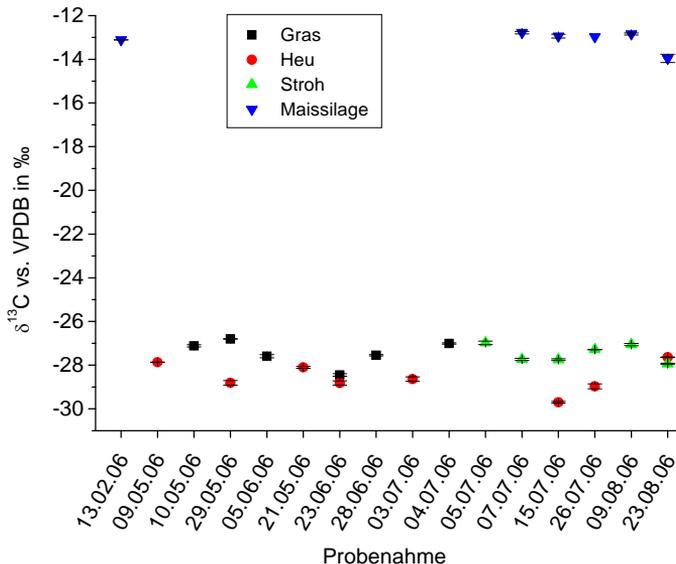


Abbildung 20: Variation der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Hauptfutterkomponenten aus Berlin 2006.

Hieraus wird ersichtlich, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin aufgrund unterschiedlicher Bezugsquellen oder wechselnder Klimaverhältnisse um bis zu 2 ‰ variieren können. Mais und Gras sind die einzigen der hier aufgeführten Pflanzen, die auf Berliner Äckern angebaut wurden, wobei die Pflanzen saisonbedingt auch von verschiedenen Äckern im Berliner Umfeld kommen konnten. Die anderen Futtermittel Stroh, Rüben, Zuckerrüben und zum Teil auch Heu wurden in der Regel von verschiedenen Händlern

zugekauft. Soja- und Rapsextraktionsschrot sowie das Mineralfutter und Kraftfutter wurden in der Regel von der Eberswalder Mühle in Prenzlau bezogen. Dieser Händler gibt an, dass er Produkte aus der Region verarbeitet, wobei aber auch hier unterschiedliche Bezugsquellen auftreten können.

Deutlich sichtbar werden die unterschiedlichen Bezugsquellen der Futtermittel aus Berlin in den Jahren 2005 und 2006 bei Betrachtung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (Tabelle 34). Sie haben $\delta^{15}\text{N}$ -Werte zwischen 0 und 6 ‰ und weisen gerade bei den Hauptfuttermitteln (Gras, Heu, Stroh, Maissilage) relativ hohe Streuungen auf. Die Sojapflanze gehört zu der Gattung der Leguminosen und hat, wie zu erwarten war, einen $\delta^{15}\text{N}$ -Werte um Null.

Tabelle 34: $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte der Futtermittel aus Berlin für die Probenzeiträume 2005 und 2006

	$\delta^{15}\text{N}$ vs. Air ($\pm s$) in ‰	
	der Einzelfutterkomponenten für das Jahr	
	2005	2006
Maissilage	5,65 \pm 0,61 (n = 2)	6,03 \pm 0,77 (n = 7)
Gras	1,31 \pm 0,24 (n = 2)	3,45 \pm 1,41 (n = 6)
Heu	2,33 \pm 0,53 (n = 1)	1,96 \pm 0,77 (n = 11)
Stroh	1,38 \pm 0,21 (n = 1)	3,59 \pm 0,86 (n = 6)
Sojaschrot	0,06 \pm 0,04 (n = 1)	0,04 \pm 0,002 (n = 1)
Rapsschrot	2,89 \pm 0,17 (n = 1)	2,75 \pm 0,003 (n = 1)
Rüben	4,05 \pm 0,16 (n = 1)	-
Zuckerrübenschnitzel	3,89 \pm 0,51 (n = 1)	5,31 \pm 0,23 (n = 1)
Mineralfutter	2,33 \pm 0,33 (n = 1)	2,42 \pm 0,06 (n = 1)
Kraftfutter	1,55 \pm 0,23 (n = 1)	1,71 \pm 0,10 (n = 1)

Da bei der Stickstoffaufnahme keine Isotopenfraktionierung auftritt [19], geben die Pflanzen den $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Bodens wider. Dieser kann regional sehr verschieden sein und von der Bodenart und den Bodenverhältnissen (Salzgehalt, Feuchtigkeit) [16] abhängen. Darüber hinaus wird er sehr stark durch zusätzlich eingetragenen Stickstoff von künstlichen oder organischen Düngemitteln [18, 22, 23, 26] beeinflusst. Die unterschiedliche Herkunft der Futtermittel, die Verwendung unterschiedlicher Düngemittel, der Zeitpunkt der Düngung sowie wechselnde Klimaverhältnisse führen so zu verhältnismäßig großen Unterschieden zwischen den einzelnen Futtermitteln und den

Differenzen zwischen den Jahren 2005 und 2006. Die relativ hohen Streuungen für Gras, Heu, Stroh und Maissilage sind dadurch zu erklären, dass der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des jeweiligen Bodens auch zeitlichen und witterungsbedingten Veränderungen unterliegt [23, 26]. In *Abbildung 21* ist die saisonale Schwankung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte für die Hauptfutterkomponenten (Maissilage, Gras, Heu und Stroh) für die Futtermittel aus Berlin im Jahr 2006 dargestellt.

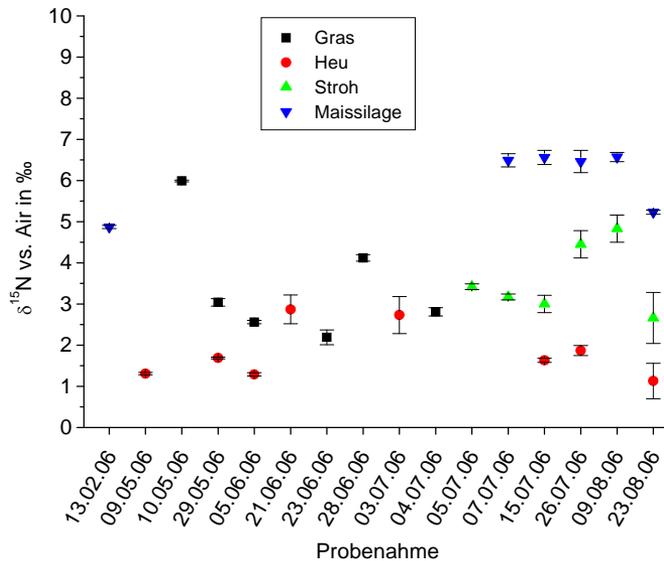


Abbildung 21: Variation der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Hauptfutterkomponenten aus Berlin 2006.

Wie aus *Abbildung 21* ersichtlich wird, variieren die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin innerhalb des Probennahmezeitraumes teilweise bis zu 2 ‰, insbesondere bei Gras und Stroh. Bei einer Futterumstellung von Maissilage auf Gras wird das Gras am Anfang mit Futterkalk bestreut, damit die Rinder nicht gleich zu viel zu sich nehmen, da dies zu Verdauungsproblemen führen kann. Auffällig ist, dass der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von Gras Anfang Mai im Vergleich zu den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten des restlichen Jahres sehr hoch ist. Vermutlich wurde hier eine weitere Stickstoffquelle durch den Futterkalk eingetragen, welche den $\delta^{15}\text{N}$ -Wert beeinflusst. Die hohe Varianz der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von Stroh hingegen ist durch die unterschiedlichen Bezugsquellen zu erklären.

Das Futter für die Rinder aus Götting besteht nur aus einer Mischung von C_3 -Pflanzen. Die Rinder werden im Wesentlichen mit Grassilage, frischem Gras, Heu, Stroh und Gerste ernährt. Die Grassilage und das Heu werden dabei direkt aus selbst

angebautem Gras hergestellt. Die Futtermittel Stroh und Gerste werden von verschiedenen Händlern zugekauft. Teilweise erhalten die Rinder sehr geringe Mengen eines Mineralfutters, welches nur Mineralien und keine weiteren Kohlenstoff- oder Stickstoffquellen enthält und somit auch keinen C- oder N-Eintrag bei der Rinderfütterung leistet. *Tabelle 35* gibt die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Göstlinger Futtermittel an, welche für die Analyse zur Verfügung standen. Frisches Gras konnte dabei nicht erhalten werden, da die Proben erst am Ende der Probennahme aus Göstling nach Berlin transportiert wurden und somit nur getrocknetes Gras bzw. Heu für die Analyse zur Verfügung stand.

Tabelle 35: $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte der Futtermittel aus Göstling (AT) 2006

		$\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB (\pm s, n = 2) in ‰	$\delta^{15}\text{N}$ vs. Air (\pm s, n = 2) in ‰
Grassilage	Mai 06	-28,06 \pm 0,04	0,97 \pm 0,07
Heu (1.Schnitt)	Mai 06	-27,77 \pm 0,01	0,25 \pm 0,12
Heu (2.Schnitt)	Juni 06	-28,23 \pm 0,04	0,34 \pm 0,18
Heu (Mittelwert)		-28,00 \pm 0,33	0,29 \pm 0,06
Stroh	Juni 06	-27,82 \pm 0,05	4,87 \pm 0,02
Gerste	Juni 06	-27,31 \pm 0,03	4,11 \pm 0,19

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Göstlinger Futtermittel liegen zwischen -27 und -28 ‰, im typischen Bereich der C_3 -Pflanzen. Wie bereits bei den Futtermitteln aus Berlin zu sehen war, lassen sich auch im Heu aus Göstling zeitliche Schwankungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte feststellen, die vermutlich auf klimatische Veränderungen zurückzuführen sind. Die Hauptfuttermittel Grassilage bzw. Gras, Heu und Stroh aus Berlin und Göstling, die zu der Klasse der C_3 -Pflanzen gehören und an beiden Standorten verfüttert wurden, weisen $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen -27 und -28 auf. Diese Futtermittel können demnach unter Berücksichtigung der Messunsicherheit von 0,4 ‰ und der saisonalen Schwankungen nicht signifikant voneinander unterschieden werden.

In den in Göstling selbst hergestellten Futtermitteln wurden $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von 0,3 ‰ (Heu) und 1 ‰ (Grassilage) ermittelt. Die Variation von 0,7 ‰ kann dadurch erklärt werden, dass das Gras, aus dem die Silage und das Heu gewonnen wurden, zu unter-

schiedlichen Zeiten geschnitten wurde und sich hier klimatische Änderungen oder unterschiedliche Düngungszeitpunkte auswirken. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der zugekauften Futtermittel Stroh und Gerste weisen ca. 4 ‰ positivere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auf, wobei auch hier Unterschiede von 0,8 ‰ aufgrund der unterschiedlichen Bezugsquellen zu verzeichnen sind. Die unterschiedlichen Anbaubedingungen, z.B. Düngungen, verschiedene Bodenarten und Bodeneigenschaften, führen zu regional verschiedenen $\delta^{15}\text{N}$ -Werten in den pflanzlichen Futtermitteln. Signifikante Unterschiede zwischen Berliner und Göstlinger Futtermitteln können aber aufgrund der hohen Streuungen der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der einzelnen Futtermittel innerhalb eines Standortes nicht festgestellt werden. Eine genaue Aussage darüber, woher das jeweilige Futter stammt, ist dementsprechend anhand der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte nicht möglich. Wie diese Ergebnisse zeigen, sind die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte dennoch geeignet, um die unterschiedliche Herkunft der Futtermittel innerhalb eines Standortes nachzuweisen.

Aufstellung von Futterbilanzen

Mit den Rindern in Berlin wurde 2005 eine gezielte Fütterungsstudie durchgeführt, um zu untersuchen, wie schnell sich Futteränderungen in den Rinderproben feststellen lassen. Für die Fütterungsstudie wurden die Rinder am BfR mit unterschiedlichen Futterzusammensetzungen ernährt. *Tabelle 9* (aus Kapitel 4.1.1) gibt eine Übersicht über die Anteile des jeweiligen Futtermittels an der Gesamtnahrung von 2005, die täglich verfüttert werden. Der wichtigste Unterschied in den jeweiligen Fütterungsphasen liegt im Anteil der Maissilage am Gesamtfutter. Mais gehört, wie bereits erwähnt, zu der Klasse der C_4 -Pflanzen, während die anderen Futtermittel (Gras, Heu, Stroh, Rüben, Soja, Raps und Zuckerrüben) zu der Klasse der C_3 -Pflanzen gehören. Da die Hauptfutterkomponenten Maissilage und Gras unterschiedlichen Pflanzenklassen angehören und somit Unterschiede in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten bis zu 22 ‰ aufweisen können, sollte untersucht werden, ob dieser Unterschied auch in den Rinderproben Milch und Urin wieder zu finden ist. Der Trinkwasseranteil wurde in der Futterbilanz vernachlässigt, da er keinen signifikanten Einfluss auf die Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff ausübt.

Tabelle 9: Futterübersicht der Berliner Rinder für 2005

Anteil der Futterkomponente am Gesamtfutter in kg/Tag 2005									
ab Datum	18.04.	01.05.	10.05.	18.05.	20.06.	08.07.	11.07.	18.07.	27.07.
Futtermischung	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Maissilage	16	16	8	0	0	9	18	18	12
Gras	0	0	0	29,5	30,5	19,5	0	0	11,3
Heu	1	1	0,5	0	0	0,5	0,5	0,5	0,5
Stroh	1,5	1,5	0,5	0	0	0,5	1	1	1
Rüben	6	6	3	0	0	0	0	0	0
Sojaschrot	0,5	0,5	0,3	0	0	0,5	0,5	0,5	0,5
Rapsschrot	1	1	0,5	0	0	1	1	1	1
Zuckerrüben- schnitzel	1	1	1	1,5	1,5	1	1	1	1
Mineralfutter	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Kraffutter	8	7	7	7	6	6	6	5,5	5,5
Summe [kg]	36	35	21,8	39	39	38,5	29	28,5	33,8
Sonstiges	a	a	b	c	c	a	a	a	a

a: abends Heu und Stroh ad libitum, b: plus Grünfütter ad libitum, c: Grünfütter satt, Heu und Stroh nach Belieben

Aus der Kenntnis der prozentualen Anteile der einzelnen Futterkomponenten an der Gesamtnahrung und ihren δ -Werten kann der δ -Wert der Gesamtnahrung für die jeweilige Fütterung berechnet werden. *Tabelle 36* zeigt beispielhaft die Berechnung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes für die Fütterung F1. Die Berechnung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Gesamtnahrung F2–F9 erfolgte analog, ebenso die Berechnung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte. Die so berechneten δ -Werte konnten mit Hilfe der Analyse verschiedener Futtermischungen, die aus den jeweiligen Anteilen (F1–F9) der Einzelfutterkomponenten hergestellt wurden, bestätigt werden (*Tabelle 37*).

Tabelle 36: Berechnung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes der Gesamtnahrung F1

Futtermitteln 18.04–31.04.05 (F1)	Anteil in kg/Tag	Anteil in %	$\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB in ‰*	Anteil $\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB in ‰
Maissilage	16	44,44	-12,54	-5,57
Gras	0	0,00	-27,90	0,00
Heu	1	2,78	-28,14	-0,78
Stroh	1,5	4,17	-26,93	-1,12
Rüben	6	16,67	-25,92	-4,32
Sojaschrot	0,5	1,39	-25,57	-0,36
Rapsschrot	1	2,78	-26,64	-0,74
Zuckerrübenschnitzel	1	2,78	-27,57	-0,77
Mineralfutter	1	2,78	-26,74	-0,74
Krafftutter	8	22,22	-26,55	-5,90
Summe [kg]	36	100		-20,30

* $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte aus dem gesamten Probennahmezeitraum 2005 (siehe Tabelle 33)

Tabelle 37: Berechnete und gemessene $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Gesamtnahrung für verschiedene Fütterungen im Jahr 2005

δ-Werte der Gesamtnahrung in ‰									
ab (Datum)	18.04.	01.05.	10.05.	18.05.	20.06.	8.07.	11.07.	18.07.	27.07.
Futtermitteln	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
$\delta^{13}\text{C}_{\text{ber.}}$	-20,3	-20,1	-21,4	-27,6	-27,7	-24,0	-17,9	-17,8	-22,1
$\delta^{13}\text{C}_{\text{gem.}}$	-19,9	-19,4	-21,2	-27,3	-27,4	-23,7	-17,9	-17,5	-21,7
s	0,7	0,6	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	1,4	0,6
$\delta^{15}\text{N}_{\text{ber.}}$	3,9	4,0	3,6	1,5	1,5	2,5	4,2	4,3	3,0
$\delta^{15}\text{N}_{\text{gem.}}$	3,5	3,2	2,9	1,4	1,2	2,0	-	3,5	2,8
s	0,7	0,3	0,6	0,04	0,4	0,4	-	0,7	0,7

Die ermittelten $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte für die Gesamtnahrung sollten hier zur Abschätzung dienen, wie die Isotopenverhältnisse des Futters waren, welches die Rinder durch die Nahrung aufgenommen haben. Einschränkend muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass die Bilanz mit zwei Unsicherheitsquellen behaftet ist. Zum einem wurde die Berechnung mit den Mittelwerten der Einzelfutterkomponenten aus dem gesamten Fütterungszeitraum durchgeführt. Wie die Auswertung der δ -Werte der einzelnen Futtermittel aus dem Jahr 2006 aber gezeigt hat, unterliegen die δ -Werte zeitlichen Schwankungen. Im Jahr 2005 erfolgte die Probennahme der Futtermittel sehr

unregelmäßig, so dass es hier sinnvoller war, den Mittelwert aus den vorhandenen Proben zu verwenden. Eine zweite Unsicherheitsquelle mit ähnlichem Hintergrund tritt bei den gemessenen Futtermischungen auf. Alle Futtermischungen wurden aus den gleichen Ausgangsmaterialien hergestellt, so dass auch hier die saisonalen Unterschiede nicht wiedergegeben werden.

Die Übereinstimmung zwischen den theoretischen und gemessenen Werten ist dennoch sehr gut, da die saisonalen Schwankungen der δ -Werte kleiner sind als die Unsicherheiten aus der Inhomogenität der Futtermischung. Aus *Tabelle 37* wird ersichtlich, dass minimale Änderungen, beispielsweise durch Veränderung der Menge an Kraftfutter (z.B. zwischen den Futterrationen F1 und F2) Unterschiede in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten von 0,2 ‰ verursachen können. Bei einer Messunsicherheit von 0,4 ‰ sind diese Schwankungen allerdings nicht nachweisbar. Den größten Einfluss auf die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Nahrung hat aber, wie bereits erwähnt, der Anteil der Maissilage am Gesamtfutter. Eine Umstellung der Fütterung von einem Mischfutter aus C_4 - und C_3 -Pflanzen (F1-F2) zu einer reinen Fütterung mit C_3 -Pflanzen (F4-F5) verursacht eine Abnahme des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes des Gesamtfutters um ca. 7 ‰. Änderungen der Futterzusammensetzung lassen sich auch in den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten feststellen. Die Unterschiede der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Futterrationen (ca. 2,5 ‰) sind zwar kleiner als es bei den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Fall ist, aber dennoch signifikant. Sie sind zum Beispiel auf die Unterschiede der verschiedenen $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Hauptfutterkomponenten (Maissilage und Gras) aufgrund der unterschiedlichen Anbaugebiete zurückzuführen.

Beim späteren Vergleich der δ -Werte des Futters mit denen der Rinderproben muss berücksichtigt werden, dass der δ -Wert des Futters sich nur auf die Futterzusammensetzung bezieht, wie sie zur Verfügung gestellt wurde. Ähnlich wie beim Menschen haben Rinder Vorlieben und Abneigungen gegenüber bestimmten Futterkomponenten. Welche Menge eines Futtermittels tatsächlich von den Rindern aufgenommen wurde und wie viel davon, konnte nicht überprüft werden. Darüber hinaus erhielten die Rinder jederzeit Heu und Stroh ad libitum, was bedeutet, dass sie davon essen konnten soviel sie wollten. In der Regel entsprach das einer Menge von ca. 2–4 kg Heu und ca. 1 kg Stroh pro Tag, aber auch hier konnten je nach Tagesform der Rinder Schwankungen auftreten. Eine Aufnahme von 2–4 kg Heu und 1 kg Stroh pro Tag würde während der Mischfütterung mit C_4 - und C_3 -Pflanzen zu einer Abnahme des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes von ca. 0,5 bis 0,9 ‰ führen. Eine zusätzliche Aufnahme von Heu und Stroh während der Fütterung mit C_3 -Pflanzen beeinflusst den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Futters nicht signifikant, da die

$\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Gras, Heu und Stroh im gleichem Bereich zwischen -26 und -28 ‰ liegen und dementsprechend eine vermehrte Aufnahme von Heu und Stroh nicht ins Gewicht fällt. Des Weiteren kann davon ausgegangen werden, dass die Rinder in diesen Fütterungsperioden frisches Gras gegenüber Heu und Stroh vorziehen. Der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Futters würde bei einer maximalen Aufnahme von 4 kg Heu und 1 kg Stroh während der Mischfütterung mit C_4 - und C_3 -Pflanzen um ca. 0,3 ‰ abnehmen und während der Fütterung mit C_3 -Pflanzen um ca. 0,1 ‰ zunehmen. Diese Änderungen sind so gering, dass sie bei weiteren Betrachtungen der $\delta^{14}\text{N}$ -Werte keine große Rolle spielen.

5.3 Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff in Rinderproben

Das Hauptziel der Fütterungsstudie im Jahr 2005 mit den Rindern vom BfR in Berlin lag darin, zu untersuchen, wie schnell sich Futteränderungen in den Isotopenverhältnissen von Kohlenstoff und Stickstoff der Rinderproben nachvollziehen lassen. Mit den Rindern wurde im Jahr 2005 eine gezielte Futterumstellung durchgeführt, um die Umstellungszeiten der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff in der Milch und dem Urin der Rinder bestimmen zu können. In *Tabelle 38* wird eine Übersicht über die durchschnittlichen prozentualen Anteile der Einzelfutterkomponenten am Gesamtfutter im Probenzeitraum 2005 gegeben. Im Vergleich zu den vorher gehenden Tabellen, wurden die Probenahmezeiträume (F1–F9) zu einzelnen Fütterungsphasen (1–3) zusammengefasst, die sich im Wesentlichen nur in der Zusammensetzung der Hauptfutterkomponenten (Maissilage und Gras) unterscheiden.

In Phase 1 der Fütterungsstudie wurden die Rinder mit einer Mischung aus 45 % C_4 -Pflanzen (Maissilage) und 55 % C_3 -Pflanzen (u. a. Heu, Stroh, Rüben) ernährt. Zwischen Phase 1 und 2 wurde innerhalb von 7 Tagen der Maisanteil im Futter um die Hälfte reduziert. Die Futterumstellung von Maissilage auf Grasfütterung musste aus tierphysiologischen Gründen langsam erfolgen, da die Rinder bei einer zu schnellen Futterumstellung unter Verdauungsproblemen leiden. Nach der Umstellungszeit von 7 Tagen erfolgte in Phase 2 eine 100 %ige Fütterung mit C_3 -Pflanzen. Eine Rückumstellung von Gras auf Maissilage konnte ohne Umstellungszeit erfolgen, so dass die Tiere in Phase 3 schlagartig mit 63 % C_4 - und 37 % C_3 -Pflanzen ernährt wurden.

Tabelle 38: Durchschnittlicher Prozentualer Anteil der Futterkomponenten am Gesamtfutter für die Fütterungsstudie der Berliner Rinder im Jahr 2005

	Futterzusammensetzung in %		
	18.04.-09.05.05 Phase (1)	18.05.-07.07.05 Phase (2)	08.07.-26.07.05 Phase (3)
Maissilage	45	0	63
Gras	0	76	0
Heu	3	0	2
Stroh	4	0	3
Rüben	17	0	0
Sojaschrot	1	0	2
Rapsschrot	3	0	3
Zuckerrübenschnitzel	3	4	3
Mineralfutter	3	3	3
Krafftutter	21	17	21
$\delta^{13}\text{C}_{\text{ber. Futter}}$	-20,2	-27,7	-17,9
$\delta^{15}\text{N}_{\text{ber. Futter}}$	3,9	1,5	4,3

5.3.1 Einfluss des Futterwechsels auf die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte verschiedener Rinderproben

Im Folgenden werden die Veränderungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Milch und Urin der Rinder während der Fütterungsstudie diskutiert. In *Abbildung 22* sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für Milch- und Urinproben in den einzelnen Fütterungsphasen dargestellt. Die grau schraffierten Flächen entsprechen den Zeiträumen der Futterumstellung. Die mit Buchstaben beschrifteten Pfeile geben die berechneten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Futters aus der Fütterungsphase 1 (a) bzw. 2 (b) an. Die horizontalen Linien entsprechen den $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerten aus allen in dem jeweiligen Fütterungszeitraum untersuchten Milch- bzw. Urinproben, welche später noch gesondert diskutiert werden (*Tabelle 39*).

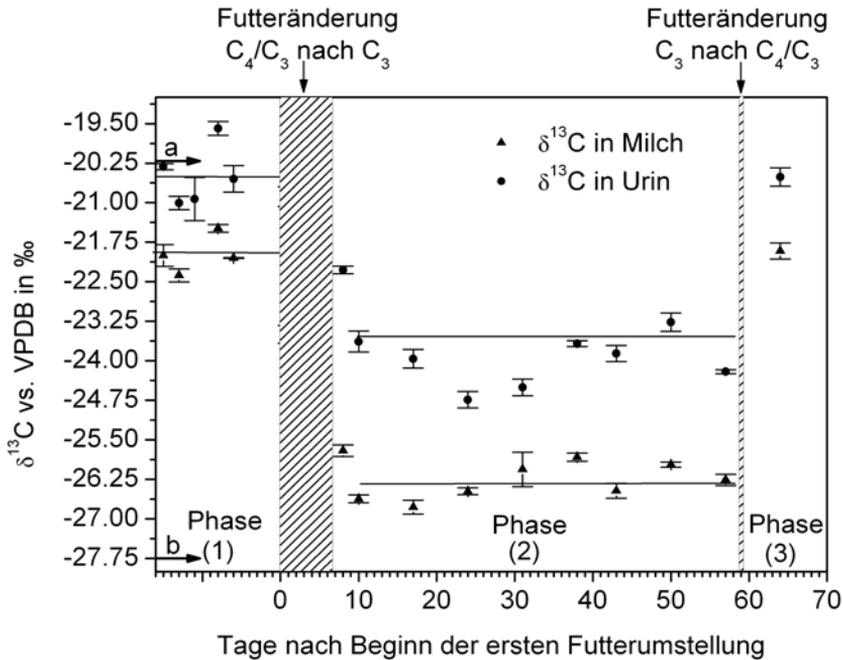


Abbildung 22: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Milch und Urin während der Futterumstellung (grau schraffierte Flächen) und bei unterschiedlichen Rinderfütterungsphasen, (1) 45/55 % C_4/C_3 -Fütterung, (2) 100 % C_3 -Fütterung, (3) 63/37 % C_4/C_3 -Fütterung. Die Pfeile entsprechen dem berechneten $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Futters in Phase 1 (a) und Phase 2 (b).

Aus *Abbildung 22* ist ersichtlich, dass der Futterwechsel von dem Mischfutter aus C_4 - und C_3 - Pflanzen (Phase 1) zu einer reinen Ernährung mit C_3 -Pflanzen (Phase 2) sehr schnell zu einer Änderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in den Milch und Urinproben führt. Ein Abnahme der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte sowohl in den Milch- als auch in den Urinproben beginnt zur gleichen Zeit, in der der Maisanteil, und somit die Futterkomponenten mit den weniger negativen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Nahrung, reduziert wird. Die Milchproben aus der zweiten Fütterungsphase haben 4,3 ‰ negativere δ -Werte als die Proben, die während der ersten Fütterungsphase gesammelt und analysiert wurden. Bei den Urinproben beträgt der Unterschied in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten bei den unterschiedlichen Fütterungsphasen 3,5 ‰, wobei auch hier die Urinproben bei der reinen Fütterung mit C_3 -Pflanzen (zweite Fütterungsphase) negativere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte haben als Proben aus der ersten Fütterungsphase.

Weiterhin ist aus *Abbildung 22* sehr gut erkennbar, dass bereits drei Tage nach Ende der Umstellungszeit der Mittelwert für die neue Fütterung aus Phase 2 in Milch und Urin erreicht wird. Das entspricht einer Umstellungszeit von zehn Tagen nach Beginn der Futterumstellung. Auch bei einer schnellen Rückumstellung des Futters von C₃-Ernährung auf das C₄/C₃-Mischfutter wurde eine Veränderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in den Milch- und Urinproben bereits innerhalb weniger Tage deutlich, wobei allerdings der neue Gleichgewichtswert von Phase 3 noch nicht vollständig erreicht wurde.

Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit Untersuchungen, die von Button et al. [69] und von Jones et al. [71] an Rindern durchgeführt wurden. Die Ergebnisse aus dieser Studie konnten bestätigen, dass ein Futterwechsel sehr schnell in Milch- und auch Urinproben von Rindern sichtbar ist. Obwohl bei der ersten Futterumstellung von Phase 1 zu Phase 2 keine echten Umstellungszeiten angegeben werden können, da hier keine abrupte Futterumstellung erfolgte, ist eine langsame Reduzierung des Maisanteils bereits am Tag nach Beginn der Umstellung sowohl in den Milch- als auch in den Urinproben durch Abnahme der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte sichtbar.

Bei der Interpretation der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte muss immer berücksichtigt werden, dass verschiedene tierische Proben unterschiedliche Umstellungszeiten der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei einem Futterwechsel aufweisen. Bei Rindfleisch dauert es ca. 230 Tage, bis eine Futterumstellung in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten nachvollzogen werden kann [65]. Im Rinderblut wird eine vollständige Umstellung der Isotopenzusammensetzung ca. 70 Tage nach einem Futterwechsel erreicht. Wie in dieser Arbeit festgestellt wurde, spiegeln die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Rinderproben Milch und Urin, die sich durch einen hohen Stoffwechselumsatz auszeichnen, nur die Ernährung der letzten zehn Tage wider.

Um Informationen über länger zurückliegende Ereignisse bezüglich der Fütterung zu erhalten, können die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Haaren bestimmt werden [68, 79, 81, 178, 179]. Ein Rinderhaar wächst ca. 0,51 mm/d [68], so dass bei einem 70–90 mm langen Haar Informationen über die vergangenen 5–6 Monate erhalten werden können. In dieser Arbeit wurde ein im April 2005 entnommenes, ca. 50 mm langes Rinderhaar in 6 mm lange Stücke geteilt. In den einzelnen Haarabschnitten wurde dann das Kohlenstoff-Isotopenverhältnis bestimmt (*Abbildung 23*). Die Standardabweichung der Messung lag bei 0,1 ‰.

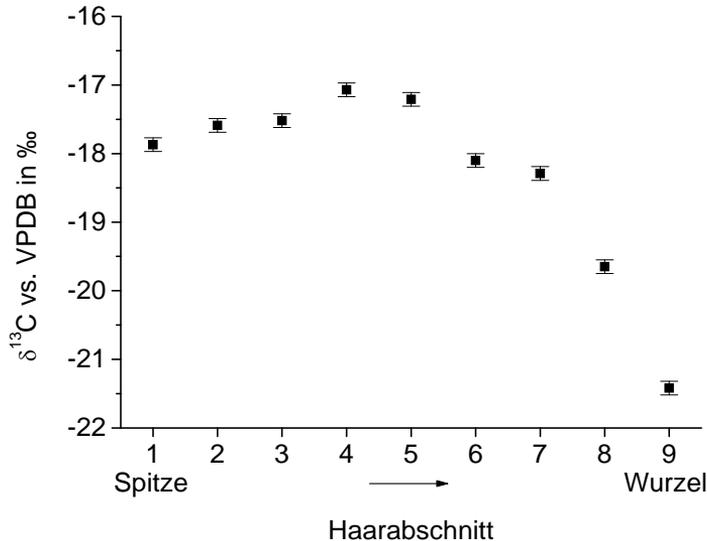


Abbildung 23: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte einzelner Haarabschnitte

Von der Wurzel bis zur Spitze des Haares variieren die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte um insgesamt 3,6 ‰. Die Ursache liegt darin, dass die Rinder von November 2004 bis April 2005 ein Futter aus 57/43 % C_4/C_3 -Pflanzen erhalten haben, wobei mit der Zeit der Anteil an Futtermittelzusätzen (Mineralfutter, Kraftfutter) von 0 auf 22 % erhöht wurde. Die Futterzusätze enthalten verschiedene C_3 -Pflanzen, was zu negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten führt.

Wie bereits aus diesen Ergebnissen interpretiert werden kann, ist es möglich, durch die Analyse der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in den verschiedenen Rinderproben Rückschlüsse auf die Ernährung von Rindern zu erhalten. *Tabelle 39* zeigt die $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte der Milch und Urinproben für die drei Fütterungsphasen. Darüber hinaus wird der aus der Futterbilanz (Kapitel 4.2) berechnete $\delta^{13}\text{C}$ -Wert für die jeweilige Fütterung angegeben. Ein Unterschied im Anteil der Maissilage (C_4 -Pflanze) am Gesamtfutter macht sich nicht nur im $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Futters bemerkbar, sondern auch in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten von Milch und Urin. Ein höherer Anteil an Maissilage (C_4 -Komponente der Nahrung) führt zu positiveren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten in Futter, Milch und Urin. Die Ergebnisse für die dritte Fütterungsperiode entsprechen, im Gegensatz zu den anderen beiden Fütterungsphasen, noch keinem Gleichgewichtswert. Sie werden aber hier mit aufgeführt, weil sie den Trend verdeutlichen. Fünf Tage nach der Rückumstellung von Phase 2 auf Phase 3 betragen

die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in der Milch $-21,9\text{‰}$, im Urin $-20,5\text{‰}$ und weitere 14 Tage später wurde sowohl in der Milch als auch im Urin ein $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von $-18,9\text{‰}$ ermittelt.

Tabelle 39: $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte vom Futter, Milch und Urin während der Fütterungsstudie 2005

Fütterung	$\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB in ‰ (\pm s)		
	Gesamtfutter*	Milch	Urin
1: C ₄ /C ₃ (45/55 %)	-20,2	-22,0 \pm 0,4 (n = 4)	-20,5 \pm 0,6 (n = 5)
2: C ₃ (100 %)	-27,7	-26,3 \pm 0,3 (n = 8)	-24,0 \pm 0,5 (n = 8)
3: C ₄ /C ₃ (63/37 %)	-17,9	-20,4 \pm 2,1** (n = 2)	-19,7 \pm 1,1** (n = 2)

* Aus Futterbilanz berechneter $\delta^{13}\text{C}$ -Wert; ** Hohe Standardabweichung, weil der neue Mittelwert noch nicht erreicht war; n = Anzahl der Proben

Aus Tabelle 39 wird ersichtlich, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Milchproben abgesehen von der dritten Fütterungsperiode ca. 2 ‰ negativer sind als die der Urinproben. Die genauen Ursachen sind für Rinderproben noch nicht erforscht. Ernährungsstudien mit anderen Tieren, wie zum Beispiel bei Mäusen [60, 63] zeigen, dass bei gleicher Fütterung in unterschiedlichen Tierkompartimenten (Haare, Muskel, Leber, Fette) unterschiedliche Isotopenfraktionierungen auftreten. Stark fetthaltige Kompartimente zeigen dabei im Vergleich zu allen anderen Gewebeproben die negativsten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aufgrund einer sehr stark ausgeprägten Isotopenfraktionierung von ^{13}C während der Fettbildung. Der hohe Fettgehalt der Milch könnte demzufolge ein Grund für die negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Vergleich zum Urin sein.

Wie die Ergebnisse weiterhin zeigen, reflektieren Milch und Urin die Zusammensetzung des Futters der jeweiligen Futterperioden. Eine Futteränderung von dem Mischfutter aus C₄/C₃-Pflanzen (Phase 1) zu einer reinen Ernährung mit C₃-Pflanzen führt bei den Milchproben zu einer Abnahme des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes um $-4,3\text{‰}$ und bei den Urinproben zu einer Abnahme um $-3,5\text{‰}$. Allerdings zeigen die tierischen Proben unterschiedliche Isotopenfraktionierungen bei der Aufnahme des Kohlenstoffs aus der Nahrung. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Milch- und Urinproben, welche von Rindern während der ersten Fütterungsphase (C₄/C₃-Mischfütterung) gesammelt und analysiert wurden, zeigen eine Abreicherung an ^{13}C , d.h. negativere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Vergleich zum Futter. Wobei das Ausmaß der Abreicherung bei den Milchproben stärker ist ($-1,8\text{‰}$), als bei den Urinproben ($-0,5\text{‰}$). Bei der Rinderfütterung mit reinen C₃-Pflanzen wurden in den Milch und Urinproben positivere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, d.h. eine ^{13}C -Anreicherung im Vergleich zum

Futter ermittelt. Hier ist allerdings das Ausmaß der Anreicherung bei der C₃-Fütterung in den Urinproben größer (+3,7 ‰), als bei den Milchproben (+1,4 ‰). Eine mögliche Ursache könnte sein, dass bei der Milch- und Urinproduktion verschiedene Nahrungsbestandteile verwertet werden, welche mit unterschiedlichen Isotopenfraktionierungen verbunden sind. Unterschiedliche Isotopenfraktionierungen in den verschiedenen Rinderproben wurden bereits bei Untersuchungen mit Milch, Faeces und Haaren [69, 71, 79, 81] festgestellt. Als Ursache wird eine unterschiedlich stark ausgeprägte Diskriminierung von ¹³C während der Futteraufnahme und der biochemischen Umwandlung der einzelnen Futterkomponenten vermutet.

Bei den bisher vorgestellten Ergebnissen muss beachtet werden, dass der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Futters auf theoretischen Überlegungen basiert. Welche Mengen eines Futtermittels vom Rind tatsächlich aufgenommen wurden, konnte nicht kontrolliert werden. Des Weiteren kommt hinzu, dass die Rinder Heu und Stroh (beides C₃-Pflanzen) je nach Belieben aufnehmen können, welches in der Futterbilanz ebenfalls nicht berücksichtigt wurde und während der Mischfütterung (Phase 1 und 3) zu einer Verschiebung zu negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten des Futters um 0,5 bis 0,9 ‰ führen kann. *Abbildung 24* zeigt den Vergleich der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Milchproben, die von einem Rind beziehungsweise in der Sammelmilch von acht Rindern bei unterschiedlichen Fütterungen bestimmt wurden. Hier wird deutlich, dass es aufgrund unterschiedlicher Vorlieben bei der Futteraufnahme zu größeren Streuungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen der Milch eines Rindes und der Sammelmilch von vielen Rindern kommen kann. Signifikante Unterschiede der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen Einzel- und Sammelmilch lassen sich, wie bereits vermutet wurde, gerade bei den unterschiedlichen Milchproben in der ersten Fütterungsphase, d.h. während der Mischfütterung mit C₄/C₃-Pflanzen feststellen. Hierbei muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Proben zwar aus der gleichen Fütterungsperiode stammen, aber an unterschiedlichen Tagen genommen wurden. Bei den anderen beiden Fütterungsphasen treten innerhalb der Messunsicherheit keine signifikanten Unterschiede $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen der Einzel- und der Sammelmilch auf.

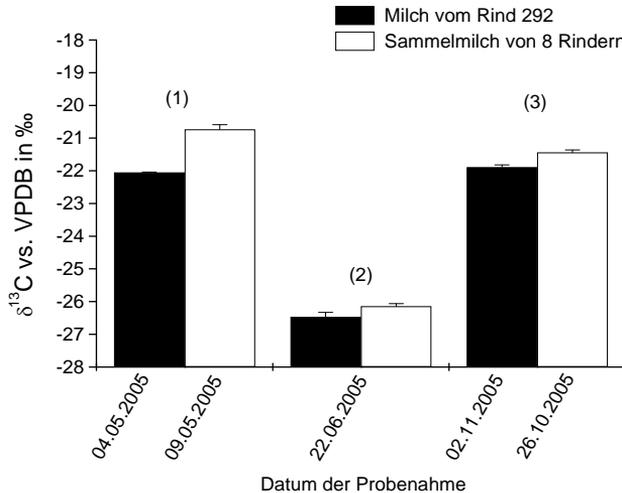


Abbildung 24: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Milchproben eines einzelnen Rindes und der Sammelmilch von 8 Rindern bei unterschiedlichen Rinderfütterungsphasen, (1) 45/55 % C_4/C_3 -Fütterung, (2) 100 % C_3 -Fütterung, (3) 48/52 % C_4/C_3 -Fütterung.

5.3.2 Einfluss des Futterwechsels auf die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte verschiedener Rinderproben

Auch für die Stickstoffisotopenverhältnisse ist bekannt, dass sie Rückschlüsse über die Tiernahrung geben, wenn die Futterpflanzen unterschiedliche Stickstoffisotopenverhältnisse aufweisen [62, 64, 74, 78, 80]. Dabei spielt das Verhältnis von C_4 - zu C_3 -Pflanzen in der Rinderfütterung keine Rolle, da die Photosynthese keinen Einfluss auf das Stickstoffisotopenverhältnis in den Pflanzen ausübt. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte verschiedener Pflanzen liegen im Bereich von -5 und +10 ‰ [6, 16] und spiegeln das Stickstoffisotopenverhältnis des Bodens wider. Bisher sind in der Literatur keine Umstellungszeiten für Stickstoffisotopenverhältnisse bei Futteränderungen beschrieben worden.

Die Ergebnisse dieser Fütterungsstudie zeigen (Abbildung 25), dass die Unterschiede in den Stickstoffisotopenverhältnissen in Milch und Urin bei unterschiedlichen Fütterungsphasen der Rinder sehr gering sind, im Vergleich zu den Unterschieden, die bei den Kohlenstoffisotopenverhältnissen bestimmt wurden. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Milchproben zeigen keine signifikante Abhängigkeit von der Fütterung, während sich bei den Urinproben der Futterwechsel von Phase 1, dem Mischfutter aus C_4 - und C_3 -Pflanzen, zur Phase zwei, der reinen Fütterung mit C_3 -Pflanzen, erst nach einer sehr langen Umstellungszeit von 49 Tagen durch eine Abfall der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte um

-1,4 ‰ bemerkbar macht. Die Rückumstellung von der reinen Fütterung mit C₃-Pflanzen (Phase 2) zu einer Mischfütterung mit C₄- und C₃-Pflanzen (Phase 3) erfolgte bei den Urinproben schon innerhalb von 12 Tagen, wobei hier wieder davon ausgegangen werden muss, dass der neue Gleichgewichtswert noch nicht erreicht wurde.

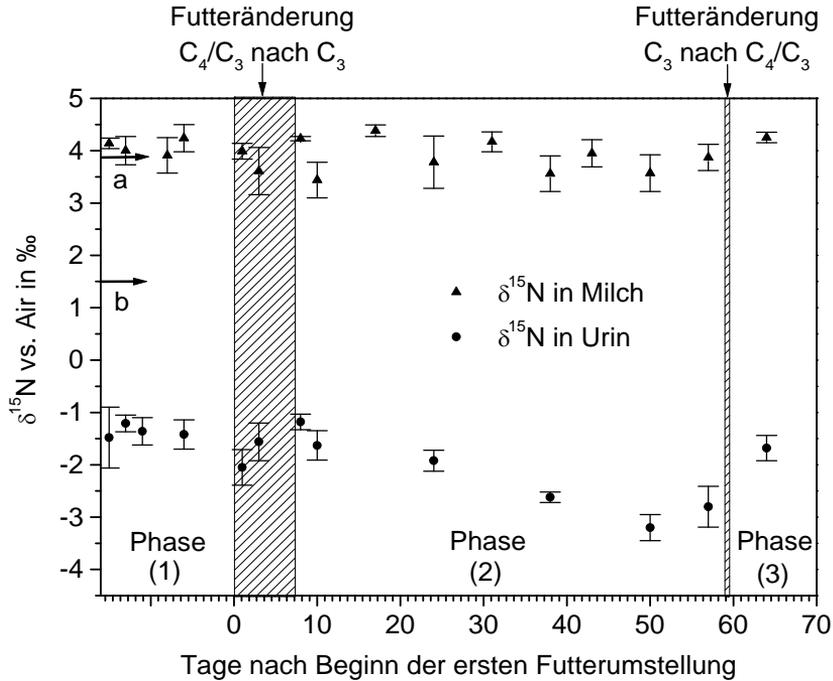


Abbildung 25: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in Milch und Urin während der Futterumstellung (grau schraffierte Flächen) und bei unterschiedlichen Rinderfütterungsphasen, (1) 45/55 % C₄/C₃-Fütterung, (2) 100 % C₃-Fütterung, (3) 63/37 % C₄/C₃-Fütterung. Die Pfeile entsprechen dem berechneten $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Futters in Phase 1 (a) und Phase 2 (b).

Der Vergleich der $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte für Futter, Milch und Urin in *Tabelle 40* zeigt, dass die Milchproben im Vergleich zum Futter um 0,3 bis 2 ‰ mit ¹⁵N angereichert sind, während die Urinproben um -4 bis -6 ‰ an ¹⁵N abgereichert sind.

Tabelle 40: $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte vom Futter, Milch und Urin während der Fütterungsstudie 2005

Fütterung	$\delta^{15}\text{N}$ vs. VPDB in ‰ (\pm s)		
	Gesamtfutter*	Milch	Urin
1: C ₄ /C ₃ (45/55 %)	3,9	4,1 \pm 0,2 (n = 4)	-1,4 \pm 0,1 (n = 4)
2: C ₃ (100 %)	1,5	3,7 \pm 0,2 (n = 3)	-2,9 \pm 0,3 (n = 3)
3: C ₄ /C ₃ (63/37 %)	4,3	4,3 \pm 0,1** (n = 1)	-1,5 \pm 0,3** (n = 2)

* Aus Futterbilanz berechneter $\delta^{15}\text{N}$ -Wert; ** Neuer Gleichgewichtswert war noch nicht erreicht; n = Anzahl der Proben

Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Sutoh et al. [78] und Steele et al. [80] gefunden. Bei der Untersuchung von Milch, Urin, Faeces und Blut von Rindern, welche mit unterschiedlichen Futterzusammensetzungen ernährt wurden, konnten sie zeigen, dass es im Urin zu einer Abreicherung von ^{15}N um -2 bis -5 ‰ im Vergleich zum Futter kommt, während bei Milch, Faeces und Blut eine Anreicherung von ^{15}N um +1 bis +5 ‰ festzustellen war. Mögliche Ursachen für die starke Abreicherung von ^{15}N im Urin werden in der Literatur kontrovers diskutiert. Zum einem gibt es Hinweise [6], dass diese Isotopenfraktionierung während der Harnstoffsynthese aufgrund der Exkretion von leichten Stickstoff auftritt, andererseits besteht die Meinung [74, 78, 82], dass es schon vor der Exkretbildung zu einer Isotopenfraktionierung auf anderem nicht bekanntem Weg kommt.

Die Ermittlung des $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes des Gesamtfutters bei den verschiedenen Fütterungsphasen ergibt bei dem Wechsel von Phase 1 zu Phase 2 einen Unterschied von -2,4 ‰. Dieser Futterwechsel führt im Urin zu einer Abnahme des $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes um -1,5 ‰, während nur ein sehr geringer Einfluss in Milch zu sehen ist. Dass Futteränderungen nur zu einer sehr geringen Änderung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in den Rinderproben (Milch, Faeces, Blut) führen, wurde auch in Arbeiten von Camin et al. [76], Sutoh et al. [78] und Steele et al. [80] festgestellt. Als mögliche Ursache wird die unterschiedliche Aufnahme und metabolistische Umsetzung der Futtermittelbestandteile in den verschiedenen Rinderkompartimenten aufgeführt.

5.3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der Fütterungsstudie

Rinder sind Pflanzenfresser und werden in der Regel mit Maissilage (C₄-Pflanze), verschiedenen C₃-Pflanzen (Gras, Heu, Stroh, Soja, Raps) oder einer Mischung aus C₄- und C₃-Pflanzen ernährt, wobei die Futterzusammensetzung je nach Region sehr stark variieren kann. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Milch und Urin werden sehr stark durch das aufgenommene Futter beeinflusst. Hier spielen vor allen Dingen unterschiedliche Isotopenfraktionierungen von C₄- und C₃-Pflanzen während der Photosynthese eine Rolle. In der hier durchgeführten Fütterungsstudie können Proben von Rindern, welche mit einem Mischfutter aus C₄- und C₃-Pflanzen ernährt wurden, anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte klar von Proben unterschieden werden, die von Rindern erhalten wurden, welche hauptsächlich mit C₃-Pflanzen gefüttert wurden. Ein Nahrungswechsel lässt sich innerhalb von zehn Tagen in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten von Milch- und Urinproben feststellen. Der Ortswechsel eines Rindes, der mit unterschiedlichen Tierhaltungsbedingungen d.h. unterschiedlichen Fütterungen verbunden sein kann, ist z.B. in der Milch und in Milchprodukten nur zehn Tage lang sichtbar. Informationen über länger zurückliegende Fütterungen oder Futteränderungen können anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Rinderhaaren ermittelt werden.

Über die Bestimmung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in Rinderproben können ebenfalls Informationen über die Ernährung der Rinder erhalten werden. Der Einfluss der Ernährung auf die Stickstoffisotopenverhältnisse der Rinderproben ist aber weit weniger stark ausgeprägt, als es beim Kohlenstoffisotopenverhältnis der Fall ist. Obwohl die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der in dieser Studie verwendeten Hauptfuttermittel aus Berlin (Gras und Maissilage) Unterschiede von ca. 3 ‰ zeigen, wird diese Differenz durch die Mischfütterung von C₄- und C₃-Pflanzen verringert, so dass zwischen den in dieser Studie verwendeten Futterzusammensetzungen nur Unterschiede in den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten von 1,9 ‰ zu verzeichnen sind. Diese Futterunterschiede sind gering im Vergleich zu den Futterunterschieden, die bei den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten (7,5 ‰) auftreten. Wie diese Studie zeigt, führt ein Futterwechsel von einem Mischfutter aus C₄- und C₃-Pflanzen zu einer reinen Fütterung mit C₃-Pflanzen nach einer relativ langen Umstellungszeit von 49 Tagen zu einer Abnahme des $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes im Urin um ca. -1,4 ‰. Die Rückumstellung von der reinen Fütterung mit C₃-Pflanzen zu einer Mischfütterung mit C₄- und C₃-Pflanzen ist bereits innerhalb von 12 Tagen durch eine Zunahme des $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes im Urin feststellbar. Die Milchproben zeigen dagegen keine signifikanten Unterschiede bei

verschiedenen Rinderfütterungen, was vermutlich auf metabolistische Effekte und die unterschiedliche Futterverwertung zurückzuführen ist.

Sowohl bei den $\delta^{13}\text{C}$ - als auch bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten werden in den Rinderproben nicht die Isotopenverhältnisse des aufgenommenen Futters wiedergegeben. Abgesehen davon, dass die δ -Werte des Futters nur auf dem Futterangebot basieren und nicht das tatsächlich von den Rindern aufgenommenen Futter repräsentieren, lassen sich signifikante Unterschiede zwischen den Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnissen des Futters und den Rinderproben feststellen. Die Abweichungen der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte zwischen Futter und Rinderproben wird durch unterschiedliche Verstoffwechslung der Bestandteile der Nahrung von den unterschiedlichen Rinderkompartimenten verursacht. Je nach Futterzusammensetzung tritt bei diesen Stoffwechselprozessen eine unterschiedlich stark ausgeprägte Isotopenfraktionierungen auf.

5.4 Vergleich zwischen Rinderproben aus Deutschland und Österreich

Der Schwerpunkt der Untersuchungen ab 2006 lag in der Frage, wie sich unterschiedliche Standorte und dementsprechend Unterschiede in den Tierhaltungsbedingungen, speziell der Fütterungen, auf die Isotopenvariation verschiedener Rinderproben auswirken. Um mehr aussagekräftige Parameter für eine Unterscheidung der geographischen Herkunft der Proben zu erhalten, wurde das Analysenspektrum erweitert. Zusätzlich zu der Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) und Stickstoff ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) wurden auch die Isotopenverhältnisse von Magnesium ($^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$) und Strontium ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) in den Rinderproben Milch und Urin sowie in den einzelnen Futtermitteln untersucht. Das Ziel der Untersuchungen war es, herauszufinden, ob neben den Isotopenverhältnissen der leichten Elemente auch Isotopenverhältnisse anderer Elemente einen Beitrag zur Unterscheidung von Proben unterschiedlicher Herkunft leisten können. Mit der in 2005 erlangten Kenntnis über die Umstellungszeit bei einem Futterwechsel wurden nur Rinderproben analysiert, bei welchen bereits eine vollständige Umstellung angenommen werden konnte. Aufgrund des hohen Aufwands der Vergleichsstudie, insbesondere der damit verbundenen hohen Probenanzahl sowie der sehr aufwendigen Probenvorbereitung und Messung, gerade bei der Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Magnesium und Strontium, konnten im Rahmen dieser Arbeit von jedem Standort nur Proben eines einzelnen Rindes analysiert

werden. Wie die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in der Einzelmilch und der Sammelmilch von 2005 zeigten, können zwischen verschiedenen Rindern Variationen aufgrund der unterschiedlichen Vorlieben bei der Futteraufnahme und der jeweiligen Tagesform des Rindes auftreten. Der Trend der Futterumstellung konnte aber in jedem Fall nachvollzogen werden, so dass davon ausgegangen werden kann, dass auch bei der Analyse von Proben eines Rindes repräsentative Ergebnisse erzielt werden können.

In den folgenden Kapiteln werden die Ergebnisse dieser Vergleichsstudie dargestellt und diskutiert. Verglichen werden dabei die Isotopenverhältnisse der Elemente Kohlenstoff, Stickstoff, Magnesium und Strontium von Milch und Urinproben jeweils eines Rindes aus Berlin und Göstling, welche mit verschiedenen Futterzusammensetzungen ernährt wurden. Proben von Rindern, welche die gleichen Hauptfutterkomponenten erhalten hatten, wurden jeweils zu einer Gruppe zusammengefasst. Auf diese Weise sind vier Gruppen entstanden, die in den folgenden Kapiteln miteinander verglichen werden und die in *Tabelle 41* dargestellt sind. In allen folgenden Tabellen entspricht *n* der Anzahl der Proben, die in dem jeweiligen Fütterungszeitraum analysiert wurden. Die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff erfolgte in dieser Vergleichsstudie jeweils über eine Doppelbestimmung. Für die Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Strontium und Magnesium wurden aufgrund der sehr aufwendigen Probenvorbereitung nur drei Proben pro Fütterungsphase jeweils in einer Einzelbestimmung untersucht. Die Isotopenverhältnisse von Magnesium und Strontium werden, anders als bei den Isotopenverhältnissen von Kohlenstoff und Stickstoff, sowohl als δ -Wert als auch als R-Wert angegeben.

Tabelle 41: Gruppeneinteilung der untersuchten Rinderproben 2006

Proben- gruppe	Herkunft	Probennummer		Futtermitt- el/zeitraum 2006	Probennahme- Hauptfutter
		Milch	Urin		
DE1	Berlin	M540 - M580 M864 - M1108	U537 - U577 U861 - U1105	22.05. - 17.05. 07.07. - 09.08.	F1, F4 (Mais- silage/Heu)
DE2	Berlin	M752 - M845	U749 - U842	16.06. - 05.07.	F3 (Gras)
AT1	Göstling	M1 - M6	U1 - U6	16.05. - 21.05.	Grassilage
AT2	Göstling	M21 - M32	U21 - U35	05.06. - 21.07	Gras

Zur Überprüfung, ob sich die Mittelwerte von Proben aus den vier Gruppen signifikant voneinander unterscheiden, wurde der t-Test durchgeführt. Dieser setzt allerdings

voraus, dass eine Varianzhomogenität der beiden zu vergleichenden Messreihen gegeben ist. Dieses wurde mit dem so genannten F-Test überprüft. Beide Prüfverfahren sind ausführlich von Doerffel [175] beschrieben worden. Mittelwerte wurden nur bei einem Signifikanzniveau von > 95 % als signifikant verschieden deklariert.

Die Rinder aus Berlin wurden, wie bereits erwähnt, unter konventionellen Bedingungen gehalten. In den Wintermonaten erhielten die Tiere eine Mischung aus Maissilage, Heu, Stroh, Rüben, Raps und Soja (*siehe F1, F4 in Tabelle 42*) und in den Sommermonaten hauptsächlich frisches Weidegras (F3). Ganzjährig wurden der Nahrung verschiedene Nahrungsergänzer (Mineralfutter, Krafffutter) zugesetzt. Die Futtermischung F2, sowie Proben aus diesem Fütterungszeitraum sind in *Tabelle 42* nicht mit aufgeführt, weil in diesem Zeitraum die Futterumstellung stattfand und keine Proben aus dieser Fütterungsphase analysiert wurden.

Tabelle 42: Futterübersicht der Berliner Rinder für 2006

Futtermischung Gehalte in kg/Tag	F1	F3	F4
ab Datum 2006	11.05.	05.06.	07.07.
Maissilage	18	0	18
Gras	0	29,5	0
Heu	1	0	1
Stroh	1	0	1
Sojaschrot	0,5	0	0,5
Rapsschrot	1	0	1
Zuckerrübenschnitzel	1	1	1
Krafffutter	5	6	5,5
Mineralfutter	1	1	1
Summe	28,5	37,5	29
Sonstiges	a	b	a

a: abends Heu und Stroh ad libitum, b: Grünfutter satt, Heu und Stroh ad libitum

Bei den Rindern aus Göttingen handelt es sich um reine Weiderinder, die unter ökologischen Bedingungen gehalten wurden und hauptsächlich mit Grünfutter (Gras, Heu, Stroh, Gerste) gefüttert wurden. In den Wintermonaten erhielten sie hauptsächlich Grassilage und in den Sommermonaten frisches Weidegras. Im Vergleich zur konventionellen Tierhaltung werden bei der ökologischen Tierhaltung nur sehr geringe Mengen

nahrungsergänzender Stoffe (z.B. Mineralfutter) zugesetzt, die für die ökologische Rinderhaltung lizenziert sind.

5.4.1 Kohlenstoffisotopenverhältnisse in Rinderproben aus Berlin und Götting bei unterschiedlichen Fütterungen

Abbildung 26 zeigt die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der analysierten Milch- und Urinproben aus Berlin (DE) und Götting (AT) aus dem Jahr 2006.

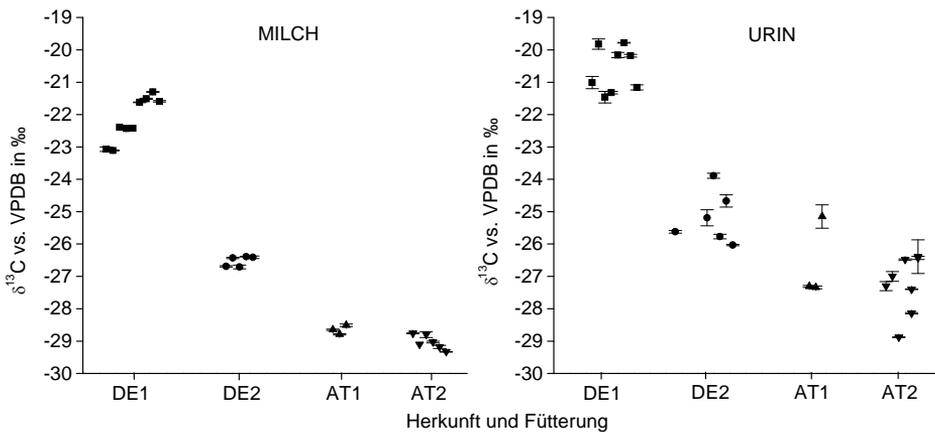


Abbildung 26: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für Milch und Urin aus Berlin (DE) und Götting (AT) von 2006 bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C₄/C₃-Mischfutter (Maissilage/Heu), DE2: C₃-Futter (Gras), AT1: C₃-Futter (Grassilage), AT2: C₃-Futter (Gras).

Es ist deutlich zu erkennen, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Rinderproben (Milch und Urin) der Gruppe DE1 aufgrund des hohen Anteils an Maissilage (C₄-Pflanze) im Rinderfutter viel positiver sind als die Werte der anderen Gruppen (DE2, AT1, AT2). Interessanterweise können auch bei gleicher Fütterung mit C₃-Pflanzen Unterschiede der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen Rinderproben aus Berlin (DE1) und Götting (AT1, AT2) festgestellt werden: die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Milch- und Urinproben aus Berlin, die während der reinen Fütterung mit C₃-Pflanzen erhalten wurden (DE2), sind positiver als die Milch- und Urinproben aus Götting (AT1, AT2), welche ebenfalls Fütterungen mit verschiedenen C₃-Pflanzen widerspiegeln. Auffällig ist der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von -25,2 ‰ einer Urinprobe aus der Gruppe AT1, welcher 2 ‰ positiver ist als die beiden anderen Werte dieser Gruppe. Die Werte konnten mit einer Standardabweichung von 0,36 ‰ reproduzierbar ermittelt werden und die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Gerätekontrollproben, die vor und nach dieser Probe bestimmt

wurden, waren in sehr guter Übereinstimmung mit ihren Sollwerten. Artefakte durch die Messung können daher ausgeschlossen werden. Da die Rinderproben an unterschiedlichen Tagen gesammelt wurden, ist anzunehmen, dass hier eine natürliche Variation aufgrund der unterschiedlichen Nahrungsaufnahme des Rindes auftrat.

Zur statistischen Absicherung wurde mit den Rinderproben der vier verschiedenen Gruppen (DE1, DE2, AT1, AT2) von 2006 und zum Vergleich auch mit den Berliner Rinderproben aus dem Jahr 2005 ein Signifikanztest (t-Test) durchgeführt. *Tabelle 43* gibt eine Übersicht über die Mittelwerte der in *Abbildung 26* dargestellten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Rinderproben aus den vier Probengruppen, wobei signifikant verschiedene Werte entsprechend gekennzeichnet sind.

Tabelle 43: $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte von Milch und Urin von 2005 und 2006

Probengruppe (Hauptfutter)	$\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB (\pm s) in ‰			
	Milch 2006	Milch 2005	Urin 2006	Urin 2005
DE1 (Maissilage(Heu)	-22,2 ^a \pm 0,7 (n = 9)	-22,0 ^a \pm 0,4 (n = 5)	-20,6 ^a \pm 0,7 (n = 8)	-20,5 ^a \pm 0,6 (n = 5)
DE2 (Gras)	-26,5 ^b \pm 0,2 (n = 5)	-26,3 ^b \pm 0,3 (n = 8)	-25,2 ^{bc} \pm 0,8 (n = 6)	-24,0 ^b \pm 0,5 (n = 8)
AT1 (Grassilage)	-28,7 ^c \pm 0,1 (n = 3)		- 26,6 ^{cd} \pm 1,3 (n = 3)	
AT2 (Gras)	-29,0 ^d \pm 0,2 (n = 6)		- 27,3 ^d \pm 0,9 (n = 8)	

^{a, b, c, d} Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant verschieden ($p \leq 0,05$)

Zunächst werden die unterschiedlichen Fütterungen an beiden Orten getrennt betrachtet. Bei einem Maisanteil (C_4 -Komponente) von 63 % in der Nahrung der Berliner Rinder sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in der Milch 4,3 ‰ und im Urin 4,6 ‰ positiver (DE1) als die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in der Milch und im Urin, die während der reinen Fütterung mit C_3 -Pflanzen erhalten wurden (DE2). Eine signifikante Unterscheidung der Göstlinger Rinderproben bei verschiedenen Fütterungen (AT1, AT2) ist nur in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Milchproben erkennbar. Hier sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Milchproben, die während der Fütterung mit Grassilage in den Wintermonaten genommen wurden (AT1) ca. 0,3 ‰ negativer als die $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Milchproben, die während der frischen Weidegrasfütterung in den Frühling und Sommermonaten erhalten wurden (AT2). Eine Unterscheidung zwischen den Urinproben bei unterschiedlicher Fütterung aus Göstling (AT1, AT2) ist nicht möglich.

Zwischen den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Rinderproben aus Berlin und Göstling lassen sich besonders bei den Milchproben signifikante Unterschiede nachweisen, wie die *Abbildung 26* und der Signifikanztest an den Messergebnissen zeigen. Selbst bei gleicher Hauptfütterung mit C_3 -Pflanzen sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Rinderproben (Milch und Urin) aus Berlin im Vergleich zu den Rinderproben aus Göstling bis zu 2 ‰ positiver. Die Ursache liegt in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der aufgenommenen Futtermittel. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Hauptfutterkomponenten (Gras, Heu) liegen bei beiden Standorten zwischen -27 ‰ und -28 ‰. Da die Rinder aus Göstling zusätzlich nur noch Stroh (-27,8 ‰) und Gerste (-27,3 ‰) erhalten, spiegeln die Göstlinger Rinderproben sehr gut diesen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des aufgenommenen Futters von -27 ‰ bis -28 ‰ wider. Die Rinder aus Berlin erhalten jedoch zusätzlich noch Mineral- und Krafffutter, welche $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von -25,6 ‰ und -26,5 ‰ aufweisen und ca. 19 % Anteil an der Gesamtnahrung ausmachen. Außerdem erhalten die Berliner Rinder Zuckerrübenschnitzel, deren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert -26,8 ‰ beträgt. Diese zusätzlichen Nahrungsmittel führen dazu, dass der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Gesamtnahrung für die Berliner Rinder positiver ist als bei den Göstlinger Rindern und dementsprechend auch in den Berliner Rinderproben positivere $\delta^{13}\text{C}$ -Werten vorzufinden sind.

Der Vergleich der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Rinderproben aus Berlin in den Jahren 2005 und 2006 zeigt, dass bei den Milchproben aus den jeweiligen gleichen Fütterungszeiträumen (DE1 und DE2) von 2005 und 2006 keine signifikanten Unterschiede ($p \leq 0,05$) auftreten. Wird hingegen mit den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Urinproben aus der C_3 -Fütterung (DE2) von 2005 und 2006 ein Signifikanztest durchgeführt, lassen sich signifikante Unterschiede der beiden Mittelwerte ($p \leq 0,05$) feststellen. Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Urinproben aus dem Jahr 2006, der während der Grasfütterung erhalten wurde (DE2), ist im Vergleich zum $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Urinproben von 2005 bei gleicher Hauptfütterung 1,2 ‰ negativer. Als mögliche Ursache werden saisonale Schwankungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Futter der Tiere vermutet, die sich in den Urinproben stärker auswirken können als in den Milchproben (siehe unten). Gemäß der Futterbilanz liegt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Futters in dem entsprechenden Probenahmezeitraum von 2006 bei -27,6 ‰ im Jahr 2005 bei -27,2 ‰. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Futters und der Urinproben gehorchen folglich beim Übergang von 2005 auf 2006 dem gleichen Trend, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß.

Wie bereits die Fütterungsstudie 2005 (Kap. 4.3) verdeutlichte, sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in den Rinderproben vom aufgenommenen Futter abhängig. Darüber hinaus kann eine unterschiedliche Verwertung der einzelnen Futterbestandteile bei der Biosynthese

verschiedener Kompartimente (wie z.B. Milch, Urin) zu unterschiedlich stark ausgeprägten Isotopendiskriminierungen gegenüber dem schwereren Kohlenstoffisotop ^{13}C [60, 63] führen. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Milchproben sind im Vergleich zu den Urinproben, unabhängig von der Herkunft und Fütterung, 1,4–1,7 ‰ negativer. Hier spielt vermutlich der unterschiedliche Fettgehalt der Proben eine Rolle. Proben mit einem hohen Fettgehalt, wie z.B. Milch, zeigen negativere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte als Proben mit geringerem Fettgehalt.

Die unterschiedliche Verwertung der einzelnen Futtermittel lässt sich aber nicht nur anhand der Unterschiede der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen Milch und Urinproben, sondern auch in den einzelnen biochemischen Bestandteilen der Milch feststellen. Die Ergebnisse der im Rahmen dieses Projektes angefertigten Diplomarbeit von Pogge [180] zeigen, dass sich die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte verschiedener Bestandteile der Milch (Casein, Lipide, Laktose) ebenfalls sehr stark von der Gesamtmilch unterscheiden. In *Abbildung 27* werden die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Gesamtmilch mit den von Pogge ermittelten $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der einzelnen Milchbestandteile in Abhängigkeit von der Fütterung und Probenherkunft verglichen. Das Casein zeigt unabhängig von der Herkunft und Fütterung 1–2 ‰ positivere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und die Lipide 1–2 ‰ negativere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte als die Gesamtmilch. Dies ist in Übereinstimmung mit Untersuchungen der Arbeitsgruppe Camin et al. [76]. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Laktose sind ähnlich wie die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Gesamtmilch. Wie von Camin et al. beschrieben wird, werden Milchproteine (wie Casein) und Lipide in unterschiedlichen Metabolismen gebildet. Dabei werden die aus der Nahrung aufgenommenen und im Darm aufgeschlossenen Proteine in der Milchdrüse zu Milchproteinen umgesetzt. 20–30 % des Kohlenstoffs der Caseine stammen demnach aus Körperprotein-Reservoirs. Die Lipide hingegen setzen sich aus ca. 50 % körpereigenen Lipiden (Triglyceriden) und 50 % Lipiden, welche bei Gärungsprozessen im Pansen der Kuh gebildet werden, zusammen. Darüber hinaus kommt es während der Lipidsynthese im Rinderorganismus zu einer stark ausgeprägten Isotopendiskriminierung von ^{13}C . Dies führt bei den Lipiden oder lipidhaltigen Substanzen zu negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten. [76]. Wie aus *Abbildung 27* ersichtlich ist, zeigen $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Milchbestandteile den gleichen Trend, wie die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Gesamtmilch. In den Milchbestandteilen konnten ebenfalls signifikante Unterschiede von 1–2 ‰ zwischen den Proben aus Berlin und Göstling bei gleicher Hauptfütterung mit C_3 -Pflanzen festgestellt werden. Allerdings sind die Unterschiede im Casein weniger stark ausgeprägt.

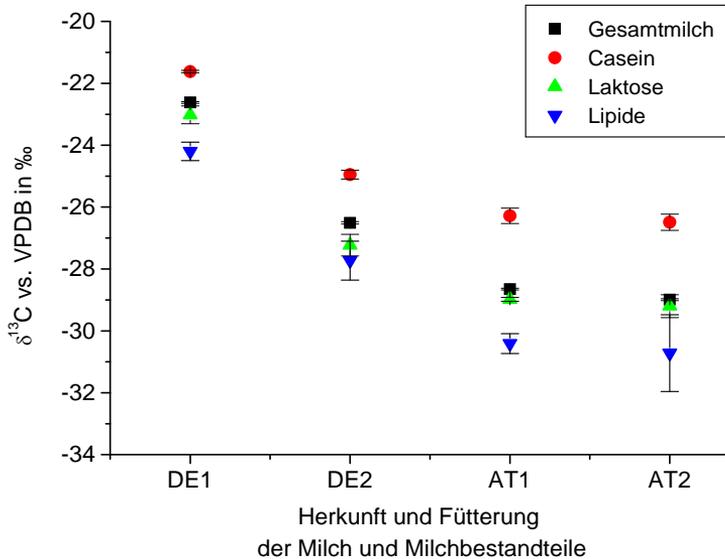


Abbildung 27: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Milch und Milchbestandteilen [180] bei unterschiedlichen Fütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter, DE2: C_3 -Futter, AT1: C_3 -Futter, AT2: C_3 -Futter.

Anhand der Ergebnisse dieser Studie kann bestätigt werden, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte Hinweise auf lokal verschiedene Fütterungen aber auch auf unterschiedliche Fütterungen des gleichen Standortes geben. Selbst minimale Unterschiede in der Kohlenstoffisotopenzusammensetzung des Futters aus Göstling (z.B. Fütterung mit Grassilage bei den Milchproben der Gruppe AT1 und frischem Weidegras, bei den Milchproben der Gruppe AT2) lassen sich in den verschiedenen Rinderproben feststellen. Bei Betrachtung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Milchproben aus den Gruppen DE2, AT1 und AT2 kann auch ohne Hintergrundinformation vermutet werden, dass die Rinder, von denen die Milch stammt mit einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit nicht mit Mais oder Maissilage gefüttert wurden. Ein höherer Anteil an C_4 -Pflanzen wie Mais oder Maissilage führt, wie in dieser Studie gezeigt werden konnte, zu positiveren $\delta^{13}\text{C}$ -Werten in den Rinderproben. Einige Studien mit Milch und Fleisch von Rindern bei unterschiedlichen Fütterungen konnten weiterhin belegen, dass ein nahezu linearer Zusammenhang zwischen dem Anteil an Mais als C_4 -Pflanze und dem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Rinderproben existiert [65, 76]. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass zwischen verschiedenen Rinderproben (Milch, Fleisch, Blut, Leber oder andere Komponenten) die gleichen Zusammenhänge, aber unterschiedlich starke Isotopenverschiebungen zwischen den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Nahrung und Rinderprobe auftreten [72]. Dies konnte auch in dieser

Studie beim Vergleich der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Milch- und Urinproben bei verschiedenen Rinderfütterungen festgestellt werden.

5.4.2 Stickstoffisotopenverhältnisse in Rinderproben aus Berlin und Götting bei unterschiedlichen Fütterungen

In *Abbildung 28* sind die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Rinderproben Milch und Urin aus Berlin (DE) und Götting (AT) bei unterschiedlichen Fütterungen dargestellt. Hieraus wird deutlich, dass die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Rinderproben unabhängig von der jeweiligen Fütterung, aufgrund der relativ hohen Spannweite der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte innerhalb einer Probengruppe, sehr stark überlappen.

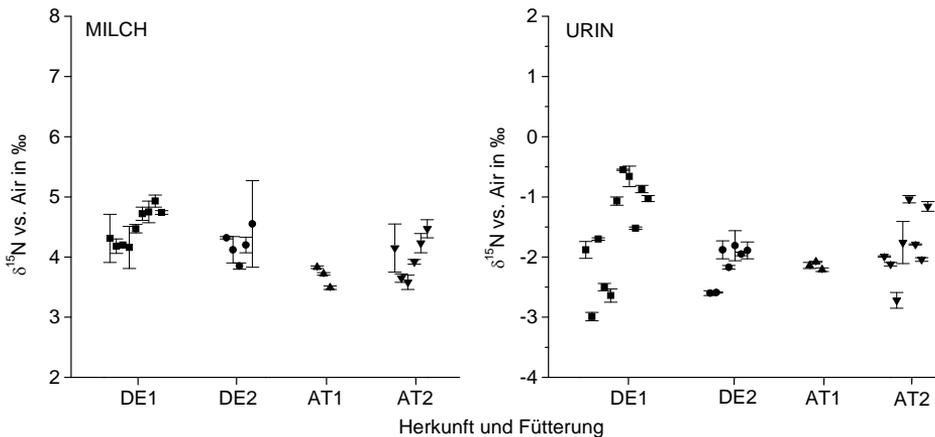


Abbildung 28: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte für Milch und Urin aus Berlin (DE) und Götting (AT) von 2006 bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter (Maissilage/ Heu), DE2: C_3 -Futter (Gras), AT1: C_3 -Futter (Grassilage), AT2: C_3 -Futter Gras).

Der Vergleich der $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte der Milchproben aus den verschiedenen Fütterungsphasen (*Tabelle 44*) zeigt, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen DE1 und DE2 und auch keine zwischen AT1 und AT2 gibt. Vergleicht man hingegen Milchproben unterschiedlicher Herkunft, so kann festgestellt werden, dass sich die Proben DE1 und DE2 signifikant ($p \leq 0,05$) von der Probengruppe AT1 aus Götting unterscheiden. Werden jedoch die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Milchproben aus Berlin aus dem Vorjahr (2005) mit denen aus Götting verglichen, können keine signifikanten Unterschiede zwischen

Berliner und Göstlinger Proben festgestellt werden. Stellt man für das Jahr 2006 nur die Milchproben gegenüber, die von Rindern während der Grasfütterung erhalten wurden (DE2, AT2), sind ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zu ermitteln

Tabelle 44: $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte vom Milch und Urin 2005 und 2006

Probengruppe (Hauptfutter)	$\delta^{15}\text{N}$ vs. Air (\pm s) in ‰			
	Milch 2006	Milch 2005	Urin 2006	Urin 2005
DE1 (Maissilage/Heu)	4,5 ^a \pm 0,3 (n = 9)	4,1 \pm 0,2 (n = 4)	-1,6 ^a \pm 0,8 (n = 11)	-1,5 \pm 0,3 (n = 4)
DE2 (Gras)	4,2 ^a \pm 0,3 (n = 5)	3,7 \pm 0,2 (n = 4)	-2,2 ^a \pm 0,4 (n = 7)	-2,9 \pm 0,3 (n = 3)
AT1 (Grassilage)	3,7 ^{bc} \pm 0,2 (n = 3)		-2,1 ^a \pm 0,07 (n = 3)	
AT2 (Gras)	4,0 ^{ac} \pm 0,3 (n = 6)		-1,8 ^a \pm 0,5 (n = 8)	

^{a,b} Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant verschieden ($p \leq 0,05$)

Bei den Urinproben lassen sich generell keine signifikanten Unterschiede zwischen Proben aus Berlin und Göstling sowie den unterschiedlichen Fütterungen erkennen. Auffällig ist jedoch die sehr hohe Streuung ($\pm 0,8$ ‰) der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte für die Urinproben der Gruppe DE1. Eine mögliche Ursache kann bei Betrachtung der Urinwerte aus den beiden Fütterungsphasen F1 und F4, die sonst immer zur Gruppe DE1 zusammengefasst wurden und in *Tabelle 45* angegeben sind, gefunden werden.

Tabelle 45: $\delta^{15}\text{N}$ -Mittelwerte vom Milch und Urin während der C₄/C₃-Mischfütterung 2006

Probengruppe	$\delta^{15}\text{N}$ vs. Air (\pm s) in ‰	
	Milch	Urin
F1: DE1 (Mai 2006)	4,3 \pm 0,1 (n = 5)	-2,3 \pm 0,6 (n = 5)
F4: DE1 (Juli-Aug. 2006)	4,8 \pm 0,1 (n = 4)	-1,0 \pm 0,3 (n = 6)

Hier zeigt sich, dass die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Urinproben F1, die im Mai 2006 genommen wurden, ca. 1,3 ‰ negativer sind, als die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Urinproben F4, die von Ende Juli bis Ende August 2006 gesammelt wurden. Auch die Mittelwerte der Milchproben zeigen für den Probenzeitraum F1 um 0,5 ‰ niedrigere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte. Bei Vergleich mit den entsprechenden $\delta^{15}\text{N}$ -Werten der Futtermittel (*Kapitel 5.2, Abbildung 21*) ist zu

erkennen, dass die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von Stroh im Zeitraum F4 ca. 1,1 ‰ höher sind, als in den Monaten davor und die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von Heu im gesamten Futterzeitraum (F1, F4) ca. 1–2 ‰ variieren. Eine mögliche Ursache dafür könnte sein, dass das Heu und Stroh in diesem Zeitraum von anderen Anbaugebieten bezogen wurden oder die Futtermittel unter anderen landwirtschaftlichen Bedingungen (z.B. neue Düngung) gewachsen sind. Eine veränderte Stickstoffisotopenzusammensetzung des Gesamtfutters führt auch zu veränderten $\delta^{15}\text{N}$ -Werten in den Rinderproben. Damit kann die allgemein sehr hohe Streuung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Rinderproben als Folge der entsprechenden Streuungen bei den Futtermitteln erklärt werden. Wie aus *Tabelle 45* ebenfalls ersichtlich ist, wirken sich die veränderten $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in Stroh und Heu und die dementsprechende Veränderung der Isotopenzusammensetzung des Gesamtfutters in den Urinproben deutlich stärker aus als bei den Milchproben. Unabhängig von der Probenherkunft und Fütterung weisen die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte im Urin aufgrund der Isotopenfraktionierung bei der Harnstoffsynthese um 6–7 ‰ negativere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auf als das Futter, während die Milchproben eher an ^{15}N angereichert sind. Dies konnte auch schon bei den Berliner Rinderproben aus dem Jahr 2005 festgestellt werden (Kap. 5.3). Hier spielt vermutlich wieder die unterschiedliche Futtermittelverwertung im Rinderorganismus eine Rolle.

Ein Vergleich der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin und Götting zeigt, dass trotz unterschiedlicher regionaler Wachstumsbedingungen ein großer Überlappungsbereich auftritt. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin liegen zwischen 0 ‰ und 6 ‰. Die nach der Futterbilanz berechneten $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des Gesamtfutters aus Berlin betragen 4,6 ‰ für den Fütterungszeitraum DE1 und 3,2 ‰ für den Fütterungszeitraum DE2. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Futtermittel aus Götting liegen zwischen 0,3 ‰ und 4,8 ‰. Für Grassilage und Heu aus Götting wurden $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von 1,0 ‰ und 0,3 ‰ bestimmt (vgl. Kap. 4.2). Die Rinder nahmen aber weiterhin auch Stroh und Gerste auf, welche $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von 4,9 ‰ und 4,1 ‰ aufwiesen. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte für die aufgenommene Nahrung aus Österreich können aufgrund der unvollständigen Angaben nur abgeschätzt werden. Geht man davon aus, dass die Hauptnahrung aus ca. 60 % Grassilage bzw. frischem Weidegras bestand, ergibt sich ein $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Futters von ca. 1–2 ‰, also ein niedrigerer Wert als für das deutsche Futter. Dementsprechend müssten die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Rinderproben aus Götting kleiner sein als bei den Rinderproben aus Berlin. Tatsächlich ist solch ein Trend bei den Milchproben zum Teil erkennbar, aber nur signifikant für den Vergleich der Proben DE1 und DE2 mit AT1. Für andere

Milchprobenkombinationen sowie für die Urinproben ist dieser Zusammenhang nicht erkennbar.

Eine Hypothese, warum die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Rinderproben aus Götting im ähnlichen Bereich liegen wie in den Rinderproben aus Berlin, obwohl sich die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der jeweiligen Futterzusammensetzungen um ca. 2 ‰ unterscheiden, kann nicht aufgestellt werden. Eine mögliche Ursache könnte sein, dass es starke Abweichungen gibt zwischen dem theoretischen $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Gesamtfutters und dem $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Futters, welches tatsächlich von den Rindern aufgenommen wurde. Das könnte zum einen daran liegen, dass jahreszeitliche Schwankungen der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der einzelnen Futtermittelkomponenten in der Futterbilanz nicht berücksichtigt wurden und zum anderen der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Futters aus Götting eine Abschätzung aufgrund von theoretischen Vorgaben ist. Des Weiteren kommt hinzu, dass es zu unterschiedlichen Isotopenverschiebungen zwischen den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten des aufgenommenen Futters und der Rinderproben (z.B. Milch, Urin) kommt, welche besonders stark bei der Fütterung mit C_3 -Pflanzen ausgeprägt sind und bis zu 2 ‰ betragen können. Außerdem ist vorstellbar, dass das Ausmaß der Isotopenfraktionierung zwischen Nahrung und Rinderproben auch je nach Alter oder Rasse der Rinder variieren kann.

Der Vergleich der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte dieser Studie mit Ergebnissen aus anderen Studien, welche verschiedene Milchproben aus Bayern untersucht haben [75], zeigt, dass selbst innerhalb von Deutschland aufgrund der großen Spannweite die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte sich nicht signifikant unterscheiden. Die in der Studie von Kornexl 1997 [75] ermittelten $\delta^{15}\text{N}$ -Werte liegen zwischen 3,5–5 ‰ und umfassen den gleichen Bereich wie die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von Milchproben aus Berlin (3,7–4,5 ‰). Die Variation der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in verschiedenen Rinderproben ist, wie diese Ergebnisse zeigen, im Vergleich zu der Variation der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte sehr gering. Dennoch ist es nicht ausgeschlossen, dass die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte zur Unterscheidung von Rinderproben unterschiedlicher Herkunft beitragen können. Die Ergebnisse von Camin et al. zeigen, dass die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in Milchproben von zwei Bauernhöfen in Norditalien aufgrund der unterschiedlichen $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des jeweiligen Futters um 0,6 bis 0,9 ‰ variieren können. Prinzipiell ist auch erkennbar, dass die von Camin et al. [76] ermittelten $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von Milchproben aus Norditalien (4,4–5,8 ‰) und von Crittenden et al. [1] bestimmten $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in Milchproben aus Australien und Neuseeland (5,2–7,3 ‰) etwas positiver sind als die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Milchproben aus Berlin oder Bayern.

5.4.3 Magnesiumisotopenverhältnisse in Rinderproben aus Berlin und Götting bei unterschiedlichen Fütterungen

In *Abbildung 29* sind die $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte in Rinderproben aus Berlin (DE) und Götting (AT) bei unterschiedlichen Fütterungen dargestellt. Unter Berücksichtigung der Standardabweichung liegen keine Unterschiede zwischen Milch- und Urinproben unterschiedlicher Herkunft und Fütterung vor. Die Spannweite der Proben innerhalb einer Gruppe ist so groß, dass es zu einer großen Überlappung zwischen den einzelnen Gruppen kommt.

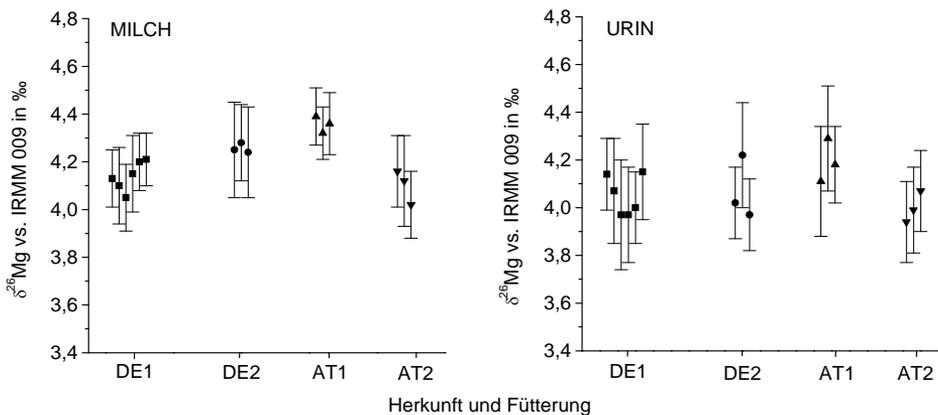


Abbildung 29: $\delta^{26}\text{Mg}$ -Wert für Milch und Urin aus Berlin (DE) und Götting (AT) von 2006 bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C_4/C_3 -Mischfutter (Maissilage/Heu), DE2: C_3 -Futter (Gras), AT1: C_3 -Futter (Grassilage), AT2: C_3 -Futter (Gras).

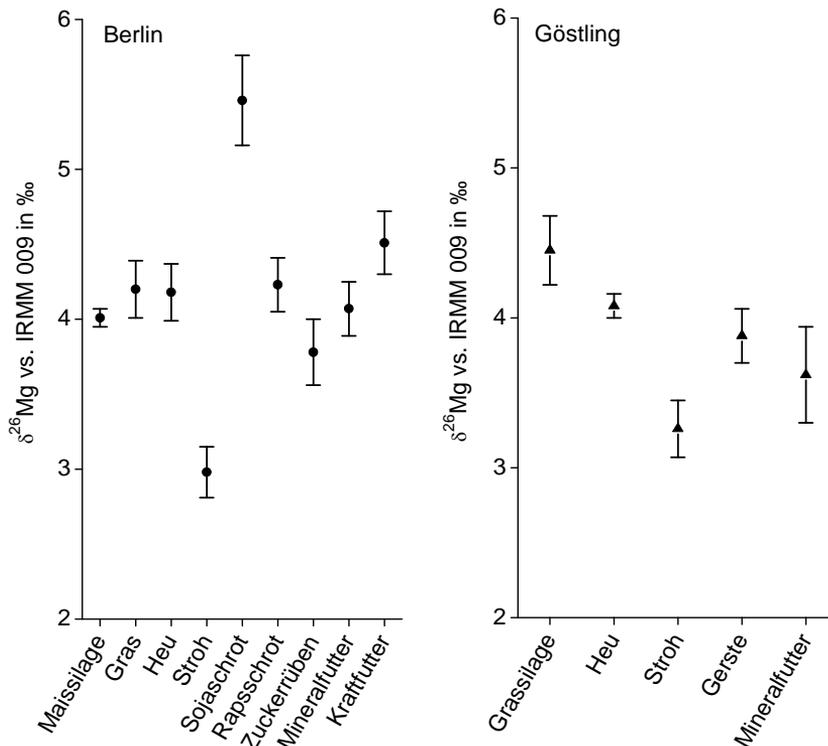
Ein Signifikanztest (t-Test) mit den Rinderproben aus den vier Gruppen (*Tabelle 46*) zeigt jedoch, dass sowohl bei den Milch- als auch bei den Urinproben bei einem Signifikanzniveau von 95 % teilweise signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen DE und AT auftreten. Der t-Test berücksichtigt allerdings nicht, dass der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Wert einer einzelnen Probe mit einer Unsicherheit von 0,6 ‰ behaftet ist, während die Standardabweichung des Mittelwertes mehrerer Proben, wie in *Tabelle 46* aufgelistet, eine Größenordnung kleiner ist. Aufgrund der höheren Unsicherheit können daher keine eindeutigen Aussagen über signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Probengruppen getroffen werden.

Tabelle 46: Mittelwerte der Mg-Isotopenverhältnisse von Milch und Urin 2006

Proben- gruppe (Hauptfutter)	Milch		Urin	
	R(²⁶ Mg/ ²⁴ Mg) (± s)	δ ²⁶ Mg (± s) in ‰	R(²⁶ Mg/ ²⁴ Mg) (± s)	δ ²⁶ Mg (± s) in ‰
DE1 (Maissilage/ Heu)	0,139897 ^a ± 0,000009*	4,14 ^a ± 0,06*	0,139884 ^a ± 0,000012*	4,05 ^a ± 0,08*
DE2 (Gras)	0,139913 ^b ± 0,000003	4,26 ^b ± 0,02	0,139887 ^a ± 0,000018	4,07 ^a ± 0,13
AT1 (Grassilage)	0,139926 ^c ± 0,000005	4,35 ^c ± 0,03	0,139904 ^b ± 0,000013	4,19 ^b ± 0,09
AT2 (Gras)	0,139891 ^a ± 0,000010	4,10 ^a ± 0,07	0,139877 ^a ± 0,000009	4,00 ^a ± 0,07

^{a, b, c} Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind formal signifikant verschieden ($p \leq 0,05$). Der Mittelwert und die einfache Standardabweichung wurden für alle Gruppen mit einer Anzahl von $n = 3$ Einzelwerten berechnet, außer bei * ($n = 6$), da DE1 sich aus 2 Futterperioden (F1, F4) zusammensetzt.

Bei den Futtermitteln sind Variationen der δ²⁶Mg-Werte von 1–2 ‰ erkennbar (Abbildung 30).

Abbildung 30: Variation der δ²⁶Mg-Werte der Futtermittel aus Berlin und Göstling.

Die $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte der Rinderproben aus Berlin und Göstling liegen im gleichen Bereich (4,0–4,4 ‰) wie die Futtermittel. Die Futtermittel aus Berlin weisen $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte zwischen 3,0 ‰ und 5,4 ‰ auf. Die größten Unterschiede wurden hier zwischen den Futtermitteln Heu und Stroh ermittelt. Die $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte der Futtermittel aus Göstling liegen zwischen 3,2 ‰ und 4,5 ‰.

Tabelle 47: Mg-Isotopenverhältnisse für Futtermittel aus Berlin (DE) und Göstling (AT)

	$R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}) (\pm s)$	$\delta^{26}\text{Mg} (\pm s)$ in ‰
Futtermittel aus Berlin (DE)		
Maissilage (Juli '06)	0,139872 ± 0,000020	3,96 ± 0,20
Maissilage (August '06)	0,139884 ± 0,000019	4,05 ± 0,19
Gras	0,139905 ± 0,000019	4,20 ± 0,19
Heu	0,139902 ± 0,000017	4,18 ± 0,17
Stroh	0,139735 ± 0,000029	2,98 ± 0,30
Soja	0,140080 ± 0,000018	5,46 ± 0,18
Raps	0,139909 ± 0,000022	4,23 ± 0,22
Zuckerrübenschnitzel	0,139847 ± 0,000018	3,78 ± 0,18
Kraffutter	0,139949 ± 0,000020	4,51 ± 0,21
Mineralfutter	0,139887 ± 0,000016	4,07 ± 0,17
Futtermittel aus Göstling (AT)		
Grassilage	0,139947 ± 0,000022	4,45 ± 0,23
Heu (Mai '06)	0,139895 ± 0,000017	4,13 ± 0,18
Heu (Juni '06)	0,139880 ± 0,000021	4,02 ± 0,21
Stroh	0,139774 ± 0,000019	3,26 ± 0,19
Gerste	0,139861 ± 0,000018	3,88 ± 0,18
Mineralfutter (Vitan 9)	0,139837 ± 0,000027	3,71 ± 0,27
Mineralfutter (Vitan 18)	0,139863 ± 0,000024	3,90 ± 0,25
Mineralfutter (Vitan 22H)	0,139776 ± 0,000019	3,27 ± 0,19

Bei der Maissilage aus Berlin sowie bei Heu und Mineralfutter aus Göstling wurden in *Abbildung 30* jeweils die Mittelwerte der $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte dargestellt. Anhand der in *Tabelle 47* dargestellten einzelnen $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ -Werte und $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte kann für die Futtermittel, für welche Proben aus verschiedenen Zeiträumen vorlagen (Maissilage aus Berlin, Heuproben aus Göstling), festgestellt werden, dass innerhalb der Standardabweichung keine saisonalen Schwankungen dieser Futtermittel auftraten.

Vor Beginn der Untersuchungen war vermutet worden, dass ein wesentlicher Mg-Eintrag durch das zugefütterte Mineralfutter entsteht und aus diesem Grund eventuell eine Unterscheidung zwischen Proben unterschiedlicher Herkunft und Produktionsbedingungen möglich wäre, da Mineralfutterzusätze z.B. bei ökologischer Tierhaltung nur begrenzt eingesetzt werden dürfen. Obwohl die Nahrungsadditive (Mineral- und Kraffutter) bei den Rindern aus Berlin fast ein Drittel (6–9 kg) des Mg-Eintrags ausmachen, sind jedoch keine Unterschiede in den $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werten der Rinderproben aus Berlin und Göstling erkennbar. Ein Grund dafür ist, dass sich die Magnesiumisotopenzusammensetzung der verschiedenen Mineralfutter aus Berlin nicht wesentlich von den übrigen Futtermitteln unterscheidet. Bei den verschiedenen Mineralfutter aus Göstling ist zu erkennen, dass die $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte (3,3–3,9 ‰) im Vergleich zu dem Mineralfutter aus Berlin (4,1 ‰) kleiner sind. Dieses fällt allerdings nicht so sehr ins Gewicht, da erstens sehr viel weniger Mineralfutter (< 0,2 kg) der Nahrung zugesetzt wird und zweitens das Hauptfuttermittel Grassilage positivere $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte aufweist als die Hauptfuttermittel (Maissilage und Gras) aus Berlin. Insgesamt unterscheidet sich die Isotopenzusammensetzung der Hauptfuttermittel aus Berlin und Göstling nicht signifikant, so dass auch keine signifikanten Unterschiede in der Isotopenzusammensetzung der Rinderproben festgestellt werden können.

Neben den Isotopenverhältnissen wurden auch die Mg-Gehalte der untersuchten Proben bestimmt. Magnesium wird als essentielles Element aus den einzelnen Nahrungsmitteln aufgenommen. Wie die Ergebnisse der Diplomarbeit von Stephan [181] im Rahmen dieses Projektes zeigen, haben die einzelnen Futtermittel unterschiedliche Mg-Gehalte (*siehe Tabelle 48*).

Die drei Haupteintragsquellen von Mg in der Rindernahrung der Berliner Rinder sind demnach Maissilage, Wasser und die Nahrungsadditive (Mineral- und Kraffutter). Dabei ist zu beachten, dass die Rinder je nach Temperatur, Tagesform und Jahreszeit auch unterschiedliche Mengen (ca. 40–100 L) Wasser aufnehmen. In der Nahrungsbilanz für den Fütterungszeitraum F1 wurde mit einem Mittelwert von 70 L gerechnet. Ein Vergleich der Mg-Gehalte der Einzelfutterkomponenten zwischen Berlin und Göstling zeigt, dass die Mg-Gehalte in den Futtermitteln aus Göstling zum Teil deutlich höher sind als in den Futtermitteln aus Berlin. In Mineralfutter aus Göstling sind die Mg-Gehalte mehr als doppelt so groß wie in Mineralfutter aus Berlin. Dieser Unterschied wird aber teilweise dadurch ausgeglichen, dass die Rinder aus Göstling viel weniger Mineralfutter aufnehmen als die Berliner Rinder. Ein weiterer Unterschied ist in den Mg-Gehalten des

Trinkwassers zu finden. Die Mg-Gehalte im Trinkwasser aus Berlin sind ca. fünfmal so groß wie die Mg-Gehalte im Trinkwasser aus Göstling.

Tabelle 48: Mg-Gehalte und $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte der Futtermischung F1 der Berliner Rinder

	Mg-Gehalt* in g kg ⁻¹ [181]	Mg-Anteil im Futter (F1) in %
Futtermittel aus Berlin (DE)		
Maissilage	1,73 ± 0,05	24
Gras	3,13 ± 0,10	0
Heu	1,73 ± 0,05	1
Stroh	0,48 ± 0,02	1
Soja	3,57 ± 0,11	1
Raps	6,62 ± 0,21	5
Zuckerrübenschnitzel	2,04 ± 0,06	2
Krafftutter	3,35 ± 0,10	13
Mineralfutter	21,75 ± 0,68	17
Wasser (70 L)**	0,65 ± 0,11	36
Futtermittel aus Göstling (AT)		
Grasssilage	4,44 ± 0,14	
Heu (Mai '06)	1,64 ± 0,05	
Heu (Juni '06)	4,10 ± 0,13	
Stroh	1,43 ± 0,05	
Gerste	1,35 ± 0,04	
Mineralfutter (Vitan 9)	51,48 ± 1,60	
Mineralfutter (Vitan 18)	53,99 ± 1,68	
Mineralfutter (Vitan 22H)	49,15 ± 1,53	
Wasser (70 L)**	0,12 ± 0,01	

*bezogen auf die Trockenmasse, **geschätzter Durchschnittswert

Trotz der unterschiedlichen Mg-Gehalte der einzelnen Nahrungsmittel werden unter Berücksichtigung der Standardabweichung und Unsicherheit von 0,6 ‰ keine signifikanten Unterschiede in den Mg-Gehalten und $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte zwischen Milchproben aus Berlin und Göstling festgestellt (Tabelle 49). Bei den Milchproben aus Berlin zeigt sich allerdings ein Trend zu leicht höheren Mg-Gehalten in der Milch, der zum einen auf den erhöhten Zusatz an Mineralfutter sowie den höheren Mg-Gehalt im Trinkwasser zurückgeführt werden kann.

Tabelle 49: Mg-Gehalte und $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werte in Milchproben unterschiedlicher Herkunft und Fütterung

Milchproben (Hauptfutter)	Mg-Gehalt ^[181] in g kg ⁻¹	$\delta^{26}\text{Mg}$ (\pm s) in ‰
DE1 (Maissilage/Heu)	0,93 ^a \pm 0,15	4,14 ^a \pm 0,06
DE2 (Gras)	0,91 ^a \pm 0,15	4,26 ^b \pm 0,02
AT1 (Grassilage)	0,85 ^a \pm 0,05	4,35 ^c \pm 0,03
AT2 (Gras)	0,89 ^a \pm 0,03	4,10 ^a \pm 0,07

^{a,b,c}bezogen auf die Trockenmasse des lyophilisierten Milchpulvers, ^{a, b, c}Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind formal signifikant verschieden ($p \leq 0,05$).

5.4.4 Strontiumisotopenverhältnisse in Rinderproben aus Berlin und Götting bei unterschiedlichen Fütterungen

Im Folgenden werden die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte von Milch- und Urinproben in Abhängigkeit von der Herkunft und Fütterung diskutiert. Wie aus *Abbildung 31* entnommen werden kann, sind die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte von Milch und Urin innerhalb eines Standortes (DE oder AT) qualitativ nicht zu unterscheiden.

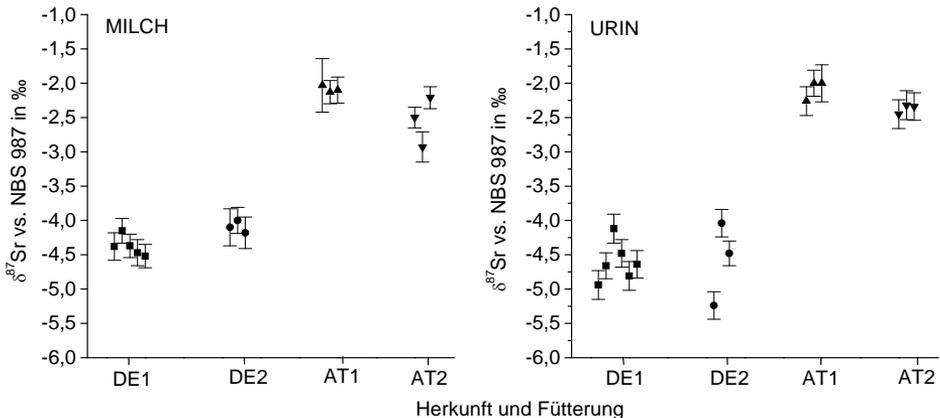


Abbildung 31: $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte für Milch und Urin aus Berlin (DE) und Götting (AT) von 2006 bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C₄/C₃-Mischfutter (Maissilage/Heu), DE2: C₃-Futter (Gras), AT1: C₃-Futter (Grassilage), AT2: C₃-Futter (Gras).

Dabei ist die Streuung der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte innerhalb einer Probengruppe, besonders bei den Milchproben der Gruppe AT2 sowie bei den Urinproben der Gruppe DE2, relativ hoch. Die unterschiedlichen Fütterungen scheinen keinen bzw. nur einen sehr geringen Unterschied in den $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werten der Rinderproben hervorzurufen. Weiterhin ist aus der Grafik

zu erkennen, dass die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Göstlinger Rinderproben deutlich höher sind als die der Rinderproben aus Berlin.

Tabelle 50 stellt die $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ - und $\delta^{87}\text{Sr}$ -Mittelwerte der vier Gruppen sowie die Ergebnisse des Signifikanztests (t-Test) gegenüber. Demnach können zwischen Milchproben der Rinder aus Berlin bei unterschiedlichen Fütterungen (DE1, DE2) bei einem Signifikanzniveau von 95 % signifikante Unterschiede festgestellt werden. Bei den Urinproben aus Berlin treten allerdings keine signifikanten Unterschiede ($p \leq 0,05$) zwischen den beiden Probengruppen auf.

Tabelle 50: Mittelwerte der Sr-Isotopenverhältnisse vom Milch und Urin 2006

Proben- gruppe (Hauptfutter)	Milch		Urin	
	$R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$	$\delta^{87}\text{Sr} (\pm s)$ in ‰	$R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$	$\delta^{87}\text{Sr} (\pm s)$ in ‰
DE1 (Maissilage/ Heu)	0,70714 ^a ± 0,00010*	-4,38 ^a ± 0,14*	0,70698 ^a ± 0,00020**	-4,61 ^a ± 0,29
DE2 (Gras)	0,70734 ^b ± 0,00006	-4,09 ^b ± 0,09	0,70699 ^a ± 0,00043	-4,59 ^a ± 0,61
AT1 (Grassilage)	0,70877 ^c ± 0,00003	-2,09 ^c ± 0,05	0,70877 ^b ± 0,00011	-2,08 ^b ± 0,15
AT2 (Gras)	0,70844 ^c ± 0,00025	-2,55 ^c ± 0,36	0,70857 ^c ± 0,00005	-2,37 ^c ± 0,07

a, b, c, d Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant verschieden ($p \leq 0,05$). Der Mittelwert und die einfache Standardabweichung wurden für alle Gruppen außer bei * und ** mit einer Anzahl von $n = 3$ Einzelwerten berechnet (* $n = 5$, ** $n = 6$).

Die Unterschiede zwischen den Göstlinger Milchproben AT1 und AT2 sind aufgrund der relativ hohen Standardabweichung nicht signifikant. Dennoch zeigen die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Milchproben der Gruppe AT2 ähnlich wie bei den Urinproben negativere $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte, d.h. kleinere $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte im Vergleich zu den $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werten und $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte von Milch und Urinproben der Gruppe AT1. Bei den Urinproben sind die Unterschiede der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte in den Gruppen AT1 und AT2 signifikant.

Zwischen den Rinderproben aus Berlin (DE) und Göstling (AT) lassen sich mit Hilfe der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte sehr deutliche Unterschiede erkennen, welche mit dem Signifikanztest ($p \leq 0,05$) bestätigt werden konnten. Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben aus Berlin sind 2 ‰ negativer als die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben aus Göstling.

In *Abbildung 32* sind die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der aufgenommenen Futtermittel dargestellt. Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin liegen zwischen -2 ‰ und -7 ‰. Die relativ

große Variation von ca. 5 ‰ der Berliner Futtermittel ist zum Teil durch die unterschiedlichen Bezugsquellen begründet. Zwischen den Hauptfuttermitteln Gras, Heu und Stroh gibt es signifikante Unterschiede. Der Mais wurde auf Berliner Äckern angebaut, während Gras, Heu und Stroh in ertragsarmen Sommermonaten oder aus Kostengründen von unterschiedlichen Händlern zugekauft wurden.

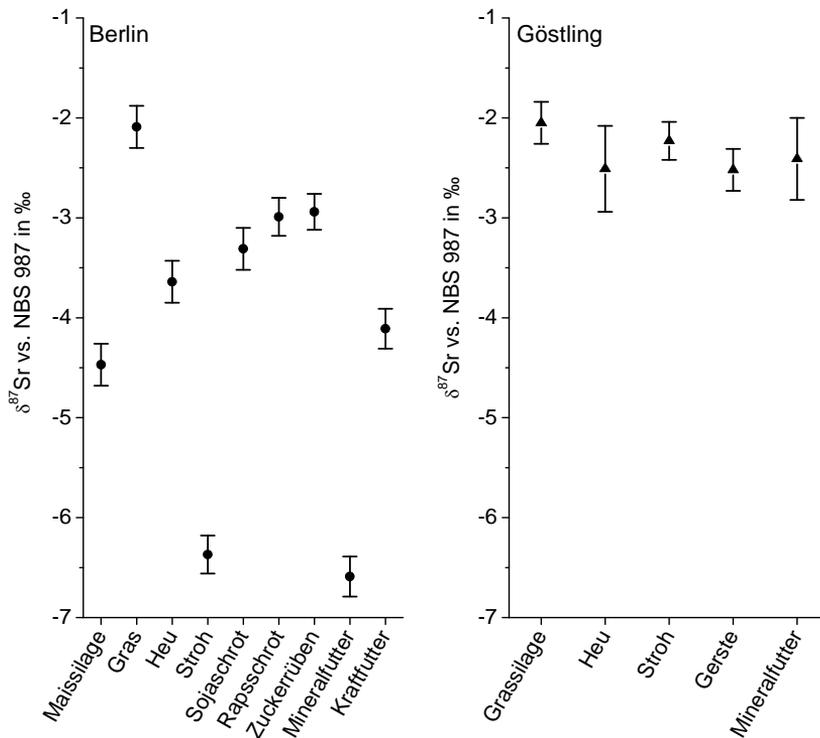


Abbildung 32: Variation der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin und Götting.

Aus *Tabelle 51* ist ersichtlich, dass die beiden untersuchten Maissilageproben vom Juli und August 2006 eine gute Übereinstimmung zeigen, was darauf hinweist, dass sie vom gleichen Anbaugebiet stammen. Die Zusatzfuttermittel (Soja und Raps) wurden von der Gerswalder Mühle in Prenzlau (Brandenburg) bezogen. Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte aus Berlin sind bei fast allen Futtermitteln negativer als in Götting.

Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben aus Götting liegen zwischen -2,0 und -2,9 ‰ und decken genau den gleichen Bereich ab wie die einzelnen Futtermittel (-2,1 bis -2,9 ‰).

Die Variation der Futtermittel von ca. 0,8 ‰ können dadurch erklärt werden, dass die einzelnen Futterkomponenten auf verschiedenen Äckern der Region angebaut werden, bei welchen das pflanzenverfügbare Strontium im Boden aufgrund von unterschiedlichen Verwitterungen, hydrologischen, klimatischen Bedingungen, aber auch unterschiedlichen Düngemitteln (Gülle, Stallmist) variieren kann. Die Grassilage aus Göstling weist im Vergleich zu den anderen Futtermitteln den positivsten $\delta^{87}\text{Sr}$ -Wert auf.

Tabelle 51: Sr-Isotopenverhältnisse für Futtermittel aus Berlin (DE) und Göstling (AT)

	$R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}) (\pm s)$	$\delta^{87}\text{Sr} (\pm s)$ in ‰
Futtermittel aus Berlin (DE)		
Maissilage (Juli '06)	0,70719 ± 0,00010	-4,32 ± 0,21
Maissilage (August '06)	0,70697 ± 0,00010	-4,62 ± 0,19
Gras	0,70877 ± 0,00010	-2,09 ± 0,21
Heu	0,70766 ± 0,00011	-3,64 ± 0,21
Stroh	0,70573 ± 0,00010	-6,37 ± 0,19
Soja	0,70790 ± 0,00011	-3,31 ± 0,21
Raps	0,70813 ± 0,00010	-2,99 ± 0,19
Zuckerrübenschnitzel	0,70816 ± 0,00009	-2,94 ± 0,18
Krafffutter	0,70733 ± 0,00010	-4,11 ± 0,20
Mineralfutter	0,70557 ± 0,00010	-6,59 ± 0,20
Futtermittel aus Göstling (AT)		
Grassilage	0,70880 ± 0,00011	-2,05 ± 0,21
Heu (Mai '06)	0,70825 ± 0,00010	-2,81 ± 0,19
Heu (Juni '06)	0,70869 ± 0,00011	-2,20 ± 0,21
Stroh	0,70867 ± 0,00009	-2,23 ± 0,19
Gerste	0,70846 ± 0,00010	-2,52 ± 0,21
Mineralfutter (Vitan 9)	0,70867 ± 0,00009	-2,23 ± 0,19
Mineralfutter (Vitan 18)	0,70821 ± 0,00011	-2,88 ± 0,21
Mineralfutter (Vitan 22H)	0,70874 ± 0,00010	-2,13 ± 0,19

Ein Vergleich mit den $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werten der Rinderproben, die in der Zeit der Grassilagefütterung ermittelt wurden (AT1), zeigt, dass die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte positiver sind als die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte von Rinderproben, welche während der Fütterung mit frischem Weidegras (AT2) erhalten wurden. Wie bereits erwähnt wurde, weist die Grassilage im Vergleich zu den anderen Futtermitteln aus Göstling den am positivsten $\delta^{87}\text{Sr}$ -Wert auf. Eine Fütterung mit

vorwiegend Grassilage führt dementsprechend auch zu positiveren $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werten in den Rinderproben. Der Vergleich zwischen den Probengruppen AT1 und AT2 verdeutlicht dementsprechend, dass auch Änderungen in der Futterzusammensetzung anhand der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte in den Rinderproben wiedergegeben werden können.

Für die Sr-Isotopenverhältnisse ist bekannt, dass bei biologischen Prozessen (z.B. Stoffwechselprozessen der Pflanzen oder tierischen Metabolismusreaktionen) keine Isotopenfraktionierungen auftreten und die Pflanzen und tierischen Matrices direkt das Sr-Isotopenverhältnis des aufgenommenen Bodenwassers oder der aufgenommenen Nahrung widerspiegeln. Dieses konnte ebenfalls in dieser Studie festgestellt werden, da unter Berücksichtigung der Standardabweichung keine signifikanten Unterschiede zwischen Milch-, Urin- und Futtermitteln festgestellt wurden.

Ein Vergleich der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Futtermittel mit denen der Rinderproben zeigt, dass die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben durch das aufgenommene Futter bestimmt werden. Hier spielt vor allen Dingen die Herkunft des Futters eine große Rolle. Der Zusammenhang zwischen den Sr-Isotopenverhältnissen der Rinderproben und der Futtermittel aus Berlin ist aufgrund der großen Variation der Futtermittel nicht so offensichtlich. Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben aus Berlin reflektieren eine Mischung verschiedener Futtermittel aus dem Raum Brandenburg und folgen dem gleichen Trend zu negativeren $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werten wie die Futtermittel im Vergleich zu den Proben aus Göstling. In der Studie von Rossmann et al. [59] mit Butter aus verschiedenen Regionen wurden ähnlich wie in dieser Arbeit für Proben aus Norddeutschland deutlich kleinere $R(^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr})$ -Werte im Vergleich zu Butter aus Niederösterreich ermittelt.

Die Rinderproben und Futtermittel wurden aus geologisch sehr verschiedenen Regionen erhalten. Der Raum Berlin/Brandenburg ist ein Teil des norddeutschen Tieflands und ist vorwiegend durch vielfältige Formationen aus der Eiszeit oder Nacheiszeit (Grundmoränen, Schmelzwasserablagerungen) geprägt. Die Gesteinsoberfläche besteht vorwiegend aus Lockergesteinen, die sich im Zeitalter des Quartärs gebildet haben. Die Gesteinsformationen in Raum Berlin/Brandenburg sind viel jünger als die alpinen Gesteinsformationen in Göstling (Niederösterreich).

Göstling an der Ybbs liegt in den nördlichen Kalkalpen, welche sich im Erdzeitalter Trias gebildet haben. Die dortigen Böden bestehen vorwiegend aus einer Mischung aus Kalkstein, Dolomitgestein, Mergel und klastischen Sedimentgestein. Da das ^{87}Sr ein stabiles Produkt des radioaktiven β -Zerfalls von ^{87}Rb (Halbwertszeit: $4,88 \times 10^{10}$ a) ist,

liegt je nach Alter und Rb/Sr-Verhältnis der Gesteine ein unterschiedliches $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ -Verhältnis vor. In den Studien von Bentley [55] und Hedman et al. [129] wurden für die $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ -Verhältnisse von marinem Kalk- und Dolomitgestein Werte zwischen 0,707 und 0,710 gefunden. Diese spiegeln das Sr-Isotopenverhältnis des Seewassers zur Zeit der Gesteinsentstehung wider. Der Mittelwert für das $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ -Verhältnis der hier bestimmten Milch-, Urin- und Futterproben liegt innerhalb dieses Bereichs bei 0,7086.

Tabelle 52: Sr-Gehalt und prozentualer Anteil der Futterkomponenten am Gesamtfutter

	Sr-Gehalt* [181] (\pm s) in mg kg ⁻¹	Sr-Anteil im Futter (F1) in %	Sr-Anteil im Futter (F3) in %
Futtermittel aus Berlin (DE)			
Maissilage	21,72 \pm 2,21	13	0
Gras	63,58 \pm 6,48	0	43
Heu	21,22 \pm 2,16	1	0
Stroh	45,93 \pm 4,68	2	0
Soja	21,95 \pm 2,24	0	0
Raps	51,85 \pm 5,28	2	0
Zuckerrübenschnitzel	96,56 \pm 9,84	3	2
Krafftutter	27,18 \pm 2,77	4	4
Mineralfutter	143,85 \pm 14,65	5	3
Wasser**	30,00 \pm 1,35	70	48
Futtermittel aus Göstling (AT)			
Grasssilage	16,34 \pm 1,66		
Heu (Mai '06)	9,26 \pm 0,94		
Heu (Juni '06)	19,55 \pm 1,99		
Stroh	3,33 \pm 3,19		
Gerste	2,95 \pm 0,30		
Mineralfutter (Vitan 9)	184,69 \pm 18,81		
Mineralfutter (Vitan 18)	274,87 \pm 27,95		
Mineralfutter (Vitan 22H)	217,87 \pm 22,19		
Wasser**	8,72 \pm 0,93		

* bezogen auf Trockenmasse, **geschätzte durchschnittliche Trinkwasseraufnahme: 70 L

Bei Vergleich der einzelnen Sr-Gehalte in den verschiedenen Futtermitteln (Tabelle 52) unter Berücksichtigung der aufgenommenen Menge des jeweiligen Futtermittels zu erkennen, dass für die Berliner Rinder unabhängig vom Fütterungszeitraum die Haupt-

eintragsquellen für Strontium die jeweiligen Hauptfutterkomponenten (Maissilage bzw. Gras) sowie das aufgenommene Trinkwasser sind.

Auch bei den Rindern aus Göstling leistet das Trinkwasser den größten Sr-Eintrag, obwohl der Sr-Gehalt im Trinkwasser der Göstlinger Rinder nur ein Drittel vom Sr-Gehalt des Berliner Trinkwassers beträgt. In den jeweiligen Mineralfuttermitteln sind die höchsten Sr-Gehalte zu finden, allerdings spielen sie wegen der geringen Aufnahme von maximal 1 kg bei den Rindern aus Berlin bzw. < 0,2 kg bei den Rindern aus Göstling nur eine geringe Rolle (< 10 %).

Tabelle 53: $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte und Rb/Sr-Verhältnisse verschiedener Milchproben aus Berlin (DE) und Göstling (AT)

Milchprobe	Hauptfutter	$\delta^{87}\text{Sr}$ (\pm s) in ‰	Rb/Sr ^[181]
Milchproben aus Berlin (DE)			
M560	Maissilage/ Heu	-4,38 \pm 0,20	1,88
M580	(C ₄ /C ₃ -Futter)	-4,15 \pm 0,18	2,11
M773	Gras (C ₃ -Futter)	-4,10 \pm 0,27	2,79
M805		-4,00 \pm 0,19	3,97
Milchproben aus Göstling (AT)			
M1-AT	Grassilage (C ₃ -Futter)	-2,03 \pm 0,39	38,24
M3-AT		-2,13 \pm 0,17	38,80
M6-AT		-2,10 \pm 0,19	39,66
M27-AT	Gras (C ₃ -Futter)	-2,93 \pm 0,22	26,14
M30-AT		-2,21 \pm 0,16	26,44

Neben unterschiedlichen R(⁸⁷Sr/⁸⁶Sr)-Werten weisen die Rinderproben auch signifikante Unterschiede in ihrem Rb/Sr-Verhältnis je nach Probenherkunft auf. Dies zeigen die in der Diplomarbeit von Stephan [181] ermittelten Rb- und Sr-Konzentrationen verschiedener Milchproben. Wie aus *Tabelle 53* entnommen werden kann, ist das Rb/Sr-Verhältnis in den Milchproben aus Berlin ca. eine Größenordnung kleiner als das Rb/Sr-Verhältnis in den Milchproben aus Göstling. Hier zeigt sich deutlich, dass ein kleineres Rb/Sr-Verhältnis in den Milchproben mit negativeren $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werten einhergeht und somit sowohl über die Elementgehalte von Sr und Rb als auch über das Sr-Isotopenverhältnis (⁸⁷Sr/⁸⁶Sr) Informationen über die unterschiedliche Probenherkunft erhalten werden können.

5.4.5 Zusammenfassung der Ergebnisse der Vergleichsstudie

Abbildung 33 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der Isotopenverhältnismessungen von Kohlenstoff, Stickstoff, Magnesium und Strontium in den Rinderproben Milch und Urin bei unterschiedlicher Herkunft und Fütterung.

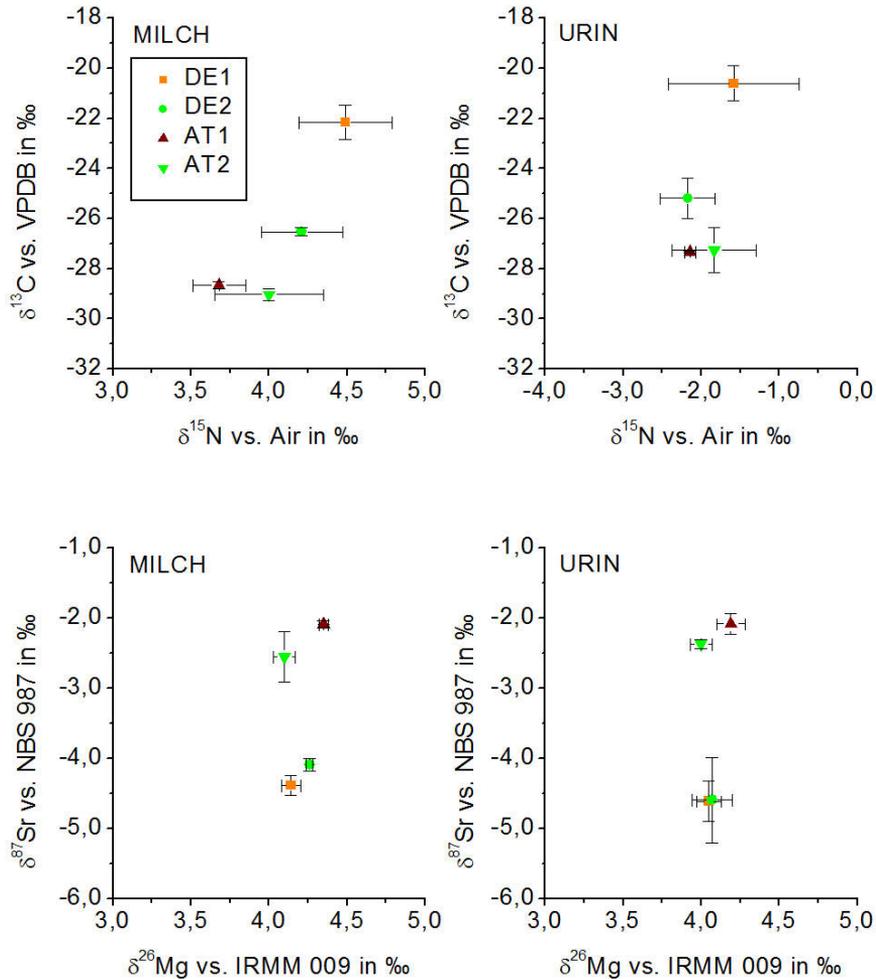


Abbildung 33: Vergleich der Isotopenzusammensetzungen von Kohlenstoff, Stickstoff, Magnesium und Strontium von Milch- und Urinproben aus Berlin (DE) und Göstling (AT) bei unterschiedlichen Rinderfütterungen: DE1: C₄/C₃-Mischfutter (Maissilage/Heu), DE2: C₃-Futter (Gras), AT1: C₃-Futter (Grassilage), AT2: C₃-Futter (Gras).

Dabei zeigt sich, dass die Isotopenverhältnisse von Stickstoff und Magnesium wenig geeignet sind, um die verschiedenen Rinderproben signifikant voneinander unterscheiden zu können. Bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten traten hingegen signifikante Variationen der einzelnen Futtermittel innerhalb eines Standortes auf. Aufgrund dieser Variationen konnte bei den Futtermitteln aus Göstling nachgewiesen werden, dass nur Grassilage und Heu aus selbst angebautem Gras hergestellt wurden, während Stroh und Gerste zugekauft wurden. Die hohe Variation der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin von ca. 4 ‰ bestätigt ebenfalls, dass die Futtermittel unterschiedliche Bezugsquellen aufweisen. Darüber hinaus traten auch Variationen von ca. 2 ‰ in der Stickstoffisotopenzusammensetzung des Gesamtfutters zwischen Berlin und Göstling auf. Diese Unterschiede konnten aufgrund der hohen Streuungen der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte jedoch nicht in den Rinderproben nachgewiesen werden. Bei den $\delta^{26}\text{Mg}$ -Werten wurden in den einzelnen Futtermitteln Variationen von 1–2 ‰ festgestellt. In den jeweiligen Rinderproben konnten diese jedoch ebenfalls nicht ermittelt werden, da dafür die Mg-Isotopenzusammensetzung des Gesamtfutters aus Berlin und Göstling zu ähnlich war.

Deutliche Unterschiede im Gesamtfutter aus Berlin und Göstling waren in der Kohlenstoff- und Strontiumisotopenzusammensetzung zu finden. Bei der Kohlenstoffisotopenzusammensetzung lag das vor allen Dingen an den unterschiedlichen Anteilen der C_4 - und C_3 -Komponenten im Futter und bei der Strontiumisotopenzusammensetzung an den geologischen Besonderheiten der beiden Standorte.

Wie die Ergebnisse dieser Studie zeigen, führt ein hoher Anteil an Mais (C_4 -Pflanze) in der Nahrung, im Vergleich zu einer Nahrung, die vorwiegend aus C_3 -Pflanzen (Gras, Heu, Stroh) besteht, zu weniger negativen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Rinderproben. Demnach können Rinderproben, die von Rindern erhalten wurden, welche mit Maissilage gefüttert wurden, deutlich von Rinderproben unterschieden werden, bei denen die Rinder mit C_3 -Pflanzen gefüttert wurden. Aber auch bei einer reinen Fütterung mit C_3 -Pflanzen sind bei verschiedenen Futterzusammensetzungen signifikante Unterschiede der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in den Rinderproben nachweisbar. Dies kann letztendlich zu einer Unterscheidung von Proben unterschiedlicher Herkunft beitragen. Hier muss allerdings berücksichtigt werden, dass eine unterschiedliche Isotopenverschiebung zwischen den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten des Futters und denen der verschiedenen Rinderproben auftritt.

Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Futtermittel aus Berlin variieren zwischen -2 ‰ und -7 ‰. Diese hohe Variation wird durch die unterschiedliche Herkunft der verschiedenen Futtermittel

verursacht. Bei allen Futtermitteln aus Göstling wurden $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte zwischen -2,0 und -2,9 ‰ ermittelt. Aufgrund der Ähnlichkeit der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte kann vermutet werden, dass alle in Göstling verwendeten Futtermittel, inklusive der zugekauften Futtermittel (Stroh und Gerste), aus der gleichen Region stammen. Obwohl in Berlin wie bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten eine hohe Variation der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Futtermittel und eine Überlappung $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte mit den Futtermittel aus Göstling auftritt, können hier, im Gegensatz zu den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten, signifikante Unterschiede zwischen den Rinderproben aus Berlin und Göstling ermittelt werden. Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben aus Berlin sind ca. 2 ‰ negativer als die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben aus Göstling. Die Rinderproben spiegeln direkt die Sr-Isotopenzusammensetzung des aufgenommenen Futters wieder. Eine Isotopenverschiebung zwischen Milch- und Urinproben konnte nicht festgestellt werden.

5.4.6 Relevanz der Ergebnisse für die Unterscheidung von Proben aus verschiedenen Tierhaltungssystemen und von unterschiedlicher Herkunft

Die beiden Standorte Berlin und Göstling zeichnen sich dadurch aus, dass die Rinder aus Berlin unter konventionellen Bedingungen gehalten werden, während die Rinder aus Göstling unter ökologischen Bedingungen gehalten werden. Ein wesentlicher Unterschied dieser beiden Tierhaltungssysteme besteht in der Ernährung der Rinder. Während das Futter in den kälteren Monaten bei konventioneller Rinderhaltung aus energiereichen Nahrungsbestandteilen, wie Mais, Soja, Raps und anderen Getreidesorten besteht, was einer Mischfütterung mit C_4 - und C_3 -Pflanzen entspricht, erfolgt die Rinderfütterung in den Sommermonaten oftmals mit frischem Weidegras, d.h. einer reinen Fütterung mit C_3 -Pflanzen. Zusätzlich zeichnet sich die konventionelle Tierhaltung dadurch aus, dass der Nahrung ein relativ hoher Anteil an Futterzusätzen, wie Mineralfutter oder Kraftfutter beigemischt wird, um zum Beispiel bei Milchkühen die Milchleistung zu steigern. In der ökologischen Rinderhaltung werden hingegen Mais bzw. Maissilage (C_4 -Pflanze) in europäischen Ländern nur begrenzt verfüttert und auch der Anteil an Mineralfutterzusätzen in der Nahrung ist sehr gering. Nach der EG Öko Verordnung 834/2007, welche ab 01.01.2009 gültig ist und die alte Öko Basisverordnung EWG 2097/91 ablöst, ist eine Fütterung mit Futtermitteln aus konventioneller Herstellung in der Regel bei allen Verbänden untersagt und nur in Ausnahmefällen möglich. In Deutschland gibt es verschiedene Bio-Verbände (Demeter, Bioland, Naturland), welche eigene Richtlinien haben, die aber auf der EG- Öko-Verordnung basieren. Der Bauer aus Österreich gehört

dem Bio-Austria-Ernteverband an. Wie bei den anderen Verbänden ist hier festgeschrieben, dass mindestens 60 % der Nahrung in den Sommermonaten aus Raufutter (Grünfutter oder besser Weidefutter) bestehen sollte. In den Wintermonaten kann die verfütterte Trockensubstanz zu 60 % Anwelksilagen und zusätzlich Heu bestehen, wenn ein Weidegang nicht möglich ist. Generell müssen mindestens 50 % der Futtermittel aus eigenem Anbau stammen und maximal 20 % Öko-Futtermittel dürfen zugekauft werden.

Wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, werden unterschiedliche Futterzusammensetzungen am besten über die Kohlenstoffisotope wieder gegeben. Wie in einer Studie von Molкетин [131] mit deutschen Milchproben aus konventioneller und ökologischer Produktion gezeigt wurde, sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Milchproben aus ökologischer Produktion in der Regel negativer als -28 ‰, während die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Milchproben aus konventioneller Produktion in den meisten Fällen positiver als -26,6 ‰ sind. Bei den Berliner Milchproben, die in dieser Studie im Jahr 2006 von einem Rind erhalten wurden, welches ein Mischfutter aus C_4 - und C_3 -Pflanzen erhalten hatte, wurde ein $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von $-22,2 \pm 0,7$ ‰ ermittelt. Dieser $\delta^{13}\text{C}$ -Wert unterscheidet sich aufgrund des hohen Anteils an Maissilage im Rinderfutter signifikant von dem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Milchproben, die vom Rind während der reinen Fütterung mit C_3 -Pflanzen erhalten wurde. Hier wurde ein $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von $-26,5 \pm 0,2$ ‰ ermittelt, der genau an der Grenze zu dem von Molкетин ermittelten Schwellenwert von $> -26,6$ ‰ für Milch aus konventioneller Produktion liegt. Der hohe Zusatz an Mineral- und Kraffutter in der Rindernahrung ist dafür verantwortlich, dass der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert in der Milch insgesamt positiver ist, als üblicherweise bei reiner Fütterung mit C_3 -Pflanzen erwartet wird.

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Milch des Rindes aus Götting, welches Futter aus ökologischer Landwirtschaft erhalten hat, lag während der Fütterung mit Grassilage bei $-28,7 \pm 0,1$ ‰ und während der Fütterung mit frischem Weidegras bei $-29,0 \pm 0,2$ ‰. Diese beiden $\delta^{13}\text{C}$ -Werte stimmen mit dem von Molкетин ermittelten Bereich von < -28 ‰ für Milchproben aus ökologischer Rinderhaltung überein.

Eine Studie von Boner et al. [31] mit Rindfleischproben aus konventioneller und ökologischer Produktion zeigte weiterhin, dass es möglich ist, einen Schwellenwert zur Unterscheidung von Rindfleisch aus diesen beiden Produktionssystemen festzulegen. Boner stellte fest, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der deutschen Rindfleischproben aus ökologischer Rinderhaltung immer negativer als -20 ‰ waren. Bei den beiden Schwellen-

werten von Molkentin und Boner muss allerdings beachtet werden, dass diese Studien ausschließlich mit Milch- und Fleischproben aus Deutschland durchgeführt wurden. Aussagen darüber, inwiefern diese Grenzwerte auch für andere Länder zutreffen, können nicht ohne weiteres getroffen werden.

Gemäß den Erkenntnissen, die aus dieser Studie gewonnen wurden, kann anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte allein keine eindeutige Aussage darüber getroffen werden, ob die Rinderproben aus konventioneller oder ökologischer Tierhaltung stammen. Es können lediglich Hinweise darüber erhalten werden, ob im Rinderfutter Maissilage enthalten war oder nicht, was häufig ein Kriterium für die Unterscheidung von Produkten aus konventioneller Tierhaltung von Produkten aus ökologischer Tierhaltung in Deutschland und vielen anderen europäischen Ländern ist. Zwar könnte auch ohne Hintergrundinformationen angenommen werden, dass die in dieser Studie ermittelten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von -22‰ bei den Milchproben von Rindern stammen, die sehr wahrscheinlich mit der C_4 -Pflanze Mais bzw. der daraus angefertigten Silage gefüttert wurden, schwieriger wird es hingegen bei den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Milch aus Deutschland, die von dem Rind stammt, welches eine Futterration aus C_3 -Pflanzen erhalten hatte. Hier lagen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Milch bei -26‰ . Bei Betrachtung dieser Werte und unter Berücksichtigung des von Molkentin ermittelten Schwellenwertes von $> -26,6\text{‰}$ für Milchproben aus konventioneller Rinderhaltung, könnte richtig vermutet werden, dass die Milch von einem Rind aus konventioneller Rinderhaltung stammt. Eine eindeutige Aussage darüber, ob dem Rinderfutter Mais bzw. Maissilage zugesetzt wurde oder nicht, kann aber nicht getroffen werden. Klarer wird es bei Milch- und Urinproben aus Göstling, bei denen die ermittelten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen -29‰ und -27‰ liegen. Hier kann mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, dass das Rind, von dem die Proben stammen, mit Mais gefüttert wurde.

Noch schwieriger wird es, wenn die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Proben aus unterschiedlichen Ländern verglichen werden. Wird bei der ökologischen Rinderhaltung Maissilage eingesetzt, wie es in den USA üblich ist, könnten diese Proben nicht von europäischen Rinderproben aus konventioneller Tierhaltung allein anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte unterschieden werden.

Ein weiterer Parameter, der eventuell Aufschluss über das Produktionssystem geben kann, ist das Stickstoffisotopenverhältnis. Der stärkste Faktor, der zu Unterschieden zwischen den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten konventionell und ökologisch hergestellter Produkte führt, ist

die verwendete Düngung der als Futter eingesetzten Pflanzen. In der ökologischen Landwirtschaft dürfen nur an ^{15}N hochangereicherte organische Düngemittel (Stallmist, Gülle, Jauche, Komposte aus organischen Abfällen, Stroh) mit $\delta^{15}\text{N}$ -Werten zwischen 10–20 ‰ verwendet. Bei konventioneller Landwirtschaft werden hingegen oftmals künstliche Düngemittel mit $\delta^{15}\text{N}$ -Werten zwischen -5 ‰ und +5 ‰ eingesetzt. Dementsprechend wäre zu erwarten, dass sowohl in den Pflanzen als auch in den Tieren und tierischen Produkten aus ökologischer Landwirtschaft ein höherer Gehalt an ^{15}N und dementsprechend höhere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auftreten als bei konventionell hergestellten Produkten. In Feldversuchen mit genau kontrollierten Pflanzenwachstumsbedingungen [132] konnte dies auch nachvollzogen werden. Andere Untersuchungen mit Milch und Fleisch aus ökologischer und konventioneller Produktion zeigten aber, dass die konventionellen Produkte oftmals nicht wie erwartet kleinere, sondern zum Teil auch größere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte aufweisen als die ökologisch hergestellten Produkte [31, 112, 130]. Dies liegt daran, dass zum einen bei der konventionellen Landwirtschaft nicht nur künstliche Dünger sondern teilweise auch organische Dünger eingesetzt werden. Zum anderen ist es in der ökologischen Landwirtschaft nicht unüblich, die Äcker mit Leguminosen oder Gründüngung zu kultivieren, welche ebenfalls wie die mineralischen Stickstoffdünger $\delta^{15}\text{N}$ -Werte um 0 ‰ aufweisen. Auf diese Weise kann es zu einer sehr starken Überlappung zwischen den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten der Pflanzen und demzufolge auch den tierischen Produkten aus den verschiedenen Produktionssystemen kommen [19, 132].

In dieser Studie konnten aufgrund der relativ hohen Überlappung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in den Futtermitteln aus Berlin und Götting keine signifikanten Unterschiede in den Rinderproben ermittelt werden. Aus diesem Grund kann auch keine eindeutige Aussage über das Produktionssystem oder die Probenherkunft anhand der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte getroffen werden.

Ein wichtiger Aspekt, der bei Authentizitätsprüfungen berücksichtigt werden muss, ist dass die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte tierischer Proben eines Standortes aufgrund unterschiedlicher Futterzusammensetzungen in den Winter- und Sommermonaten sowie der saisonalen Schwankung der $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte einzelner Futterkomponenten zeitlich variieren können. In dieser Studie konnten zeitliche Schwankungen bei den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten und $\delta^{15}\text{N}$ -Werten eines Futtermittels von bis zu 2 ‰ festgestellt werden. Diese spiegeln sich entsprechend auch in den Rinderproben wider. In einer 2008 von Bahar et al. veröffentlichten Studie [66] wurde die saisonale Schwankung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes von

Rindfleischproben aus konventioneller und ökologischer Herkunft innerhalb eines Jahres untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Rindfleischproben aus konventioneller Tierhaltung im Frühling und Frühsommer weniger negativ sind als in den Wintermonaten. Aufgrund der langsamen Umstellungszeit der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Rinder-muskelfleisch bei einem Futterwechsel macht sich der hohe Anteil an nahrungsergänzenden Substanzen mit hohen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten, die vor allen Dingen in den Wintermonaten zugefüttert wurden, erst in den Proben des Frühjahres bemerkbar. Bei Rinderproben aus ökologischer Tierhaltung, bei denen in der Regel weniger oder keine Nahrungsergänzer eingesetzt wurden, waren die saisonalen Schwankungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte sehr viel kleiner.

Ein weiteres Problem stellt der Transport von Rindern von einem Standort zu einem anderen dar. Bei einer Transportdauer von drei bis sieben Tagen kann es aufgrund der sehr schnellen Umstellungszeit der Kohlenstoffisotope sogar bereits während des Transports zu einer Vermischung der Isotopenzusammensetzungen verschiedener Futtermittel und somit zum Verlust der Information über das Futter des ursprünglichen Standortes der Rinder kommen.

Abgesehen vom Transportproblem und der daraus resultierenden Vermischung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte verschiedener Futterquellen, lassen sich aufgrund der sehr schnellen Umstellungszeit auch sehr schnell gewünschte $\delta^{13}\text{C}$ -Werte durch geeignete Wahl der Futtermittel einstellen und somit auch manipulieren. In der hier durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass in den Milch- und Urinproben eine Umstellung der Kohlenstoffisotopenverhältnisse bei einem Futterwechsel bereits innerhalb von 10 Tagen erfolgt. Im Rindfleisch stellt dies kein Problem dar, weil hier die Umstellungszeit der Kohlenstoffisotope mit ca. 230 Tagen im Vergleich zu den in dieser Studie untersuchten Rinderproben sehr lang ist. Wie aus der vorliegenden Arbeit weiterhin hervorgeht, könnte ein Futterwechsel, der innerhalb des vergangenen halben Jahres durchgeführt wurde, auch durch die Bestimmung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Rinderhaaren nachvollzogen werden

Eine bessere Größe zur Unterscheidung von Proben unterschiedlicher Herkunft ist das Strontiumisotopenverhältnis. Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben reflektieren direkt die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Futterpflanzen der lokalen Umgebung, welche über die Nahrungsaufnahme in die Rinder und ohne Isotopenfraktionierung in die Rinderproben gelangen. Wie diese Studie zeigte, weisen sowohl die Futtermittel als auch die Rinderproben aus Götting die gleichen $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte auf. Dies ist ein deutlicher Hinweis dafür, dass die

Rinder aus Göstling, so wie es in den Regeln für ökologische Tierhaltung vorgeschrieben ist, größtenteils mit Futtermitteln aus der Region ernährt wurden. Allerdings können Rinderproben nur dann anhand der Strontiumisotope unterschieden werden, wenn sie aus Regionen stammen, die sich geologisch stark voneinander unterscheiden. Die Analyse der Strontiumisotope stellte sich in dieser Studie als sehr hilfreich heraus, da hier sowohl die Futtermittel als auch die Rinderproben aus Berlin und Göstling signifikante Unterschiede von 2‰ zeigten. Werden allerdings Futtermittel aus sehr verschiedenen Regionen verfüttert, wie es bei der konventionellen Rinderhaltung oft der Falls ist, geht die lokal spezifische Strontiumisotopenzusammensetzung verloren.

Die in dieser Studie ermittelten Ergebnisse zeigen zwar, dass sich Proben aus Berlin in ihrer Isotopenzusammensetzung von $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ und $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ signifikant voneinander unterscheiden. Allerdings könnte mit den in dieser Arbeit angewendeten Untersuchungsmethoden allein mit diesen beiden Parametern keine eindeutige Herkunftsbestimmung durchgeführt werden. Die Isotopenverhältnisse $R(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})$ und $R(^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg})$ stellten sich als grundsätzlich wenig geeignet für eine Unterscheidung von Proben unterschiedlicher Herkunft heraus.

Neben den bereits genannten Einschränkungen gibt es noch einige generelle Probleme bei der Herkunftsbestimmung von Rinderproben. Um zum Beispiel überprüfen zu können, ob die in einem Supermarkt gekaufte Milch oder das Rindfleisch von dem auf dem Etikett angegebenen Ort stammt, müsste das Produkt bis zu dem Standort zurückverfolgt werden, von welchem es ursprünglich erzeugt wurde und dort eine Vergleichsprobe genommen werden. Allerdings kann über die Analyse der Isotopenzusammensetzung der Vergleichsprobe (als Original) und der Isotopenzusammensetzung des gekauften Produkts lediglich eine Aussage darüber getroffen werden, inwiefern die Isotopenzusammensetzung des Originals mit der des gekauften Produktes übereinstimmt. Nur eine Nichtidentität lässt sich in diesem Fall eindeutig nachweisen. Aussagen darüber, ob das Produkt mit Sicherheit von dem angenommenen Erzeuger stammten, können nicht getroffen werden, da immer eine Restwahrscheinlichkeit besteht, dass das Produkt aus einer ganz anderen Region stammt, in der zufällig die gleichen Bedingungen vorherrschen, sowohl was die Fütterung als auch was die geologischen Gegebenheiten angeht.

Die Zuordnung von Proben zu unterschiedlichen Ländern ist ebenfalls schwierig, da bereits innerhalb eines Landes sehr große Isotopenvariationen auftreten können. Die Rückverfolgung einer Probe ohne Kenntnis über den Ursprungsort ist ohne Hinter-

grundinformation kaum möglich, weil dazu die in der Literatur beschriebene Datenlage viel zu gering ist. Dazu müsste ein Netzwerk bzw. Datenbanken aufgebaut werden, in dem jeder Standort nach genau festgelegten Gesichtspunkten katalogisiert ist. Denkbar wäre hier ein Zusammenschluss mehrerer Bundesbehörden oder Landesämter, die europaweit Kriterien erarbeiten, anhand derer wirtschaftlich relevante Rinderproben (Milch, Milchprodukte und Fleisch) von verschiedenen Standorten zugeordnet werden können. Auch die Analyse anderer Rinderproben, wie Haar, Horn oder Knochencollagen, welche die Isotopenzusammensetzungen über längere Zeit speichern, können hilfreiche Informationen liefern. Dazu müssten größer angelegte Studien mit Rindern aus verschiedenen Regionen durchgeführt werden.

Weitere Parameter, die zu einer Unterscheidung von Proben aufgrund der geographischen Herkunft führen können und auch in verschiedenen Studien zur Herkunftsbestimmung angewendet wurden, sind die Verhältnisse der Wasserstoff-, Sauerstoff- und zum Teil auch der Schwefelisotope. Durch die Untersuchung der Wasserstoff- (D/H)- und Sauerstoff- ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$)-Isotopenzusammensetzung können zum einen gezielte Informationen darüber erhalten werden, wie die durchschnittliche Isotopenzusammensetzung des Niederschlags einer bestimmten Region ist. Die Isotopenzusammensetzung des Niederschlags spiegelt sich im Grundwasser wider, welches von den Rindern aufgenommen und in den einzelnen Kompartimenten gespeichert wird. Da Wasser ein Hauptbestandteil aller Rinderproben ist, kann über die D/H- bzw. $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Isotopenzusammensetzung ein direkter Bezug zu der Wasserisotopenzusammensetzung der Region erhalten werden. Hier ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Isotopenzusammensetzung des Niederschlags jahreszeitlichen Schwankungen ausgesetzt ist, so dass der Zeitpunkt der Probenahme immer mit berücksichtigt werden muss. Die Schwefelisotope geben, ähnlich wie die Stickstoffisotope, lokal spezifische Isotopensignaturen im Boden an und können regional sehr verschieden sein.

6 Zusammenfassung

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag in der Frage, ob sich unterschiedliche Tierhaltungsbedingungen, speziell unterschiedliche Fütterungen, auf die Isotopenzusammensetzung in den Rinderproben Milch und Urin auswirken. Dazu wurde eine kontrolliert und gezielt ausgerichtete Fütterungsstudie mit Rindern durchgeführt und die Umstellungszeit der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnisse bei einem Futterwechsel von einer Mischfütterung mit C₄- und C₃-Pflanzen zu einer reinen Fütterung mit C₃-Pflanzen untersucht. Ein Vergleich der Isotopenzusammensetzung von Rinderproben (Milch und Urin) aus Berlin und Göstling/Österreich sollte weiterhin zeigen, welche Isotope am besten für eine Unterscheidung von Proben unterschiedlicher Herkunft geeignet sind. Zusätzlich zu den Kohlenstoff- und Stickstoffisotopenverhältnissen wurden auch die Isotopenverhältnisse von Magnesium und Strontium in Milch, Urin sowie den einzelnen Futtermitteln bestimmt.

Bei den Stickstoffisotopenverhältnissen (¹⁵N/¹⁴N) war bekannt, dass Unterschiede in der Stickstoffisotopenzusammensetzung des aufgenommenen Futters auch in den Rinderproben reflektiert werden. In dieser Studie konnten jedoch signifikante Unterschiede in den δ¹⁵N-Werten nur in den Urinproben, nicht aber in den Milchproben festgestellt werden. Darüber hinaus sind die δ¹⁵N-Werte der Urinproben negativer und die δ¹⁵N-Werte der Milchproben positiver als die δ¹⁵N-Werte des aufgenommenen Futters. Abgesehen von der Isotopenfraktionierung während der Harnstoffsynthese spielt hier auch die unterschiedliche Futterverwertung bei der Bildung von Milch und Urin eine Rolle. Die Zeit für die Umstellung der Stickstoffisotopenverhältnisse bei einem Futterwechsel wurde in dieser Studie erstmalig untersucht und führte bei den Urinproben nach 49 Tagen zu einer Abnahme des δ¹⁵N-Wertes um 1,4 ‰, während sich die δ¹⁵N-Werte in den Milchproben nach dem Futterwechsel nicht änderten. Obwohl Unterschiede in den δ¹⁵N-Werten des aufgenommenen Futters in Berlin und Göstling auftraten, zeigten die δ¹⁵N-Werte der Rinderproben keine signifikanten Unterschiede. Allerdings konnten unterschiedlichen Bezugsquellen der Futtermittel anhand der δ¹⁵N-Werte nachgewiesen werden.

Auch das Magnesiumisotopenverhältnis ²⁶Mg/²⁴Mg konnte hier nicht zu einer Unterscheidung von Rinderproben aus Berlin und Göstling herangezogen werden. Bei Bestimmung des Magnesiumisotopenverhältnisses in den einzelnen Futtermitteln waren Variationen von 1–2 ‰ zu verzeichnen. Bei Betrachtung des R(²⁶Mg/²⁴Mg)-Wertes des

Gesamtfutters wurden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Futter aus Berlin und Göstling festgestellt. Aus diesem Grund konnten auch in den Rinderproben keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden.

Wesentlich besser für eine Unterscheidung von Proben aus Berlin und Göstling geeignet sind die Kohlenstoff- und Strontiumisotopenverhältnisse. Variationen des Futters spiegeln sich dabei am deutlichsten in den Kohlenstoffisotopenverhältnissen der Rinderproben wider. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass eine Isotopenverschiebung zwischen Futter und Rinderproben auftritt, die bei Milch und Urin unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Die in dieser Fütterungsstudie ermittelten Umstellungszeiten legen nahe, dass in den Rinderproben Milch und Urin nur die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des aufgenommenen Futters der letzten zehn Tage wiedergegeben werden. Die Analyse der stabilen Isotope eines 5 cm langen Rinderhaares zeigte aber auch, dass dort Informationen über das aufgenommenen Futter und eine Futteränderung innerhalb der letzten fünf Monate erhalten werden können. Ein Standortvergleich von Futtermitteln und Rinderproben aus Berlin in Deutschland und Göstling an der Ybbs in Österreich zeigte, dass anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte eine Unterscheidung möglich ist. Zum einen konnten Berliner Rinderproben, bei denen die Rinder teilweise mit Maissilage gefüttert wurden, aufgrund der weniger negativen $\delta^{13}\text{C}$ -Werte signifikant von solchen unterschieden werden, bei denen die Rinder nicht mit Maissilage ernährt wurden. Der Einsatz von Maissilage kann ein Hinweis auf konventionelle Tierhaltung sein. Auch bei gleicher Grundfütterung mit C_3 -Pflanzen war eine Unterscheidung von Rinderproben aus Berlin und Göstling anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte möglich. Ein wesentlicher Unterschied besteht in den höheren Anteilen an Futterzusätzen (Zuckerrübenschnitzel, Sojaschrot, Mineral- und Krafffutter) im Futter der Rinder aus Berlin, die typisch für die konventionelle Tierhaltung sind und bei der ökologischen Tierhaltung nur begrenzt eingesetzt werden dürfen. In dieser Studie führten die Nahrungsmittelzusätze der Berliner Rinder zu weniger negativen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten im Futter und in den Rinderproben und ermöglichten somit eine weitere Unterscheidung zwischen Rinderproben aus Berlin und Göstling. Prinzipiell können Unterschiede in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Rinderproben nur festgestellt werden, sofern auch in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten des von den Rindern aufgenommenen Futters deutliche Unterschiede bestehen. Bei zufällig gleicher Futterzusammensetzung bei Rindern von unterschiedlichen Standorten wäre nach den Erkenntnissen dieser Studie keine signifikante Unterscheidung zwischen den Rinderproben unterschiedlicher

Herkunft oder Produktionssysteme (konventioneller oder ökologischer Tierhaltung) allein anhand der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte möglich.

Ein Ausweg liefert hier die Analyse der ^{87}Sr - und ^{86}Sr -Isotope. Wie die Ergebnisse dieser Studie zeigen, treten signifikante Unterschiede der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte zwischen Rinderproben aus Berlin und Göstling auf. Die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte der Rinderproben werden maßgeblich durch die $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte des aufgenommenen Futters bestimmt. Im Gegensatz zum Kohlenstoffisotopenverhältnis konnten aber keine Isotopenverschiebungen zwischen unterschiedlichen Rinderproben sowie zwischen Rinderproben und Futter festgestellt werden. Das spezifische Strontiumisotopenverhältnis des Bodens und dementsprechend der darauf gewachsenen Pflanzen beeinflusst das Strontiumisotopenverhältnis der Rinderproben. Aufgrund der unterschiedlichen geologischen Gegebenheiten der beiden Standorte waren daher Unterschiede zwischen Rinderproben aus Berlin und Göstling zu erwarten. Die Futtermittel aus Berlin und Göstling, welche keine signifikanten Unterschiede im Kohlenstoffisotopenverhältnis aufweisen, können daher anhand der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte signifikant voneinander unterschieden werden. Demnach ist das Strontiumisotopenverhältnis ein sehr guter Parameter, der zu einer Unterscheidung zwischen Rinderproben unterschiedlicher Herkunft zu Hilfe genommen werden kann. Er kann ebenfalls für die Unterscheidung zwischen konventionell oder ökologisch hergestellten Produkten herangezogen werden. Bei der ökologischen Tierhaltung wird gefordert, dass für die Rinderfütterung nur eigens angebaute Produkte aus der näheren Umgebung verfüttert werden. Demnach muss das Sr-Isotopenverhältnis der Rinderproben dem der einzelnen Futtermittel aus der Region entsprechen. Diese Erwartung konnte in der durchgeführten Studie durch Bestimmung der $\delta^{87}\text{Sr}$ -Werte in den Futtermitteln und Rinderproben aus Göstling bestätigt werden.

Je mehr Parameter zur Verfügung stehen und je besser eine Probe charakterisiert ist, desto besser können Rinderproben unterschiedlicher Herkunft auch als solche klassifiziert werden. Die Isotopenverhältnisse der hier beschriebenen stabilen Isotope bieten zwar eine Möglichkeit, Hinweise auf die Authentizität eines Produktes zu erhalten, sie werden allerdings von sehr vielen verschieden exogenen Faktoren (z. B. Umwelteinflüsse, wechselnde klimatische Bedingungen) beeinflusst, welche zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen können. Aus diesem Grund muss nach weiteren Parametern geforscht werden, welche möglichst über die gesamten Lebensjahre von der Geburt bis zur Schlachtung in dem Rind unveränderlich gespeichert und optimalerweise darüber hinaus noch charakteristisch für einen Standort sind.

Literaturverzeichnis

- [1] Crittenden RG, Andrew AS, LeFournour M, Young MD, Middleton H, Stockmann R. *Determining the geographic origin of milk in Australasia using multi-element stable isotope ratio analysis*. International Dairy Journal. 2007;17(5):421-428.
- [2] Franke B, Koslitz S, Micaux F, Piantini U, Maury V, Pfammatter E. *Tracing the geographic origin of poultry meat and dried beef with oxygen and strontium isotope ratios*. European Food Research and Technology. 2008;226(4):761-769.
- [3] De Laeter JR, Böhlke JK, De Bièvre P, Hidaka H, Peiser HS, Rosman KJR, Taylor PDP. *Atomic weights of elements: Review 2000 (IUPAC Technical Report)*. Pure Applied Chemistry. 2003;75(6):683-800.
- [4] Hoefs J. *Stable isotope geochemistry*. Berlin: Springer Verlag 2004.
- [5] Criss RE. *Abundance, notation, and fractionation of light stable isotopes. Review*. Mineralogy and geochemistry. 2008;86:15-30.
- [6] Peterson BJ, Fry B. *Stable isotopes in ecosystem studies*. Annual Review of Ecology and Systematics. 1987;18(1):293-320.
- [7] O' Leary MH. *Carbon Isotope Fractionation in Plants*. Phytochemistry. 1981;20(4):553-567.
- [8] Tieszen LL. *Natural variations in the carbon isotope values of plants: Implications for archaeology, ecology, and paleoecology*. Journal of Archaeological Science. 1991;18(3):227-428.
- [9] Winkler FJ, Schmidt HL. *Einsatzmöglichkeiten der ¹³C-Isotopen-Massenspektrometrie in der Lebensmitteluntersuchung*. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A. 1980;171(2):85-94.
- [10] Park R, Epstein S. *Carbon isotope fractionation during photosynthesis*. Geochimica et Cosmochimica Acta. 1960;21:110-126.
- [11] Melzer E, Schmidt HL. *Carbon isotope effects on the pyruvate dehydrogenase reaction and their importance for relative carbon-13 depletion in lipids*. J. Biol Chem. 1987;262(17):8159-8164.
- [12] Schmidt HL, Winkler FJ. *Sole Reasons for the range of variation of delta-C-13-values found in C-3-plants and C-4-plants*. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. 1979;92(1):185-191.
- [13] Ma JY, Tuo Chen Wei-Ya Qiang Gang Wang. *Correlations between foliar stable carbon isotope composition and environmental factors in desert plant reaumuria soongorica (pall.) maxim*. Journal of Integrative Plant Biology. 2005;47(9):1065-1073.
- [14] Körner C, Farquhar GD, Wong SC. *Carbon isotope discrimination by plants follows latitudinal and altitudinal trends*. Oecologia. 1991;88(1):30-40.

- [15] Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT. *Carbon isotope discrimination and photosynthesis*. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 1989;40:503-537.
- [16] Heaton THE. *The N-15/N-14 ratios of plants in South-Africa and Namibia – relationship to climate and coastal saline environments*. Oecologia. 1987; 74(2):236–246.
- [17] Ra K, Kitagawa H. *Magnesium isotope analysis of different chlorophyll forms in marine phytoplankton using multi-collector ICP-MS*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2007;22(7):817–821.
- [18] Wagner B, Maidu FX, Fischbeck G. *Natürliche N-Isotopenverhältnisse bei Winterweizen: Einfluß von Boden und Düngung*. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften. 1995;8:33–36.
- [19] Bateman AS, Kelly SD, Jickells TD. *Nitrogen isotope relationships between crops and fertilizer: implications for using nitrogen isotope analysis as an indicator of agricultural regime*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005;53(14):5760–5765.
- [20] Doughton JA, Saffigna PG, Vallis I. *Natural abundance of ¹⁵N in barley as influenced by prior cropping or fallow, nitrogen fertilizer and tillage*. Australian Journal of Agricultural Research. 1991;42(5):723–733.
- [21] Kohl DH, Shaerer G. *Isotopic fractionation associated with symbiotic N₂ fixation and uptake of NO₃⁻ by plants*. Plant Physiology. 1980;66:51–56.
- [22] Watzka M, Buchgraber K, Wanek W. *Natural ¹⁵N abundance of plants and soils under different management practices in a montane grassland*. Soil Biology and Biochemistry. 2006;38(7):1564–1576.
- [23] Yoneyama T, Kazumi K, Jinya Y. *Variation of natural ¹⁵N abundance of crops and soils in Japan with special reference to the effect of soil conditions and fertilizer application*. Soil science and plant nutrition. 1990;36(4):667–675.
- [24] <http://www.seilnacht.com/Lexikon/N2Kreis.gif>
- [25] Handley LL, Raven JA. *The use of natural abundance of nitrogen isotopes in plant physiology and ecology*. Plant Cell and Environment. 1992;15(9):965–985.
- [26] Amberger A, Schmidt HL. *Natürliche Isotopengehalte von Nitrat als Indikatoren für dessen Herkunft*. Geochimica et Cosmochimica Acta. 1987; 51(10):2699–2705.
- [27] Blackmer AM, Bremner JM. *Nitrogen isotope discrimination in denitrification of nitrate in soils*. Soil Biology and Biochemistry. 1977;9(2):73–77.
- [28] Wagner B, Maidu FX, Fischbeck G. *Natürliche N-Isotopenverhältnisse bei Winterweizen: Einfluß von Boden und Düngung*. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften. 1995;8:33–36.

- [29] Evans RD, Ehleringer JR. *Water and nitrogen dynamics in an arid woodland*. *Oecologia*. 1994;99(3):233–242.
- [30] Weerakoon WMW, Ingram KT, Moss DN. *Atmospheric CO₂ concentration effects on N partitioning and fertilizer N recovery in field grown rice (Oryza sativa L.)*. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2005;108(4):342–349.
- [31] Boner M, Förstel H. *Stable isotope variation as a tool to trace the authenticity of beef*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2004;378(2):301–310.
- [32] Heier A. *Nachweis der geographischen Herkunft von Pistazien anhand der Stabilisotopenverhältnisse*. Dissertation. Technische Universität Berlin 2006.
- [33] Walti MK, Walczyk T, Zimmermann MB, Fortunato G, Weber M, Spinaz GA. *Urinary excretion of an intravenous 26Mg dose as an indicator of marginal magnesium deficiency in adults*. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2005;60(2):147–154.
- [34] Bohn T, Walczyk T, Davidsson L, Pritzkow W, Klingbeil P, Vogl. *Comparison of urinary monitoring, faecal monitoring and erythrocyte analysis of stable isotope labels to determine magnesium absorption in human subjects*. *Br. J. Nutr.* 2004;91(1):113–120.
- [35] Wannemacker GD, Ronderos A, Moens L, Vanhaecke F, Bijvelds MJC, Kolar ZI. *Use of double-focusing sector field ICP-mass spectrometry in tracer experiments, aiming at the quantification of Mg²⁺ transport across the intestine of tilapia fish*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2001; 16(6):581–586.
- [36] Coudray C, Feillet-Coudray C, Rambeau M, Mazur A, Rayssiguier Y. *Stable isotopes in studies of intestinal absorption, exchangeable pools and mineral status: The example of magnesium*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2005;19:97–103.
- [37] Stegmann W, Steven L. Goldstein and Michael Georgieff. *Determination of isotope enrichments of magnesium in microwave-digested biological samples by thermal ionization mass spectrometry using a direct loading technique*. *Analyst*. 1996;121:901–904.
- [38] Coudray C, Feillet-Coudray C, Rambeau M, Tressol JC, Gueux E, Mazur A, et al. *The effect of aging on intestinal absorption and status of calcium, magnesium, zinc, and copper in rats: A stable isotope study*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2006;20(2):73–81.
- [39] Catanzaro EJ, Murphy TJ. *Magnesium isotope ratios in natural samples*. *Journal of Geophysical Research*. 1966;71(4):1271–1274.
- [40] Galy A, Belshaw NS, Halicz L, O'Nions RK. *High-precision measurement of magnesium isotopes by multiple-collector inductively coupled plasma mass spectrometry*. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2001;208(1–3):89–98.

- [41] Chang VTC, Makishima A, Belshaw NS, O'Nions RK. *Purification of Mg from low-Mg biogenic carbonates for isotope ratio determination using multiple collector ICP-MS*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2003;18(4):296–301.
- [42] Bolou-Bi EB, Vigier N, Brenot A, Poszwa A. *Magnesium isotope compositions of natural reference materials*. Geostandards and Geoanalytical Research. 2009;33(1):95–109.
- [43] Wombacher F, Eisenhauer A, Heuser A, Weyer S. *Separation of Mg, Ca and Fe from geological reference materials for stable isotope ratio analyses by MC-ICP-MS and double-spike TIMS*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2009;24:627 - 636.
- [44] Dombovári J, Becker JS, Dietze HJ. *Isotope ratio measurements of magnesium and determination of magnesium concentration by reverse isotope dilution technique on small amounts of ²⁶Mg-spiked nutrient solutions with inductively coupled plasma mass spectrometry*. International Journal of Mass Spectrometry. 2000;202(1–3):231–240.
- [45] Tipper ET, Galy A, Gaillardet J, Bickle MJ, Elderfield H, Carder EA. *The magnesium isotope budget of the modern ocean: Constraints from riverine magnesium isotope ratios*. Earth and Planetary Science Letters. 2006; 250:241–253.
- [46] Tipper ET, Galy A, Bickle MJ. *Riverine evidence for a fractionated reservoir of Ca and Mg on the continents: Implications for the oceanic Ca cycle*. Earth and Planetary Science Letters. 2006; 247:267–279.
- [47] Galy A, Bar-Matthews M, Halicz L, O'Nions RK. *Mg isotopic composition of carbonate: insight from speleothem formation*. Earth and Planetary Science Letters. 2002;201(1):105–115.
- [48] Galy A, Yoffe O, Janney PE, Williams RW, Cloquet C, Alard O. *Magnesium isotope heterogeneity of the isotopic standard SRM980 and new reference materials for magnesium-isotope-ratio measurements*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2003;18(11):1352–1356.
- [49] Dougherty AC, Perry D, Williams M. *Magnesium isotopic distribution in dolomite*. Geochimica et Cosmochimica Acta. 1962;26:85–86.
- [50] Teng FZ, Wadhwa M, Helz RT. *Investigation of magnesium isotope fractionation during basalt differentiation: Implications for a chondritic composition of the terrestrial mantle*. Earth and Planetary Science Letters. 2007;261(1–2):84–92.
- [51] Brenot A, Cloguet C, Vigier N, Carignan J, France-Lanord C. *Magnesium isotope systematics of lithologically varies Moselle river basin, France*. Geochimica et Cosmochimica Acta. 2008;72:5070–5089.
- [52] Platzner T, Segal I, Halicz L. *Selected isotope ratio measurements of light metallic elements (Li, Mg, Ca, and Cu) by multiple collector ICP-MS*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2008;390(2):441–450.

- [53] Black JR, Yin Q-z, Casey WH. An experimental study of magnesium-isotope fractionation in chlorophyll-a photosynthesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 2006;70(16):4072–4079.
- [54] Faure G, Mensing TM. *Principles of isotope geology*. 3th ed. New Jersey: Wiley & Sons 2005.
- [55] Bentley AR. *Strontium isotopes from the earth to the archaeological skeleton: a review*. *Journal of Archaeological Method and Theory*. 2006;13(3):135–187.
- [56] Capo RC, Stewart BW, Chadwick OA. *Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods*. *Geoderma*. 1998;82(1–3):197–225.
- [57] Stewart BW, Capo RC, Chadwick OA. *Quantitative strontium isotope models for weathering, pedogenesis and biogeochemical cycling*. *Geoderma*. 1998; 82(1–3):173–195.
- [58] Vogel JC, Eglinton B, Auret JM. *Isotope fingerprints in elephant bone and ivory*. *Nature*. 1990;346(6286):747–749.
- [59] Rossmann A, Haberhauer G, Hoelzl S, Horn P, Pichlmayer F, Voerkelius S. *The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter*. *European Food Research and Technology*. 2000; 211(1):32–40.
- [60] Tieszen LL, Boutton, TW., Tesdahl KG. *Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal-tissues-implications for delta-C-13 analysis of diet*. *Oecologia*. 1983; 57:32–37.
- [61] Gaebler OH, Vitti T.G., Vukmirovich R. *Isotope effects in metabolism of ^{14}N and ^{15}N from unlabeled dietary proteins*. *Can. J. Biochem*. 1966;44:1249–1257.
- [62] Yoneyama T, Ohta Y, Ohtani T. *Variations of natural ^{13}C and ^{15}N abundances in the rat tissues and their correlation*. *Radioisotopes*. 1983;32: 330–332.
- [63] DeNiro MJ, Epstein S. *Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals*. *Geochim Cosmochim Acta*. 1978;42:495–506.
- [64] DeNiro MJ, Epstein S. *Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1981;45(3):341–351.
- [65] Bahar B, Monahan FJ, Moloney AP, O'Kiely P, Scrimgeour CM, Schmidt O. *Alteration of the carbon and nitrogen stable isotope composition of beef by substitution of grass silage with maize silage*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2005;19(14):1937–1942.
- [66] Bahar B, Schmidt O, Moloney AP, Scrimgeour CM, Begley IS, Monahan FJ. *Seasonal variation in the C, N and S stable isotope composition of retail organic and conventional Irish beef*. *Food Chemistry*. 2008;106(3):1299–1305.
- [67] Thorp JL, Sponheimer M. *Contributions of biogeochemistry to understanding hominin dietary ecology*. *American Journal of Physical Anthropology*. 2006; 131(S43):131–148.

- [68] Schwertl M, Auerswald K, Schaufele R, Schnyder H. *Carbon and nitrogen stable isotope composition of cattle hair: ecological fingerprints of production systems?* Agriculture, Ecosystems & Environment. 2005;109(1–2):153–165.
- [69] Boutton TW, Tyrrell HF, Patterson BW, Varga GA, Klein PD. *Carbon kinetics of milk formation in holstein cows in late lactation.* Journal of Animal Science. 1988;66(10):2636–2645.
- [70] Masud ZCV, Martin GJ. *Stable isotope characterization of milk components and whey ethanol.* Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1999; 47:4696–4699.
- [71] Jones RJ, Ludlow MM, Troughton JH. *Estimation of the proportion of C₃ and C₄ plant species in the diet of animals from the ratio of natural ¹²C and ¹³C isotopes in the faeces.* Journal of Agricultural Science. 1979;92:91–100.
- [72] De Smet S, Balcaen A, Claeys E, Boeckx P, Van Cleemput O. *Stable carbon isotope analysis of different tissues of beef animals in relation to their diet.* Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2004;18(11):1227–1232.
- [73] Schmidt H, Stöckigt D, Roßmann A, Christoph N. *Herkunft und Authentizität von Lebensmitteln: Stabilisotopenanalytik.* Chemie in unserer Zeit. 2005; 39(2):90–99.
- [74] Minagawa M, Wada E. *Stepwise enrichment of N-15 along food-chains - further evidence and the relation between delta-N-15 and animal age.* Geochimica Et Cosmochimica Acta. 1984;48(5):1135–1140.
- [75] Kornexl BE, Werner T, Roßmann A, Schmidt HL. *Measurement of stable isotope abundances in milk and milk ingredients: a possible tool for origin assignment and quality control.* European Food Research and Technology. 1997;205(1):19–24.
- [76] Camin F, Perini M, Colombari G, Bontempo L, Versini G. *Influence of dietary composition on the carbon, nitrogen, oxygen and hydrogen stable isotope ratios of milk.* Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2008; 22(11):1690–1696.
- [77] Renou JP, Deponge C, Gachon P, Bonnefoy JC, Coulon JB, Garel JP. *Characterization of animal products according to geographic origin and feeding diet using nuclear magnetic resonance and isotope ratio mass spectrometry: cow milk.* Food Chemistry. 2004;85(1):63–66.
- [78] Sutoh MKT, Yoneyama T. *Variations of natural ¹⁵N abundances in the tissues and digesta of domestic animals.* Radioisotopes. 1987;36:74–77.
- [79] Jones RJ. *The use of natural carbon isotope ratios in studies with grazing animals.* Forage evaluation: concepts and techniques. 1981;277–286.
- [80] Steele KW, Daniel RM. *Fractionation of nitrogen isotopes by animals: a further complication to the use of variations in the natural abundance of ¹⁵N for tracer studies.* Journal of Agricultural Science. 1978;90:7–9.

- [81] Minson DJ, Ludlow MM, Troughton JH. *Differences in natural carbon isotope ratios of milk and hair from cattle grazing tropical and temperate pastures*. Nature. 1975;256:602.
- [82] Ponsard S, Averbuch P. *Should growing and adult animals fed on the same diet show different ^{15}N values?*. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 1999;13(13):1305–1310.
- [83] Vanderklift M, Ponsard S. *Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: a meta-analysis*. Oecologia. 2003;136(2):169–182.
- [84] Rossmann A, Schmidt HL. *Nachweis der Herkunft von Ethanol und der Zuckering von Wein durch positionelle Wasserstoff- und Kohlenstoff-Isotopenverhältnis-Messung*. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A. 1989;188(5):434–438.
- [85] Holbach B, Otteneder H, Marx R, Förstel H, Hützen H. *Der Nachweis des Wasserzusatzes bei Wein mit Hilfe des Stabilisotopenverhältnisses $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$* . Lebensmittelchemie. 1995;49:86–87.
- [86] Bricout J, Koziat J. *Control of the authenticity of orange juice by isotopic analysis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1987;35:758–760.
- [87] Doner LW, Ajie HO, Sternberg LDL, Milburn JM, DeNiro MJ, Hicks KB. *Detecting sugar-beet syrups in orange juice by D/H and O-18/O-16 analysis of sucrose*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1987;35(4):610–612.
- [88] Houerou G, Kelly SD, Dennis MJ. *Determination of the oxygen-18/oxygen-16 isotope ratios of sugar, citric acid and water from single strength orange juice*. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 1999;13(13):1257–1262.
- [89] Kelly SD, Rhodes C, Lofthouse JH, Anderson D, Burwood CE, Dennis MJ. *Detection of sugar syrups in apple juice*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003;51(7):1801–1806.
- [90] Martin GJ, Doubou Danho Claude Vallet. *Natural isotope fractionation in the discrimination of sugar origins*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1991;56(4):419–434.
- [91] Parker IG, Kelly SD, Sharman M, Dennis MJ, Howie D. *Investigation into the use of carbon isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of Scotch whisky congeners to establish brand authenticity using gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry*. Food Chemistry. 1998;63(3):423–428.
- [92] Benincasa C, Lewis J, Perri E, Sindona G, Tagarelli A. *Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis*. Analytica Chimica Acta. 2007;585(2):366–370.
- [93] Ulberth F, Buchgraber Manuela. *Authenticity of fats and oils*. European Journal of Lipid Science and Technology. 2000;102(11):687–694.

- [94] Angerosa F, Breas O, Contento S, Guillou C, Reniero F, Sada E. *Application of stable isotope ratio analysis to the characterization of the geographical origin of olive oils*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1999; 47(3):1013–1017.
- [95] Anklam E. *A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey*. Food Chemistry. 1998;63(4):549–562.
- [96] Martin IG, Macias EM, Sanchez JS, Rivera BG. *Detection of honey with beet sugar using stable isotope methodology*. Food Chem. 1998;61(3):281–286.
- [97] Padovan GJ, De Jong D, Rodrigues LP, Marchini JS. *Detection of adulteration of commercial honey samples by the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio*. Food Chemistry. 2003;82(4):633–636.
- [98] Rossmann A. *Determination of stable isotope ratios in food analysis*. Food Reviews International. 2001;17(3):347–381.
- [99] Cordella C, Moussa I, Martel AC, Sbirrazzuoli N, Lizzani-Cuvelier L. *Recent developments in food characterization and adulteration detection: technique-oriented perspectives*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002; 50(7):1751–1764.
- [100] Kelly S, Heaton K, Hoogewerff J. *Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis*. Trends in Food Science & Technology. 2005;16(12):555–567.
- [101] Reid LM, O'Donnell CP, Downey G. *Recent technological advances for the determination of food authenticity*. Trends in Food Science & Technology. 2006;17(7):344–353.
- [102] Peres B, Barlet N, Loiseau G, Montet D. *Review of the current methods of analytical traceability allowing determination of the origin of foodstuffs*. Food Control. 2007;18(3):228–235.
- [103] Förstel H. *The natural fingerprint of stable isotopes – use of IRMS to test food authenticity*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2007;388(3):541–544.
- [104] Luykx DMAM, van Ruth SM. *An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products*. Food Chemistry. 2008; 107(2):897–911.
- [105] Calderone G, Guillou C. *Analysis of isotopic ratios for the detection of illegal watering of beverages*. Food Chemistry. 2008;106(4):1399–1405.
- [106] Gonzalez-Martin I, Gonzalez-Perez C, Hernandez Mendez J, Marques-Macias E, Sanz Poveda F. *Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine*. Meat Science. 1999;52(4):437–441.
- [107] Gonzalez-Martin I, Gonzalez Perez C, Hernandez Mendez J, Sanchez Gonzalez C. *Differentiation of dietary regimene of Iberian swine by means of isotopic analysis of carbon and sulphur in hepatic tissue*. Meat Science. 2001;58(1):25–30.

- [108] Camin F, Bontempo L, Heinrich K, Horacek M, Kelly S, Schlicht C. *Multi-element (H,C,N,S) stable isotope characteristics of lamb meat from different European regions*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2007;389(1):309–320.
- [109] Sacco D, Brescia MA, Buccolieri A, Caputi Jambrenghi A. *Geographical origin and breed discrimination of Apulian lamb meat samples by means of analytical and spectroscopic determinations*. Meat Science. 2005;71(3):542–548.
- [110] Piasentier E, Valusso R, Camin F, Versini G. *Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat*. Meat Science. 2003;64(3):239–247.
- [111] Nakashita R, Suzuki Y, Akamatsu F, Iizumi Y, Korenaga T, Chikaraishi Y. *Stable carbon, nitrogen, and oxygen isotope analysis as a potential tool for verifying geographical origin of beef*. Analytica Chimica Acta. 2008;617(1–2): 148–152.
- [112] Schmidt O, Quilter JM, Bahar B, Moloney AP, Scrimgeour CM, Begley IS. *Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable isotope ratio analysis*. Food Chemistry. 2005;91(3):545–549.
- [113] Renou JP, Bielicki G, Deponge C, Gachon P, Micol D, Ritz P. *Characterization of animal products according to geographic origin and feeding diet using nuclear magnetic resonance and isotope ratio mass spectrometry. Part II: Beef meat*. Food Chemistry. 2004;86(2):251–256.
- [114] Ritz P, Gachon P, Garel JP, Bonnefoy JC, Coulon JB, Renou JP. *Milk characterization: effect of the breed*. Food Chemistry. 2005;91(3):521–523.
- [115] Camin F, Wietzerbin K, Cortes AB, Haberhauer G, Lees M, Versini G. *Application of multielement stable isotope ratio analysis to the characterization of French, Italian, and Spanish cheeses*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004;52(21):6592–601.
- [116] Manca G, Camin F, Coloru GC, Del Caro A, Depentori D, Franco MA. *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. 2001;49(3):1404–1409.
- [117] Manca G, Franco MA, Versini G, Camin F, Rossmann A, Tola A. *Correlation between multielement stable isotope ratio and geographical origin in peretta cows' milk cheese*. Journal of Dairy Science. 2006;89:831–839.
- [118] Pillonel L, Badertscher R, Froidevaux P, Haberhauer G, Hoelzl S, Horn P. *Stable isotope ratios, major, trace and radioactive elements in emmental cheeses of different origins*. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie. 2003;36(6):615–623.
- [119] Pillonel L, Badertscher R, Casey M, Meyer J, Rossmann A, Schlichtherle-Cerny H. *Geographic origin of European emmental cheese: characterisation and descriptive statistics*. International Dairy Journal. 2005;15(6–9):547–556.

- [120] Ulberth F, Buchgraber M. *Analytical platforms to assess the authenticity of cocoa butter*. European Journal of Lipid Science and Technology. 2003; 105(1):32–42.
- [121] Rummel S, Hoelzl S, Horn P, Rossmann A, Schlicht C. *The combination of stable isotope abundance ratios of H, C, N and S with $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for geographical origin assignment of orange juices*. Food Chemistry. In press. DOI: 10.1016/j.foodchem. 2008.05.115.
- [122] García-Ruiz S, Moldovan M, Fortunato G, Wunderli S, García Alonso JI. *Evaluation of strontium isotope abundance ratios in combination with multi-elemental analysis as a possible tool to study the geographical origin of ciders*. Analytica Chimica Acta. 2007;590(1):55–66.
- [123] Capron X, Smeyers-Verbeke J, Massart DL. *Multivariate determination of the geographical origin of wines from four different countries*. Food Chemistry. 2007;101(4):1585–1597.
- [124] Almeida CM, Vasconcelos MTSD. *ICP-MS determination of strontium isotope ratio in wine in order to be used as a fingerprint of its regional origin*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2001;16:607–611.
- [125] Horn P, Schaaf P, Holbach B, Holzl S, Eschnauer H. *Sr-87/Sr-86 from Rock and Soil into Vine and Wine*. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung. 1993;196(5):407–409.
- [126] Barbaste M, Robinson K, Guilfoyle S, Medina B, Lobinski R. *Precise determination of the strontium isotope ratios in wine by inductively coupled plasma sector field multicollector mass spectrometry (ICP-SF-MC-MS)*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2002;17:135–137.
- [127] Swoboda S, Brunner M, Boulyga S, Galler P, Horacek M, Prohaska T. *Identification of Marchfeld asparagus using Sr isotope ratio measurements by MC-ICP-MS*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2008;390(2):487–494.
- [128] Fortunato G, Mumic K, Wunderli S, Pillonel L, Bosset JO, Gremaud G. *Application of strontium isotope abundance ratios measured by MC-ICP-MS for food authentication*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2004; 19:227–234.
- [129] Hedman KM, Curry BB, Johnson TM, Fullagar PD, Emerson TE. *Variation in strontium isotope ratios of archaeological fauna in the Midwestern United States: a preliminary study*. Journal of Archaeological Science. 2009;36(1): 64–73.
- [130] Molkentin J, Giesemann A. *Differentiation of organically and conventionally produced milk by stable isotope and fatty acid analysis*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2007;388(1):297–305.
- [131] Molkentin J. *Authentication of organic milk using d^{13}C and the α -Linolenic acid content of milk fat*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2009; 57:758–790.

- [132] Schmidt HL, Roßmann A, Voerkelius S, Schnitzler WH, Georgi M, Graßmann J, Zimmermann G, Winkler R. *Isotope characteristics of vegetables and wheat from conventional and organic production*. *Isotopes in Environmental and Health Studies*. 2005;41(3):223–228.
- [133] Pilgrim TS, Watling RJ, Grice K. Application of trace element and stable isotope signature to determine the provenance of tea (*Camellia sinensis*) samples. *Food Chem*. 2008 In press. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.08.077.
- [134] Thiel G, Geisler G, Blechschmidt I, Danzer K. *Determination of trace elements in wines and classification according to their provenance*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2004;378(6):1630–1636.
- [135] Heaton K, Kelly SD, Hoogewerff J, Woolfe M. *Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace element analysis*. *Food Chemistry*. 2008;107(1):506–515.
- [136] Brand W. *High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry*. *Journal of Mass Spectrometry*. 1996;31(3):225–235.
- [137] Becker JS. *State-of-the-art and progress in precise and accurate isotope ratio measurements by ICP-MS and LA-ICP-MS – Plenary Lecture*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2002;17(9):1186–1193.
- [138] Nier, AO. *A mass spectrometer for isotope and gas reference materials: An inter-laboratory comparison analysis*. *Rev. Sci. Instrum*. 1947;18:398–411.
- [139] McKinney CR, McCrea JM, Epstein S, Allen HA, Urey HC. *Improvements in mass spectrometers for the measurement of small differences in isotope abundance ratios*. *Review of Scientific Instruments*. 1950;21(8):724–730.
- [140] Preston T. *The measurement of stable isotope natural abundance variations*. *Plant, Cell and Environment*. 1992;15(9):1091–1097.
- [141] Brenna JT, Corso TN, Tobias HJ, Caimi RJ. *High-precision continuous-flow isotope ratio mass spectrometry*. *Mass Spectrometry Reviews*. 1997;16(5): 227–258.
- [142] Platzner IT. *Modern Isotope Ratio Mass Spectrometry*. Chichester: Wiley & Sons 1997.
- [143] Sieper HP, Kupka HJ, Williams T, Rossmann A, Rummel S, Tanz N, Schmidt HL. *A measuring system for the fast simultaneous isotope ratio and elemental analysis of carbon, hydrogen, nitrogen and sulfur in food commodities and other biological material*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2006;20(17):2521–2527.
- [144] Birck JL. *Precision K-Rb-Sr isotopic analysis - application to Rb-Sr chronology*. *Chemical Geology*. 1986;56(1–2):73–83.

- [145] Font L, Nowell GM, Pearson DG, Ottley CJ, Willis SG. *Sr isotope analysis of bird feathers by TIMS: a tool to trace bird migration paths and breeding sites*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2007;22(5):513–522.
- [146] Becker JS. *Inorganic Mass Spectrometry*. Chichester: Wiley & Sons 2007.
- [147] Nelms SM. *ICP Mass Spectrometry Handbook*. Oxford: Blackwell Publishing 2005.
- [148] *DIN Internationales Wörterbuch der Metrologie*. 2. Aufl. Berlin: Beuth Verlag 1994.
- [149] International Standards Organization. *Guide to the expression of uncertainty in measurement ISO*, Geneva (1995).
- [150] Brand WA. *Mass spectrometer hardware for analyzing stable isotope ratios*. ed. de Groot PA. *Handbook of stable isotope analytical techniques*, Vol. 1. Elsevier 2004.
- [151] Craig H. *Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide*. Geochimica et Cosmochimica Acta. 1957;12(1–2):133–149.
- [152] Santrock J, Stanley SA, Hayes JM. *Isotopic analyses based on the mass spectrum of carbon dioxide*. Analytical Chemistry. 1985; 57:1444–1448.
- [153] Vogl J. *Characterisation of reference materials by isotope dilution mass spectrometry*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2007;22(5):475–492.
- [154] Rehkämper M, Wombacher F, Aggarwal JK. *Stable isotope analysis by multi collector ICPMS*, ed. P. A. de Groot, *Handbook of stable isotope analytical techniques*. Vol.1. Elsevier 2004.
- [155] Montaser A. *Inductively coupled plasma mass spectrometry*. Weinheim: Wiley-VCH 1998.
- [156] Feldmann I, Jakubowski N, Thomas C. *Application of a hexapole collision and reaction cell in ICP-MS; Part I: Instrumental aspects and operation optimization*. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry. 1999;365:415–421.
- [157] Feldmann I, Jakubowski N, Thomas C. *Application of a hexapole collision and reaction cell in ICP-MS; Part II: Analytical figures of merit and first applications*. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry. 1999;365:422–428.
- [158] Tanner SC, Baranov VI, Bandura DR. *Reaction cell and collision cell for ICP-MS: a tutorial review*. Spectrochimica Acta Part B. 2002;57:1361–1452.
- [159] Vogl J. *ICP mass spectrometry in calibration strategies and quality assurance*. ed. Nelms S. Oxford: Blackwell Publishing 2005: 147–181.

- [160] Heumann KG, Gallus SM, Radlinger G, Vogl J. *Precision and accuracy in isotope ratio measurements by plasma source mass spectrometry*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 1998;13(9):1001–1008.
- [161] Cavazzini G. *A method for determining isotopic composition of elements by thermal ionization source mass spectrometry: Application to strontium*. International Journal of Mass Spectrometry. 2005;240:7–26.
- [162] Yang L, Peter C, Panne U, Sturgeon RE. *Use of Zr for mass bias correction in strontium isotope ratio determinations using MC-ICP-MS*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2008;23(9):1269–1274.
- [163] Halicz L, Segal I, Fruchter N, Stein M, Lazar B. *Strontium stable isotopes fractionate in the soil environments?* Earth and Planetary Science Letters. 2008;272:406–411.
- [164] Fietzke J, Eisenhauer A. *Determination of temperature-dependent stable strontium isotopes ($^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) fractionation via bracketing standard MC-ICP-MS*. Geochemistry, Geophysics, Geosystems. 2006;7:1–6.
- [165] Coplen TB, Brand WA, Gehre M, Groning M, Meijer HAJ, Toman B. *New guidelines for $\delta^{13}\text{C}$ measurements*. Analytical Chemistry. 2006;78(7):2439–2441.
- [166] Kelly SD. *Using stable isotope ratio mass spectrometry (IRMS) in food authentication and traceability*. Ed: M. Lees. Food authenticity and traceability. Woodhead Publishing, Cambridge, 2003.
- [167] Qi H, Tyler B, Coplen Heike Geilmann Willi A, Brand J. K. Böhlke. *Two new organic reference materials $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ measurements and a new value for the $\delta^{13}\text{C}$ of NBS 22 oil*. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2003;17(22):2483–2487.
- [168] Vogl J, Pritzkow W, Klingbeil P. *The need for new SI-traceable magnesium isotopic reference materials*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2004; 380(7–8):876–879.
- [169] Tipper ET, Louvat P, Capmas F, Galy A, Gaillardet J. *Accuracy of stable Mg and Ca isotope data obtained by MC-ICP-MS using the standard addition method*. Chemical Geology. 2008;257(1–2):65–75.
- [170] Catanazaro EJ, Murphy TJ, Garner EL, Shields IRMM 009, Zertifikat. J. Research NBS 70A.1966;6:453–458.
- [171] Müller-Sohnius D. *$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for isotope standards of Eimer and Amend (E&A), modern seawater strontium (MSS) and the Standard Reference Material (SRM) 987: development of interlaboratory mean values, procedures of adjusting and the comparability of results*. Geologica Bavaria. 2007;110:5–59.
- [172] Bock R. *Handbuch der analytisch-chemischen Aufschlussmethoden*. Weinheim: Wiley-VCH 2001.

- [173] Dorfner K. *Ionenaustauscher: Eigenschaften und Anwendungen*. 2. überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin: Walter de Gruyter 1964.
- [174] Kromidas S. *Validierung in der Analytik*. Weinheim: Wiley-VCH 1999.
- [175] Doerffel K. *Statistik in der analytischen Chemie*. 5. Aufl. Leipzig: Dt. Verl. für Grundstoffind. 1966.
- [176] Rjagopalan G, Ramesh R, Sukumar R. *Climatic implications of $\delta^{13}C$ and $\delta^{18}O$ ratios from C3 and C4 plants growing in a tropical montane habitat in southern India*. Journal of Biosciences. 1999;24(4):491–498.
- [177] Statistisches Landesamt Berlin. *Statistisches Jahrbuch 2006*. Berlin: Kulturbuch-Verlag 2006.
- [178] Nakamura K, Schoeffler, DA, Winkler FJ. *Geographical variations in the carbon isotope composition of the diet and hair in contemporara man*. Biomed. Mass. Spectrom. 1982;8(9):390–394.
- [179] West AG, Ayliffe LK, Cerling TE, Robinson TF, Karren B, Dearing MD, Ehleringer JR. *Short-term diet changes revealed using stable carbon isotopes in horse tail-hair*. Functional Ecology. 2004;18(4):616–624.
- [180] Pogge G. *Der Einfluss der Ernährung der Kuh auf die Zusammensetzung der Milch*. Diplomarbeit, Universität Potsdam 2010.
- [181] Stephan K. *Elementscreening in der Milch und in Futtermitteln mit HR-ICP-MS*. Diplomarbeit. Humboldt-Universität zu Berlin 2008.

Danksagung

Diese Arbeit wurde in der Arbeitsgruppe „Isotopenanalytik“ der Abteilung für Analytische Chemie, Referenzmaterialien an der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung in Kooperation mit dem Zentrum für Analytische Chemie des Bundesinstituts für Risikobewertung angefertigt. An dieser Stelle möchte ich mich bei den vielen Menschen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Bei Herrn Prof. Dr. Ulrich Panne bedanke ich mich herzlich für die Bereitstellung des Themas und der Betreuung der Arbeit. Ihm und Herrn Dr. Michael G. Weller danke ich für das stetige Interesse am Fortschritt dieser Arbeit.

Herrn Dr. Jochen Vogl und Herrn Dr. Wolfgang Pritzkow danke ich ganz herzlich für Ihre ständige Ansprechbarkeit und Diskussionsbereitschaft, sowie für ihre tatkräftige Unterstützung bei allen messtechnischen Problemen und deren Beseitigung.

Frau Dorit Becker und Frau Maren Koenig danke ich für die freundliche Arbeitsatmosphäre und die vielen Hilfestellungen im Labor, die mir das Arbeiten sehr erleichtert haben.

Frau Kristin Stephan und Frau Gesine Pogge danke ich für die Aufklärung weiterer Fragestellungen des Projektes im Rahmen Ihrer Diplomarbeiten.

Mein besonderer Dank gilt allen Kollegen am BfR, die mich sehr herzlich in Ihre Mitte aufgenommen haben. Insbesondere Frau Dr. Angelika Preiß-Weigert und Frau Dr. Hildburg Fry danke ich herzlich für Ihre konstruktive Unterstützung bei allen wissenschaftlichen Fragestellungen und ihre ständigen Diskussions- und Hilfsbereitschaft. Ganz besonders danke ich auch Frau Heide-Marie Lochotzke für Ihre tatkräftige Unterstützung bei der Organisation und Durchführung der Fütterungsstudie sowie dem reibungslosen Ablauf bei der Probenlieferung.

Familie Rettensteiner danke ich für die zur Verfügung Stellung der Göstlinger Rinderproben.

Frau Anette Meixner danke ich für die Durchführung der Magnesiumisotopenbestimmung am GFZ Potsdam.

Meiner Familie, meinen Kindern und ganz besonders meinem Mann Christian danke ich dafür, dass sie immer für mich da sind und mir Kraft geben schwierige Situationen zu meistern.