

## Food Proteomics zum massen- spektrometrischen Nachweis der Authentizität von Honig



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungseinrichtung(en):	Institut für Innovationen im Lebensmittel- und Umweltbereich e. V. (IILU), Bremen Dr. Cord Lüllmann/Arne Dübecke  Universität Stuttgart Institut für Biochemie und Technische Chemie Abt. Lebensmittelchemie Prof. Dr. Jens Brockmeyer
Industriegruppe(n):	Deutscher Berufs- und Erwerbs-Imker-Bund e. V. (DBIB), Utting am Ammersee Österreichischer Erwerbsimkerbund, Deutsch Goritz
Projektkoordinator:	Klaus Ahrens Deutscher Berufs- und Erwerbs-Imker-Bund e.V. (DBIB), Utting am Ammersee
Laufzeit:	2020 - 2024
Zuwendungssumme:	€ 540.087,--

### Ausgangssituation

Honig gehört zu den am häufigsten verfälschten Lebensmitteln weltweit. Trotz umfassender Analytik kann insbesondere eine im industriellen Maßstab erfolgende Verfälschung bisher nicht oder nur unzureichend nachgewiesen werden. Während der Verkaufswert von in Deutschland produziertem Honig (Fassware) 2019 zwischen € 4,90 - 5,50 € lag, werden Importhonige z. T. bereits für € 1,30 je kg angeboten. Insbesondere diese extrem günstigen Honige stehen wegen ihrer minderwertigen Qualität und häufigem Verfälschungsverdacht in der Kritik. Die hohen Preisunterschiede verdeutlichen, wie massiv minderwertige Importhonige deutsche Imkereien unter Druck setzen, da diese hierdurch geringere Preise erzielen und eine kostendeckende Produktion in Deutschland kaum mehr möglich ist. Neben der direkten Zugabe von Sirup zu Honig und der Sirupfütterung während der Honigproduktion stellen insbesondere ausländische „Honigfabriken“, in denen unreifer Honig in industriellem Maßstab aufkonzentriert und verarbeitet wird, um den Eindruck natürlichen Honigs zu vermitteln, ein immenses Problem dar. Sowohl die Sirupzugabe als auch die Dehydrierung des unreifen Honigs ist laut EU-Honigverordnung nicht gestattet. Es existiert aber derzeit keine routinetaugliche Methode, die dehydrierten Honig sicher nachweisen kann.

Sirup, der für Verfälschungen benutzt wird, wird i.d.R. durch Hydrolyse von Stärke hergestellt. Dabei kommen u.a. auch bienenfremde Enzyme zum Einsatz, die nicht natürlicherweise in Honig vorkommen. Bei der Reifung von Honig geben die Bienen Proteine bzw. Enzyme zum Honig, was bei unreifem Honig nur in geringem Maße geschieht. Für die beschriebenen Fälle der Verfälschung könnte die Bestimmung von Bienenproteinen deshalb eine vielversprechende Basis zur Identifizierung von Markern zur Detektion dieser unlauteren Praktiken sein.

Ziel des Forschungsvorhabens ist die Entwicklung eines neuen Analyseverfahrens zum Nachweis der Authentizität von Honig. Hierzu soll das durch die Bienen im Rahmen der Reifung eingetragene Proteinprofil als neuer valider Authentizitätsparameter nutzbar gemacht und auf Triple-Quadrupol-Massenspektrometrie, wie sie auch in der Rückstandsanalytik zum Einsatz kommt, übertragen und unter Routinebedingungen getestet werden.

### **Forschungsergebnis**

Ausgangspunkt der Forschungsarbeiten war die Entwicklung geeigneter Analysemethoden für die im Projekt zu untersuchenden Proben (Honig, Sirup, Hypopharyngealdrüsen, Pollen, Nektarien). Für Honigproben war darüber hinaus die Entwicklung einer schnellen und routinefähigen Analysenmethode wesentlich. Nach Vergleich verschiedener Aufarbeitungsstrategien stellten sich für Honigproben die Fällung der Proteine mittels Ethanol bzw. Trichloressigsäure als schnellste und effektivste Aufarbeitungsmethode heraus und konnte erfolgreich in einem Routinelabor an FE 1 etabliert werden. Analog wurden spezifische Methoden für Sirup, Pollen, Nektarien und Hypopharyngealdrüsen entwickelt und jeweils zur umfassenden Proteomcharakterisierung genutzt.

Basierend auf diesen Daten konnten in initial 28 Honigproben der Trachten Raps, Linde, Akazie und Polyfloraler Honig jeweils > 100 Proteine des Bienenspeichels und Proteine der jeweiligen Tracht identifiziert werden (Raps > 500 identifizierte Proteine). Für die optimierte Probenvorbereitung wurden zwischen 2500 und 3800 de novo Peptide identifiziert, die für die nachfolgende Identifikation von Markerpeptiden genutzt wurde. 42 Peptide, repräsentativ für 13 Proteine des Bienenspeichels, wurden in allen Honigproben (>100) identifiziert und unter anderem auch als Marker für den Nachweis von Honig in verarbeiteten Produkten etabliert. Die Differenzierung „reifer versus unreifer Honig“ konnte als proof of concept in einem limitierten Probensatz erfolgreich über sogenannte Differenzierungsmarker etabliert werden. Aus den in Pollen, Nektarien und Honig der Tracht Raps nachgewiesenen Markerpeptiden konnte eine Methode zur Identifizierung von „Raps“ entwickelt werden. Zusammenfassend erlauben die identifizierten Markerpeptide und entwickelten Methoden die Untersuchung verschiedener relevanter Qualitätsparameter von Honig und Honigprodukten und erhöhen den Schutz vor Verfälschung.

Die neu entwickelte Proteomics-Methode wurde dem Routinelabor übermittelt, dort auf einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer etabliert und die Screening-Proben analysiert. Die ermittelten Marker-Peptid-Intensitäten in authentischen sowie nachweislich (NMR-Profilung) verfälschten Honigproben wiesen deutliche Unterschiede auf, was zeigt, dass die Methode grundsätzlich zum Nachweis der Zumischung von Sirup in Honig geeignet ist.

### **Wirtschaftliche Bedeutung**

Im Ergebnis des Vorhabens wurde dem gesamten deutschen Honiggewerbe und den Erwerbsimkereien die Basis einer Methode zur Verfügung gestellt, mit der die Authentizität bzw. die Verfälschung von Honig sicher nachgewiesen werden kann. Dies unterstützt honigverarbeitende Betriebe bei der Erkennung von verfälschtem Honig und dient somit der Wahrung der Authentizität der Honige auf dem deutschen Markt. Honigverarbeitende Betriebe können diese Analytik in ihre Food-Fraud-Vermeidungsstrategie integrieren und somit auch den Anforderungen verschiedener Standards, wie z. B. IFS, BRC etc., noch besser genügen. Dienstleistungslaboratorien können durch die neue Methode zudem ihr Portfolio erweitern.

### **Publikationen (Auswahl)**

1. FEI-Schlussbericht 2024.
2. Murr, S. & Brockmeyer, J.: Verfälschter Honig - Welchen innovativen Beitrag kann die massenspektrometrische Proteinanalytik leisten? Dt. Lebensm.-Rundsch. 10 (119) (2023).
3. Murr, S., Richter, I. & Brockmeyer, J.: Identifizierung Raps-assoziiertes Peptidmarker zum Nachweis des floralen Ursprungs in Rapshonig mittels LC-MS/MS. Lebensmittelchem. 77, 174-178 (2023).

### Weiteres Informationsmaterial

Institut für Innovationen im Lebensmittel- und Umweltbereich e. V. (IILU),  
Flughafendamm 9a, 28199 Bremen  
Tel.: +49 421 59-4770  
Fax: +49 421 59-4771  
E-Mail: info@iilu.de

Universität Stuttgart  
Institut für Biochemie und Technische Chemie  
Abt. Lebensmittelchemie  
Allmandring 5b, 70569 Stuttgart  
Tel.: +49 711 685-64359  
E-Mail: jens.brockmeyer@lc.uni-stuttgart.de

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

### Förderhinweis

#### ... ein Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages



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

Bildnachweis - Seite 1: © Wolfgang Hasselmann, <https://unsplash.com/photos/FpmSLjo408E>

Stand: 16. Januar 2025