

## Identifizierung von Markersubstanzen zur Charakterisierung von Sortenhonigen

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Institut für Innovationen im Lebensmittel- und Umweltbereich e.V., Bremen Dr. C. Lüllmann
<b>Forschungsstelle II:</b>	Technische Universität Dresden Institut für Lebensmittelchemie Professur für Spezielle Lebensmittelchemie und Lebensmittelproduktion Prof. Dr. K. Speer
<b>Industriegruppe:</b>	Honigverband e.V., Hamburg
	Projektkoordinator: H. Schulze, Fürsten-Reform, Dr. med. Hans Plümer Nachf. GmbH & Co.KG, Braunschweig
<b>Laufzeit:</b>	2009 - 2011
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 440.550,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Honig gilt als hochwertiges und naturbelassenes Erzeugnis. Dabei nehmen Sortenhonige einen besonderen Stellenwert ein, denn sie sind hinsichtlich ihrer botanischen Herkunft gesetzlich (LFGB) klar definiert und erzielen infolgedessen hohe Marktpreise. Nach § 3 Abs. 3 Nr. 1 der deutschen Honigverordnung ist eine entsprechende Kennzeichnung aber nur zulässig, „[...] wenn der Honig vollständig oder überwiegend den genannten Blüten oder lebenden Pflanzenteilen entstammt und die entsprechenden physikalisch-chemischen, organoleptischen und mikroskopischen Merkmale aufweist“.

Die mikroskopische Pollenanalyse ist bisher die entscheidende Methode zur Identifizierung der botanischen Herkunft von Honig. Der Pollenanteil im Honig spiegelt jedoch in vielen Fällen nicht den Anteil aus der betreffenden Pflanze wider. Häufige Gründe sind eine nicht einheitliche Tracht, wenn Nektar- und Pollenangebote in den unterschiedlichen Jahreszeiten differieren. Zu einer Irreführung bei der Sortenbestimmung von Honigen können auch Pflanzen beitragen, die übermäßig viele Pollen (Edelkastanie) oder

auch verhältnismäßig wenige Pollen (Sonnenblume, Lavendel) liefern. Die IHC (International Honey Commission) hat daher bereits gefordert, dass für die honigverarbeitende Industrie alternative Parameter erarbeitet werden müssen, mit denen eindeutig und objektiv der botanische Ursprung von Honigen ermittelt werden kann. Dabei erwiesen sich vor allem Proteine, Aminosäuren, Phenolcarbonsäuren und Flavonoide aufgrund ihres pflanzenspezifischen Vorkommens als potente Markersubstanzen, wie im Rahmen des IGF-Vorhabens AiF 14450 BG festgestellt wurde.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, ausgewählte authentische Sortenhonige (Wald-, Heide-, Eukalyptus-, Thymian-, Lavendel-, sowie Rosmarinhonige) hinsichtlich dieser Substanzklassen vergleichend zu analysieren, um sortenspezifische Profile und Markersubstanzen zur Bestimmung des botanischen Ursprungs zu erarbeiten.

### Forschungsergebnis:

Im Vordergrund der Untersuchungen stand zu-

nächst die Charakterisierung der Sortenhonige (Eukalyptus, Wald, Heide, Lavendel, Rosmarin, Thymian). Dazu wurden zahlreiche Honige der jeweiligen Honigsorte hinsichtlich ihrer Aminosäure-, Enzym- bzw. Protein- und Polyphenolzusammensetzung analysiert. Über einen intensiven Profilvergleich konnten letztlich aufgrund des alleinigen Vorkommens von Verbindungen bzw. wiederkehrenden hohen Intensitäten einzelner Substanzen potentielle Marker für die jeweilige Sorte herausgearbeitet werden.

Unbekannte Markerverbindungen wurden mit semipräparativer Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) isoliert und angereichert. Einzelne Strukturen konnten mittels Massenspektrometrie und Kernresonanzspektroskopie aufgeklärt werden.

In Hinblick auf die Deklaration von Markersubstanzen zeigte sich, dass sich Eukalyptushonige vor allem durch hohe Konzentrationen an  $\alpha$ -oxolonon auszeichnen, wohingegen Waldhonige vergleichsweise hohe Protocatechusäuregehalte sowie Glucose-Oxidase-Aktivitäten aufweisen. Heidehonige sind reich an Phenylmilchsäure und Dehydrovomifoliol sowie an Benzoesäure, Zimtsäure und Mandelsäure und weisen erhöhte Katalase-Aktivitäten sowie Proteingehalte auf. Lavendelhonige grenzen sich durch hohe Phenylalaningehalte und ein erhöhtes Tyrosin/Prolin-Verhältnis von den anderen untersuchten Honigsorten ab. Für Rosmarinhonige war hingegen das Vorhandensein der Verbindung Unedon sowie das Lysin/Prolin- und das Histidin/Prolin-Verhältnis charakteristisch. Thymianhonige fielen durch hohe Trihydroxytrimethyl-cyclohexylbutanon-Konzentrationen sowie erhöhte Tyrosin-Gehalte auf. Charakteristische Proteine waren mittels biochemischer Verfahren detektierbar, konnten jedoch nicht in allen Honigen der gleichen Sorte nachgewiesen werden.

Für die Bestimmung der Aminosäureprofile wurde eine Methode von NOZAL et al. stark vereinfacht und optimiert, so dass ein hoher Probandurchsatz gewährleistet werden konnte. Die derivatisierten Proben wurden mit GC-MS vermessen.

Für die Quantifizierung der Polyphenole wurde eine Festphasenextraktion entwickelt, die es ermöglicht, bis zu 12 Proben parallel aufzuarbeiten und somit ebenfalls einen hohen Probandurchsatz gewährleistet. Die Honigextrakte wurden mit UPLC-PDA-MS/MS im Selected-Reaction-Monitoring-Modus chromatographiert.

Um sicherzustellen, dass die deklarierten Marker lagerstabil sind, wurde zudem ein Lagerversuch durchgeführt. Dieser ergab in Bezug auf die Polyphenole, dass die prozentuale Konzentrationsänderung nicht größer 10 % war. Da Honig ein Naturprodukt ist und damit gewissen Schwankungen unterliegt, kann davon ausgegangen werden, dass die genannten Marker unter den angewandten Bedingungen lagerstabil sind und folglich zur Authentifizierung herangezogen werden können.

#### **Wirtschaftliche Bedeutung:**

Das wirtschaftliche Handels- und Verarbeitungsvolumen von Honig beträgt 100.000 t pro Jahr, von dem ca. 20 % in Deutschland von etwa 100.000 Imkern erzeugt wird; die restliche Menge wird importiert. Sortenreine Honige machen dabei mehr als ein Viertel aus. Die Honig verarbeitende Industrie besteht in Deutschland aus ca. 40 überwiegend kleinen und mittelständischen Unternehmen mit einem Gesamtumsatzvolumen von ca. 180 Mio. Euro. Das Naturprodukt Honig hat in den letzten Jahren sowohl als Lebensmittel als auch Naturheilmittel zunehmend an Bedeutung gewonnen. Mit etwa 1,1 kg pro Kopf und Jahr zählt Deutschland weltweit zu den Spitzenreitern im Honigverbrauch, was mit einem jährlichen Importvolumen von etwa 70.000 t Honig einhergeht (Honig-Verband 2010). Da Sortenhonige im Vergleich zu Mischhonigen deutlich höhere Verkaufspreise erzielen, ist eine Überprüfung der Sortenreinheit aus Gründen der Qualitätssicherung und zum Schutz vor Täuschung unerlässlich.

Mit der Bereitstellung der Analysenmethoden zur Bestimmung des botanischen Ursprungs von Honigen können die Ergebnisse der gängigen Pollenanalyse abgesichert und somit auch im Sinne des Verbraucherschutzes verbessert werden. Die Ergebnisse des Forschungsprojektes werden folglich der Qualitätskontrolle zugutekommen, da der Qualitätsfaktor "Sortenhonig" zukünftig wissenschaftlich fundiert beurteilt und entsprechend kontrolliert werden kann. Die verbesserte Authentifizierung von Sortenhonigen wird dazu beitragen, den Handel vor der Einfuhr qualitativ unzureichender Ware und den damit verbundenen finanziellen Risiken besser zu schützen. Solche Nachweismethoden dienen darüber nicht zuletzt auch der Auslobung und Absatzsicherung von hochwertigem, einheimischem Sortenhonig.

**Publikationen (Auswahl):**

1. FEI-Schlussbericht 2011
2. Oelschlägel, S., Kölling-Speer, I. und Speer, K.: Differenzierung von Sortenhonig: Sekundäre Pflanzenstoffe als vielversprechende Alternative zur Pollenallergie. DLR 108, 407 (2012).
3. Oelschlägel, S., Gruner, M., Wang, P.N., Boettcher, A., Kölling-Speer, I. und Speer, K.: Classification and characterization of munuka honeys based on phenolic compounds and methylglyoxal. J. Agric. Food Chem. 60, 7229-7237 (2012).
4. Oelschlägel, S., Pieper, L., Staufenbiel, R., Gruner, M., Zeppert, L., Pieper, B., Kölling-Speer, I. und Speer, K.: Floral markers of cornflower (*Centaurea cyanus*) honey and its peroxide antibacterial activity for an alternative treatment of digital dermatitis. J. Agric. Food Chem. 60, 11811-20 (2012).
5. Oelschlägel, S., Esche, R. und Speer, K.: Organische Säuren in Honig – Ihre Bedeutung und Analytik. DLR-Spezial, 66-70 (2011).
6. Oelschlägel, S., Aurich, O., Kölling-Speer, I., und Speer, K.: Phenolische Substanzen zur Authentifizierung von Eukalyptushonig. Lebensmittelchem. 65, 119 (2011).
7. Oeschlägel, S. und Speer, K.: Das Aroma im Honig – Honigaroma-Profile zur Charakterisierung von Sortenhonigen. GIT 12, 842 (2011).

**Weiteres Informationsmaterial:**

Institut für Innovationen im Lebensmittel- und Umweltbereich e.V.  
Flughafendamm 9a, 28199 Bremen  
Tel.: +49 421 594770  
Fax: +49 421 594771  
E-Mail: iiluev@web.de

Technische Universität Dresden  
Institut für Lebensmittelchemie  
Professur für Spezielle Lebensmittelchemie und Lebensmittelproduktion  
Bergstr. 66, 01069 Dresden  
Tel.: +49 351 4633-3132  
Fax: +49 351 4633-4138  
E-Mail: Karl.Speer@chemie.tu-dresden.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

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

gefördert durch/via:

