

# Nachweis von Honigverfälschungen

## Möglichkeiten und Grenzen

Klaus Beckmann, Gudrun Beckh und Cord Lüllmann

Honig besitzt als naturbelassenes Lebensmittel einen hohen Stellenwert. Laut europäischem Lebensmittelrecht dürfen Honig keine fremden Stoffe zugesetzt werden. Eine Streckung mit Fremdzuckern ist also nicht zulässig, ebenso wenig wie das Vorhandensein von Futterteigresten aus der Bienenfütterung. Verfälschungen treten jedoch immer wieder auf, daher sind sichere Nachweise unbedingt erforderlich.

Zum Verschneiden werden Sirupe eingesetzt, die ähnlich wie Honig zusammengesetzt sind. Sie besitzen üblicherweise ein nahezu neutrales Aroma und sind daher im Honig organoleptisch erst in sehr hohen Zumischungsgraden zu identifizieren.

Spezifische Prüfverfahren für Verfälschungen beruhen im Allgemeinen zunächst darauf, diese Kohlenhydrate als honigfremd zu klassifizieren und deren Menge zu berechnen oder zumindest abzuschätzen.

### Prüfverfahren

Die analytisch schnellste Möglichkeit, Hinweise auf eine Streckung von Honig zu bekommen, ist die Bestimmung des Zuckerprofils mittels HPLC und RI-Detektion. Dabei werden Mono-, Di- und einige Trisaccharide erfasst und quantifiziert. Honig besteht zum großen Teil aus den Einzelzuckern Glucose und Fructose, wobei der Anteil an Fructose bis auf wenige Honigsorten überwiegt.

Werden zur Honigverfälschung Sirupe eingesetzt, die aus hydrolisierter Stärke hergestellt wurden, so können typische Spaltprodukte im Chromatogramm einen Hinweis auf eine Streckung geben. Beispiele sind die Stärkebausteine Maltose und Maltotriose, die im Blütenhonig na-

türlicherweise nur in sehr geringen Konzentrationen vorhanden sind (Maltose 1–4 %, Maltotriose bis maximal 1 %).

Dies gilt auch für die Saccharose, deren Anteil im Honig normalerweise bis zu ca. 3 % beträgt und für die in der Honigverordnung ein Grenzwert festgelegt ist. Ein Zusatz von Rüben- oder Rohrzucker, die nahezu ausschließlich aus Saccharose bestehen, wäre mittels HPLC einfach nachweisbar [1].

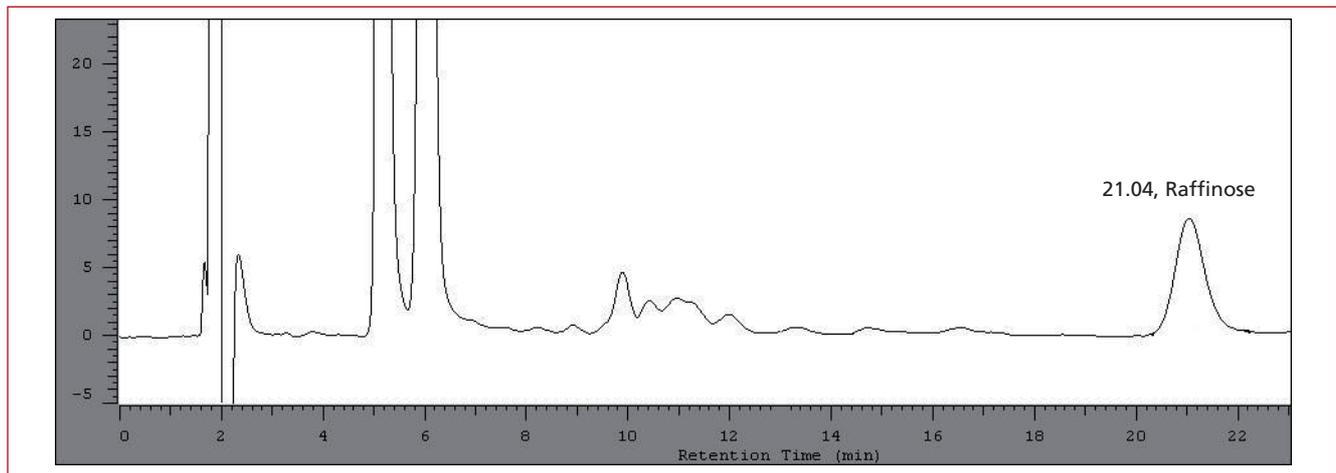
Um dies zu umgehen, können auch Invertzucker-Sirupe eingesetzt werden, bei denen die Saccharose invertiert wurde, das heißt in gleiche Anteile Glucose und Fructose gespalten wurde. Deren Vorhandensein macht sich im Chromatogramm nicht mehr bemerkbar. Zur Herstellung solcher Sirupe wird häufig  $\beta$ -Fructofuranosidase verwendet, ein Enzym aus der Gruppe der Invertasen, welches sein Arbeitsoptimum bei ca. 70 °C hat und relativ lange stabil bleibt. Der Nachweis von Zusätzen derartiger Sirupe in Honig kann indirekt mittels Bestimmung der Aktivität dieses Enzyms vorgenommen werden. Dabei wird die Honigprobe mit dem Substrat Raffinose versetzt, ein Trisaccharid, welches selektiv von der  $\beta$ -Fructofuranosidase in Melibiose (Disaccharid) und Fructose umgesetzt wird. Das Produkt Melibiose kann nach Inkubation unter festgelegten Bedingungen mit-



Dr. Klaus Beckmann

### » Zur Person

Staatl. gepr. Lebensmittelchemiker; seit 2003 bei der Quality Services Internal GmbH tätig «



**Abb. 1**  
HPLC-Chromatogramm  
zur Messung der Aktivität  
von  $\beta$ -Fructofuranosidase:  
unverfälschter Honig

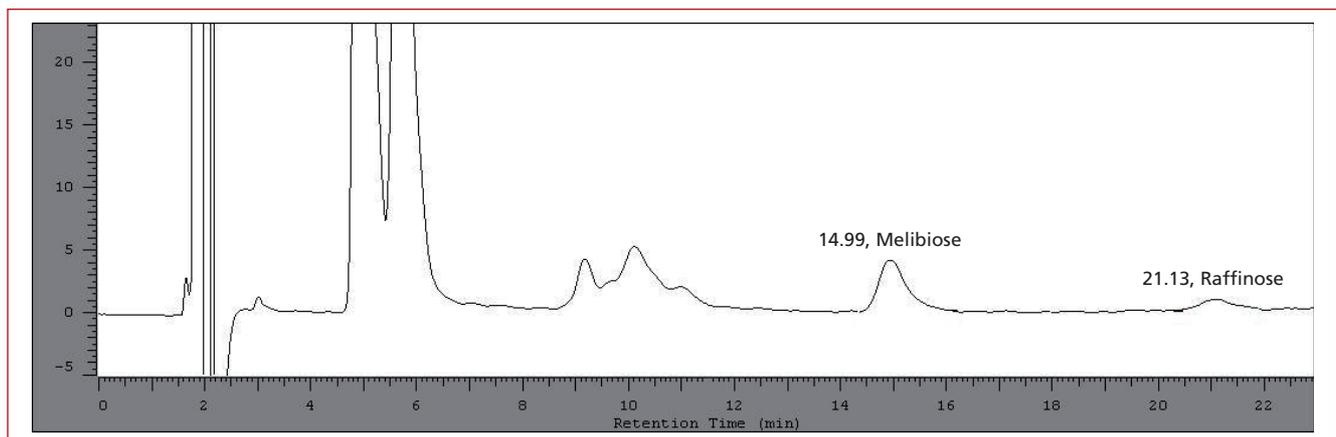
tels HPLC bestimmt werden, wohingegen die Konzentration der Raffinose in gleichem Maße abnimmt. Über die jeweiligen Peakflächen lässt sich somit die Aktivität von  $\beta$ -Fructofuranosidase nachweisen (Abb. 1 und 2). Es muss einschränkend erwähnt werden, dass sich der Anteil an Zuckersirup im Honig nicht berechnen lässt, da dafür bekannt sein müsste, welche Enzymmengen zur Herstellung des Sirups eingesetzt wurden bzw. ob ein Teil der Enzyme vor der Zugabe zum Honig mittels Erhitzung denaturiert wurde [2].

### Zucker ist nicht gleich Zucker

Als Standardmethode zur Detektion von Beimischungen mit Zuckern aus sogenannten C4-Pflanzen ist  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS) als AOAC-Methode etabliert [3,4]. Zu den C4-Pflanzen gehören beispielsweise Mais, dessen Stärke vielfach zu Hochfructose-Sirupen verarbeitet wird, und Zuckerrohr.

Bienen nutzen fast ausschließlich Nektar für die Honigerzeugung, der von C3-Pflanzen bereitgestellt wird. Die photosynthetische Zuckerproduktion läuft bei diesen Pflanzen über einen anderen Weg als bei den C4-Pflanzen, was dazu führt, dass die Nektare der beiden Pflanzentypen unterschiedliche  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnisse besitzen. Diese Verhältnisse werden als  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ausgedrückt und in ‰ angegeben. Um nun Verfälschungen von Honig mit C4-Zuckern nachweisen zu können, werden bei der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -IRMS die Kohlenstoff-Isotopenverhältnisse des Honigs mit denen des ausgefällten Honigproteins verglichen. Bei unverfälschten Honigen sind diese Werte nahezu identisch. Sie verschieben sich jedoch bei einem Zusatz von C4-Zuckern, da diese einen sehr viel weniger negativen  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert besitzen als die nektarliefernden Pflanzen (Abb. 3). Bei einem derartigen Zusatz werden nur die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Honigs, nicht

**Abb. 2**  
HPLC-Chromatogramm zur Messung der Aktivität von  $\beta$ -Fructofuranosidase:  
verfälschter Honig

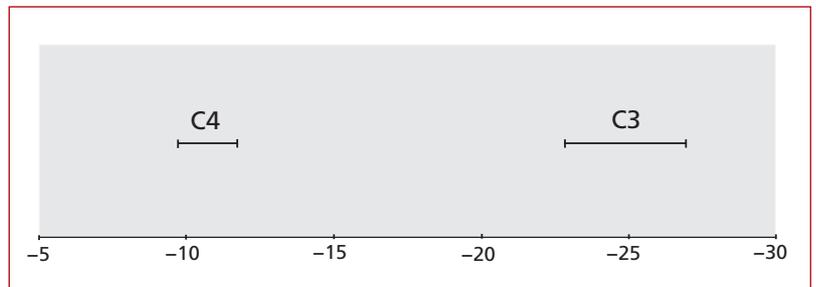


aber die des Proteins beeinflusst, daher lässt sich über dieses Verhältnis eine Beimischung detektieren. Eine Differenz von  $-1\text{‰}$  bedeutet einen Anteil an C4-Zucker von ca. 7 %.

Werden Honigen jedoch Sirupe aus C3-Pflanzen, wie zum Beispiel Rübenzucker oder Reis, zugesetzt, gelingt der Nachweis mittels der AOAC-Methode nur bei hohen Zumischungsgraden, da die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte beider Produkte sehr ähnlich sind. Es können dann positive Differenzen zwischen Protein und Honig auftreten, wobei ein Verhältnis von mehr als  $+1,0\text{‰}$  eine Verfälschung anzeigt. Eine Berechnung des C3-Fremdzuckeranteils ist nicht möglich [5].

Eine Erweiterung dieser Methode stellt die LC-IRMS dar, bei der zunächst die Zuckerfraktionen des Honigs flüssigchromatografisch getrennt werden. Von den Einzelfraktionen werden danach die Kohlenstoff-Isotopenverhältnisse gemessen. Höhere Unterschiede der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte untereinander können Honigverschnitte anzeigen. Das ist z. B. der Fall, wenn einem Sirup aus C3-Pflanzen zusätzlich Fructose aus einer C4-Pflanze beigemischt wird, um das Fructose/Glucose-Verhältnis zu erhöhen. Dies führt dann zu einer erhöhten Differenz der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Fructose und Glucose, die normalerweise gleich sind.

Allerdings haben Untersuchungen an frisch eingetragenen Nektaren, also unreifen Honigen, gezeigt, dass bei den Di-



**Abb. 3**  
Bereiche der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte [‰] von Zuckern aus C3- und C4-Pflanzen

und Trisacchariden bereits natürlicherweise hohe Differenzen zu beobachten sind, diese also nicht zwangsläufig auf eine Verfälschung zurückzuführen sind (Beispiele s. Tab. 1). Es ist darüber hinaus nicht möglich, mittels LC-IRMS Zumischungen von Sirupen zu detektieren, die ausschließlich aus C3-Zuckern zusammengesetzt sind. Diese besitzen bei den einzelnen Zuckerfraktionen ähnliche  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte wie unverfälschte Honige, so dass die Verschiebungen im Bereich der natürlichen Schwankungsbreiten liegen (Tab. 2) [6].

### Das Gesamtbild ist entscheidend

Häufig lässt aber erst das Gesamtbild verschiedener Parameter einen Rückschluss auf eine Verfälschung zu. Beispielsweise ist das Verhältnis von Fructose und Glucose für viele Honigsorten charakteristisch. Es liegt z. B. für Akazienhonig bei mindestens 1,5, hingegen bei Rapshonigen bei maximal 1,05. Eine deutliche Abweichung von diesen Werten gibt bereits

**NEOGEN**  
Europe Ltd

**Unsere Allergen Applikationen:**

Mandel • Ei • Gliadin • Haselnuss  
Milch • Erdnuss • Soja-Mehl • Senf

Sie haben Fragen? Wir sind für Sie da unter 0800 182-7721 oder per E-Mail: [info\\_de@neogeneurope.com](mailto:info_de@neogeneurope.com)

[www.neogeneurope.de](http://www.neogeneurope.de)

**Tab. 1 LC-IRMS:  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Zuckerfraktionen frisch eingetragener Akazienektare aus Ungarn**

|                 | $\delta^{13}\text{C}$ -LC-IRMS |         |              |               | Differenz<br>Monosacch.–Disacch. |
|-----------------|--------------------------------|---------|--------------|---------------|----------------------------------|
|                 | Fructose                       | Glucose | Disaccharide | Trisaccharide |                                  |
| <b>Nektar 1</b> | -25                            | -25,2   | -21,5        | -23,4         | 3,5                              |
| <b>Nektar 2</b> | -24,7                          | -24,9   | -20,4        | -23           | 4,3                              |
| <b>Nektar 3</b> | -24                            | -23,8   | -20          | -22,7         | 4                                |
| <b>Nektar 4</b> | -23,9                          | -23,3   | -18,6        | -21,6         | 5,3                              |

**Tab. 2 LC-IRMS:  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Zuckerfraktionen eines unverfälschten Honigs sowie Reis- bzw. Invertzuckersirup**

| Matrix                            | $\delta^{13}\text{C}$ -LC-IRMS |         |              |               |
|-----------------------------------|--------------------------------|---------|--------------|---------------|
|                                   | Fructose                       | Glucose | Disaccharide | Trisaccharide |
| Blütenhonig, unverfälscht         | -24,1                          | -24,3   | -23,5        | -24,3         |
| Reissirup                         | -26,3                          | -25,8   | -25,2        | 25,3          |
| Invertzuckersirup aus Rübenzucker | -26,1                          | -26,1   | -26,1        | -             |

Die Literaturverweise finden Sie unter [www.dlr-online.de](http://www.dlr-online.de)  
→ DLR Plus  
Passwort: Mojito

einen Hinweis auf ein mögliches Vorhandensein von Fremdzuckern. Auch die Konzentration von Prolin kann zur Beurteilung behilflich sein. Diese Aminosäure wird hauptsächlich von der Biene eingetragen und ein Anteil von weniger als 160 mg/kg deutet auf eine Beimischung hin.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es verschiedene Herangehensweisen gibt, um Beimischungen von Fremdzuckern in Honig aufzudecken. Eine zuverlässige Beurteilung hinsichtlich einer möglichen Verfälschung durch Zuckerzusatz ist allerdings nicht immer auf der Grundlage nur eines Analyseverfahrens erreichbar. Eine Kombination mehrerer unabhängiger Methoden gibt zwar eine relativ hohe Sicherheit, trotzdem lassen sich Sirupe aus Zuckern von C3-Pflanzen immer noch nicht in allen Fällen nachweisen.

### Ausblick

Grundsätzlich bietet die Isotopen-Analytik noch ein großes Potenzial. Zur Bestimmung der Herkunft von Lebensmitteln wird beispielsweise die Messung von Stickstoff( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ )-, Sauerstoff( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ )-, Wasserstoff(D/H)- sowie Schwefel( $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ )-Isotopen vorgeschlagen. Hier bieten sich auch neue Möglichkeiten, diese Analytik zur Differenzierung von honigeigenen und -fremden Zuckern einzusetzen. Bei

der Untersuchung der Wasserstoff-Isotope muss allerdings berücksichtigt werden, dass ein erheblicher Anteil des Wasserstoffs in Zuckern austauschbar ist, was bedeutet, dass Zuckerderivate untersucht werden müssen, bei denen nur der nichtgebundene Wasserstoff erfasst wird. Dazu finden sich in der Literatur bereits Applikationen für Zuckerderivate, z. B. nitrierte Zucker [7] oder aus Fructose hergestelltes Hexamethylentetramin [8].

Darüber hinaus werden Verfahren mittels SNIF-NMR vorgeschlagen, bei der die wässrige Honiglösung fermentiert und anschließend destilliert wird. Am Ethanol werden dann die  $^2\text{H}$ - und  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren gemessen [9].

Weitere Applikationen finden sich auch hinsichtlich der Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie [10] oder der Differential Scanning Calorimetry, bei der das thermische Verhalten (Temperaturübergänge, Enthalpieänderungen) von Honigen und Sirupen bestimmt wird [11].

Grundsätzlich muss der instrumentelle und manuelle Aufwand allerdings immer der wirtschaftlichen Vertretbarkeit in der Routineanalytik gegenübergestellt werden. Aufwändige Verfahren werden möglicherweise hilfreiche Ergebnisse liefern, würden aber aufgrund der hohen Kosten nur bei speziellen Fragestellungen zum Einsatz kommen. ■

### Anschrift der Autoren

**Dr. Klaus Beckmann**  
info@qsi-q3.de

**Gudrun Beckh**  
**Dr. Cord Lüllmann**

QSI  
Quality Services  
International GmbH  
Flughafendamm 9A  
28199 Bremen

## Nachweis von Honigverfälschungen

### Möglichkeiten und Grenzen

Klaus Beckmann, Gudrun Beckh und Cord Lüllmann

#### Literatur

- [1] *Lüllmann C, Horn H*: Das große Honigbuch. 3. Aufl., 134–143, Kosmos-Verlag (2006).
- [2] *Beckmann K, Beckh G, Lüllmann C*: Nachweis von fremder Invertase in Honig. Deut Lebensm-Rundsch **104** (11/12), 55–57 (2008).
- [3] *White JW, Winters K*: Honey protein as internal standard for stable carbon isotope ratio detection of adulteration of honey. J Assoc Off Anal Chem **72** (6), 907–911 (1989).
- [4] AOAC Official Method 998.12: C-4 Plant Sugars in Honey.
- [5] *Beckmann K, Beckh G, Lüllmann C*: Positive deviations of  $\delta^{13}\text{C}$  IRMS-values between honey and protein – effects of adulterations. Postervortrag, 122<sup>nd</sup> AOAC Annual Meeting, Dallas (21.–24.9.2008).
- [6] *Beckmann K, Beckh G, Lüllmann C*:  $^{13}\text{C}$ -Stabilisotopen-Messungen von Zuckerfraktionen des Honigs – Eine neue Möglichkeit zum Verfälschungsnachweis? Deut Lebensm-Rundsch **105** (5), 303–308 (2009).
- [7] *Roßmann A, Lüllmann C, Schmidt H-L*: Massenspektrometrische Kohlenstoff- und Wasserstoff-Isotopen-Verhältnismessung zur Authentizitätsprüfung bei Honigen. Z Lebensm Unters Forsch **195**, 307–311 (1992).
- [8] *Kelly SD, Rhodes C, Lofthouse JH, Anderson D, Burwood CE, Dennis MJ, Brereton P*: Detection of sugar syrups in apple juice by  $\delta^2\text{H}\text{‰}$  and  $\delta^{13}\text{C}\text{‰}$  analysis of hexamethylenetetramine prepared from fructose. J Agric Food Chem **51**, 1801–1806 (2003).
- [9] *Lindner P, Bermann E, Gamarnik B*: Characterization of citrus honey by deuterium NMR. J Agric Food Chem **44**, 139–140 (1996).
- [10] *Brinkmann B, Foth-Bauer A, Lichtenberg-Kraag B*: Untersuchung von Honig mittels FTIR. Lebensmittelchemie **63**, 159–160 (2009).
- [11] *Pilizota V, Tiban NN*: Advances in honey adulteration detection. Food Safety Magazine (8/9), 60–64 (2009).