

Psicose – eine neue Markersubstanz

Nachweis von Honigverfälschungen und Überprüfung der Authentizität

Bernd Kämpf

Es existieren bereits zahlreiche analytische Methoden, welche die Authentizität von Honig prüfen. Der Monozucker Psicose und dessen analytische Nachweisbarkeit mittels HPLC Verfahren und Lichtstreuungsdetektion bringt eine neue, weitere Möglichkeit hervor.

Honig, als naturbelassenes Lebensmittel darf nichts zugesetzt oder entzogen werden, so wie es die aktuelle Fassung der deutschen Honigverordnung [1] vorgibt.

Honig besitzt in der Bevölkerung einen hohen Stellenwert und hat sich, auf den Weltmarkt bezogen, in den letzten Jahren zu einem Produkt mit steigender Nachfrage, aber sinkendem Angebot entwickelt. Honig unterliegt somit einem starken Preisdruck. Gehandelt wird Honig weltweit, wobei vor allem die USA und Europa als Absatzmärkte fungieren, während Südamerika und Asien überwiegend zu den exportierenden Regionen zählen.

Bedingt durch eine zunehmende, weltweite Verknappung mit steigenden Preisen ist auch ein Anstieg an Honigverfälschungen zu verzeichnen [2]. Derartige Verfälschungen können sehr unterschiedlich geartet sein:

- Verfälschungen der botanischen als auch der geographischen Herkunft, meist durch Entzug der honigeigenen Pollen, die einen Hinweis auf den Ursprung geben können. Honige, die aufgrund bestimmter Herkunft (botanisch als auch geographisch) als authentisch gelten sollen, können somit nicht mehr oder nur sehr schwer identifiziert wer-

den [3]. Ein Honig, der keine Pollen mehr enthält, ist als „gefiltert“ zu kennzeichnen; eine Zumischung von filtriertem Honig zu nicht filtriertem Honig ist allerdings kaum nachzuweisen.

- Verfälschungen durch Zumischungen mit verschiedensten Sirupen auf Basis z. B. von Mais, Weizen, Reis oder Zuckerrohr und Zuckerrübe.

Derartige Verfälschungen werden aus Gründen der Gewinnmaximierung angewendet, mit dem Ziel, die Marge künstlich zu erhöhen. Diese Mischungen entsprechen nicht der Honigverordnung und sind zumindest auf dem europäischen Markt nicht verkehrsfähig.

Seit Jahren wird deshalb schon mit verschiedensten Verfahren versucht, derartige Verfälschungen analytisch nachzuweisen.

Aktuelle analytische Möglichkeiten zum Nachweis von Honigverfälschungen

Einige Nachweismethoden beruhen auf der Analytik von Substanzen, die natürlicherweise in Honig auftreten. Leider können diese Verbindungen nur eingeschränkt als Verfälschungsmarker



Bernd Kämpf

» Zur Person

Geschäftsführer der FoodQS GmbH (akkreditiertes auf die Analytik von Bienenprodukten spezialisiertes Labor), Mitglied in mehreren nationalen und internationalen Arbeitsgruppen und mit 20 Jahren Erfahrung im Bereich der Analytik von Bienenprodukten «

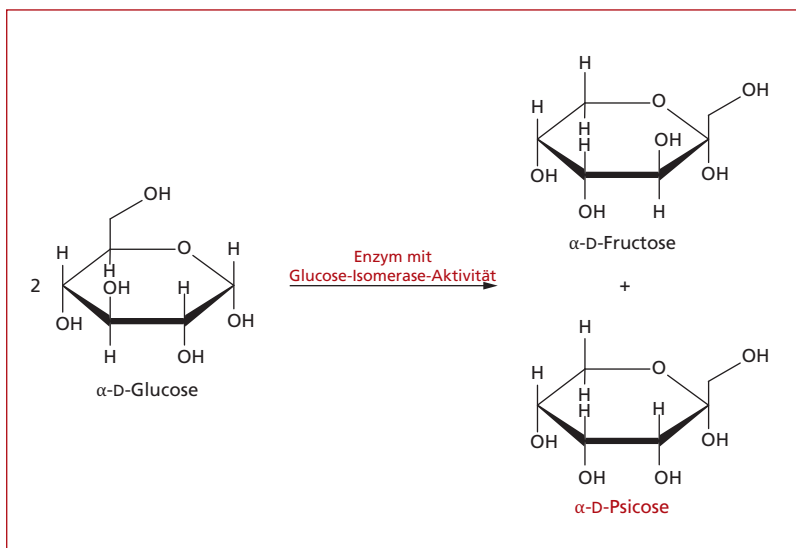


Abb. 1
Bildung von Psicose

herangezogen werden, da die natürliche Schwankungsbreite in Honig von vielen Faktoren, wie Honigsorte, geographischer Herkunft, klimatischen Faktoren oder anderen Einflüssen abhängt und daher sehr breit gestreut ist. Diese Substanzen werden durch eine Verfälschung somit lediglich verdünnt oder angereichert und liegen nicht mehr im „normalen“ authentischen Bereich von Honig. Hier ist z. B. die Aminosäure Prolin [4] oder auch die Zitronensäure zu nennen, die in bestimmten Sirupen enthalten ist.

Ein weiterer Ansatz ist der Einsatz der Isotopenanalytik. Die Isotopenanalytik ist eine auch in der Lebensmittelanalytik bewährte Methode, um Unterschiede sowohl in der geographischen Herkunft als auch, z. B. im Fall Honig, Zusätze von Sirupen aus Zuckerrohr (C4-Zucker) im Bereich von > 7 % nachzuweisen (EA-IRMS-Methode) [5]. Eine mit LC gekoppelte Isotopenmethode (LC-IRMS) erlaubt zusätzlich den Nachweis von Sirupen, basierend auf C3-Zuckern (Reis, Zuckerrübe) [6].

Der Einsatz der NMR-Technologie in der Lebensmittelanalytik zeigt in den letzten Jahren bedeutende Ergebnisse. So können mittlerweile bestimmte geographische wie auch botanische Herkunftsangaben bestätigt werden. Dies ist selbst bei filtrierten Honigen möglich, da eine mikroskopische Pollenanalytik nicht erfor-

derlich ist. Unterschiede im Spektrum einer Probe können im Vergleich mit einer Datenbank, die aus authentischen Proben besteht, auch Verfälschungen anzeigen. Selbst bestimmte Verhältnisse von bekannten als auch unbekannt Substanzen liefern ein untypisches Spektrum und weisen auf eine Verfälschung hin [7].

Ein weiterer Ansatz in der Analytik von Verfälschungen beruht auf dem Nachweis von Markersubstanzen. Markersubstanzen können einerseits natürliche Bestandteile der Edukte von Sirupen sein/darstellen oder andererseits im Herstellungsprozess des Sirups entstehen oder gebildet werden. Darüber hinaus muss ausgeschlossen werden, dass eine Markersubstanz natürlicher Bestandteil von Honig sein kann; nur dann kann ein positiver Nachweis bestimmter Markersubstanzen sicher eine Verfälschung aufzeigen. Vorteilhaft ist außerdem die Tatsache, dass bestimmte Markersubstanzen ausschließlich in bestimmten Sirupen vorkommen und somit auch der Nachweis, um welche Verfälschung es sich genau handelt, erbracht werden kann. Hier sind im Einzelnen honigfremde Enzyme [8], die bei der Sirupherstellung Verwendung finden, zu nennen, als auch Reissirupmarker, der Farbstoff E150 (Zuckerulöl) oder ganz allgemein honigfremde Oligosaccharide, die bei der Invertierung von Sirupen zurückbleiben und in Spuren dann in Honig nachweisbar sein können. Allen Markersubstanzen ist eines gemeinsam: Sie weisen nur auf eine „Unregelmäßigkeit“ hin. Eine Quantifizierung der zugesetzten Sirupmenge ist aufgrund des unbekanntes Gehalts der Markersubstanz im verwendeten Sirup nicht oder nur schwer möglich. Daher können die Markersubstanzen u. U. auch bereits geringe Reste der Winterfütterung nachweisen. Hier stellt sich dann die Frage, inwieweit die „gute immerliche Praxis“ eingehalten wurde.

Es sind jedoch mittlerweile auch Sirupe bekannt, die mit den etablierten Nachweismethoden nicht erfasst werden können. Dies sind Produkte, die keine der bekannten Markersubstanzen enthalten

›› Viele unterschiedliche Methoden werden bereits angewendet, um die Authentizität von Honig zu sichern. ‹‹

und die dem natürlichen Zuckerspektrum des Honigs so ähnlich sind, dass auch eine Untersuchung mit isotopenanalytischen Verfahren oder NMR keinen Hinweis auf eine Verfälschung ergibt. Es ist somit unabdingbar, weitere zusätzliche Nachweismethoden zu entwickeln, um die Möglichkeit von Verfälschungen von Honig weiter einzuschränken bzw. offen zu legen, um letztendlich den guten Ruf von Honig als authentisches Naturprodukt zu bewahren.

High-Fructose-Corn-Syrups (HFCS)

Die meisten Sirupe haben als Grundlage Mais, da Mais weltweit großflächig angebaut wird und sehr große Erntemengen, mit steigender Tendenz, vorliegen [9]. Im Produktionsprozess von Maissirupen wird die Maisstärke zu den Zuckern Saccharose, Fructose und Glucose abgebaut. Zusätzlich kann Saccharose noch zu Fructose und Glucose invertiert werden, sodass sich diese Sirupe letztendlich hauptsächlich aus Fructose, Glucose und einem gewissen Anteil an Saccharose zusammensetzen. Bedingt durch den hohen Anteil an Glucose würde jedoch ein Sirup mit dieser Zusammensetzung sehr schnell kristallisieren und somit weder für den kommerziellen Handel von Interesse sein noch zur Einmischung/Verfälschung von Honig Verwendung finden.

Seit Jahren werden deshalb großtechnisch für die Lebensmittelindustrie Sirupe produziert, wobei Glucose mittels eines Enzyms mit Glucoseisomeraseaktivität zu Fructose umgewandelt wird [10, 11]. Diese Isomerisierung kann unter unterschiedli-

chen Bedingungen stattfinden und liefert unterschiedliche Umsatzmengen mit mehr oder weniger vielen Nebenprodukten. Sirupe mit mehr als 50 Gewichtsprozent Fructose können so produziert werden. Diese Sirupe (Hoch-Fructose-Mais-Sirupe, high fructose corn syrups) haben die Eigenschaft, lange flüssig zu bleiben und eignen sich perfekt für Anwendungen in der Lebensmittelindustrie. Nachdem zusätzlich noch ein honigähnliches Zuckerspektrum vorliegt, werden HFCS auch verwendet, um Honig zu verfälschen. Eine derartige Verfälschung ist bisher nicht oder nur sehr schwer nachweisbar.

Im Produktionsprozess der HFCS wird bei der Isomerisierung von Glucose zu Fructose, neben weiteren Produkten, der Monozucker Psicose (Abb. 1) gebildet [12]. Psicose kommt sehr selten und nur in geringen Mengen in der Natur vor [13]. Sie ist auch kein natürlicher Bestandteil von Honig. Psicose stellt somit eine Marker substanz für Fructosesirupe und HFCS dar. Ein positiver Nachweis in Honig zeigt also eindeutig eine Verfälschung mit einem HFCS an.

Analytik von Psicose

Basierend auf diesen Grundlagen wurde ein Verfahren entwickelt, um Psicose in Honigen zu detektieren (Abb. 2). Der Nachweis kann quantitativ mittels HPLC-ELSD-Detektion (Tab. 1) erfolgen, wobei eine qualitative Analytik für einen Verfälschungsnachweis ausreichend ist. Sofern ein quantitatives Ergebnis vorliegt, ist es auch möglich den Grad der Verfälschung abzuschätzen, wobei dies nicht im-

Kontakt

Bernd Kämpf
Geschäftsführer
FoodQS GmbH
Mühlsteig 15
90579 Langenzenn
Tel.: 09101/70183-11
bernd.kaempf@
foodqs.de
www.foodqs.de

Tab. 1 Geräteparameter

System	HPLC-System mit binärer Pumpe und Lichtstreuendetektor (ELSD)
Säule	Aminophase, 4,6 mm ID x 250 mm
Eluenten	Eluent A: Acetonitril, Eluent B: Wasser, Flow: 1,0 mL/min
Ofen	40 °C
Detektor	flow: 3,5 bar, T = 50 °C
Probenvorbereitung	wässriger, gefilterter Honigextrakt

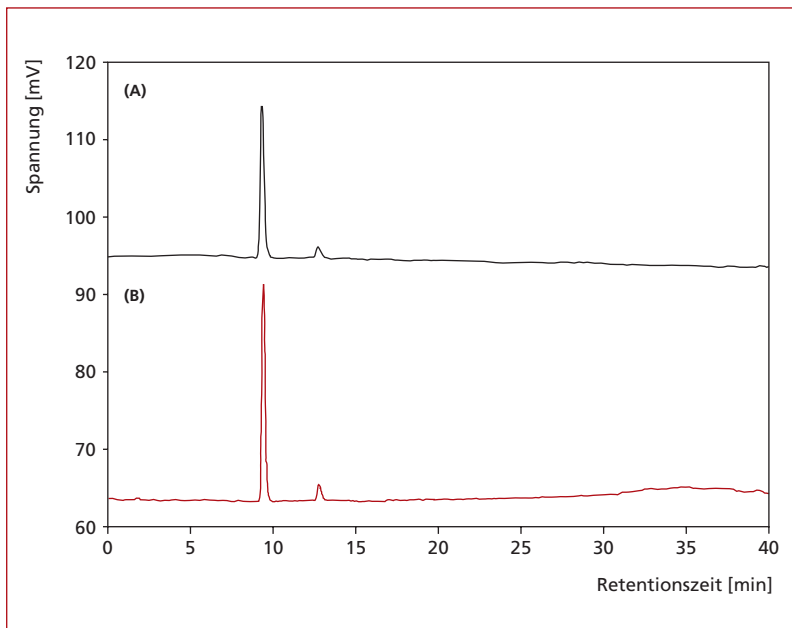


Abb. 2 Beispielchromatogramme von Psicosestandards; Konzentration: 0,05 % (A) und 0,1 % (B)

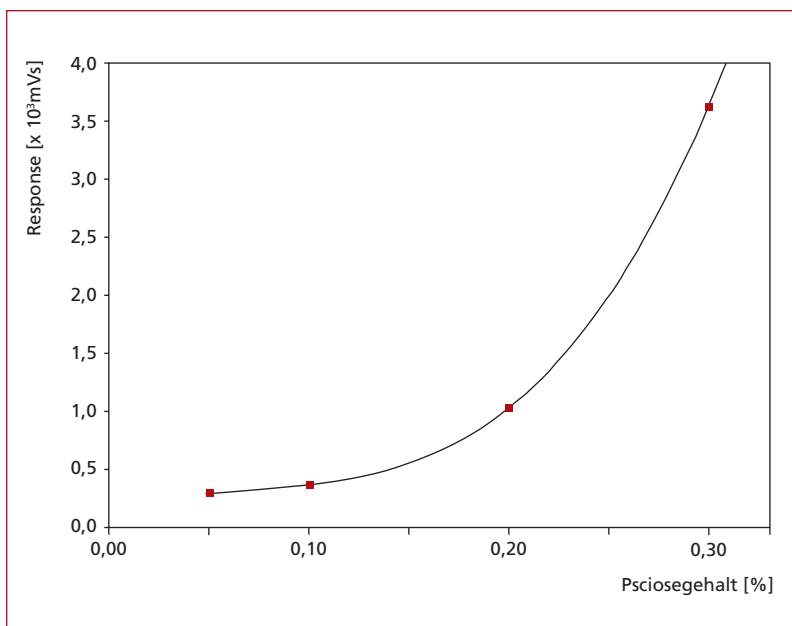


Abb. 3 Kalibriergerade Psicose: Konzentration: 0,05 %, 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %)

mer zielführend ist, da der Psicoseanteil, bedingt durch variierende Produktionsprozesse, im Sirup sehr stark schwanken kann [14].

Für die quantitative Bestimmung liegt eine Kalibriergerade (Abb. 3) mit unterschiedlichen Konzentrationen vor: 0,01 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %. Die Berech-

nung erfolgt über die Integration der Fläche nach der Methode des externen Standards

Auswertung Daten/Statistik

In den letzten Jahren wurden mehr als 5000 Honigproben auf den Gehalt an Psicose (Abb. 4) analysiert. Die Proben waren ausschließlich Rohwarenproben mit bekannter botanischer wie auch geographischer Herkunft. Mischungen von Honigen, so wie sie auch im Lebensmitteleinzelhandel zu finden sind, sind in der folgenden Statistik nicht berücksichtigt. In 6 % aller gemessenen Honigproben (willkürlich ausgewählte Stichprobe) konnte Psicose detektiert werden. Der höchste detektierte Psicosewert lag bei 1,2 %.

Bei positiv detektierten Honigproben konnten überwiegend Psicosewerte bis 0,1 % nachgewiesen werden. Je nach Herstellungsverfahren der HFCS entsteht Psicose als Nebenprodukt bis maximal 1 % [15]. Geht man von einem Sirup mit diesem Wert aus und liegt eine Verfälschung von 10 % eines Honigs mit diesem Sirup vor, wird ein Messwert von 0,1 % Psicose detektiert. Ein Verfälschungsgrad von 10 % ist als plausibel anzusehen und entspricht auch den internen Erfahrungswerten der ca. 400 positiv gemessenen Honigproben.

Fazit

Psicose entsteht im Produktionsprozess von HFCS und kann als Markersubstanz für diese Sirupe fungieren. Mit einer Vielzahl von Analysen konnte gezeigt werden, dass Psicose kein natürlicher Bestandteil von Honig ist. Dies wird noch untermauert, indem Honige mit gleicher botanischer wie auch geographischer Herkunft sowohl Positiv- als auch Negativbefunde an Psicose zeigten. Durch den Nachweis von Psicose mit der beschriebenen Analytik ist es nun möglich, Honig, der mit HFCS Sirupen verfälscht wurde, schnell, sicher und kostengünstig als nicht authentisch zu erkennen. Es liegt somit ein weiteres Verfahren vor, um die Authentizität von Honig zu sichern.

Referenzen

- [1] BMEL: Honigverordnung. BGBl I 92–96 (2004).
- [2] *Kämpf B, Rösch P, Schwarzingler S:* Mit Hightech gegen Honigverfälschungen. Deut Bienenjournal 02/2015; online unter: www.bienenjournal.de/fachberichte/mit-hightech-gegen-honigverfaelschungen; letzter Zugriff am 14.12.2017.
- [3] *Von der Ohe W et al.:* Harmonized methods of melissopalynology. Apidologie 35, 18–25 (2004).
- [4] DIN 10754:2002-08: Untersuchung von Honig – Bestimmung des Prolingehaltes. Beuth Verlag (2002).
- [5] AOAC: Official method 998.12 – C-4 Plant sugars in honey internal standard stable carbon isotope ratio (2013); online unter: files.foodmate.com; letzter Zugriff am 14.12.2017.
- [6] *Elflein L, Raezke K:* Improved detection of honey adulteration by measuring differences between $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ stable carbon isotope ratios of protein and sugar compounds with a combination of elemental analyzer – isotope ratio mass spectrometry and liquid chromatography – isotope ratio mass spectrometry ($\delta^{13}\text{C}$ -EA/LC-IRMS). Apidologie 39 (5), 574–587 (2008).
- [7] *MiBler J et al.:* Honey-Profiling™ von A–Z. Deut Lebensm-Rundsch 113 (6), 264–268 (2017).
- [8] *Beckmann K, Beckh G, Lüllmann C:* Nachweis von fremder Invertase in

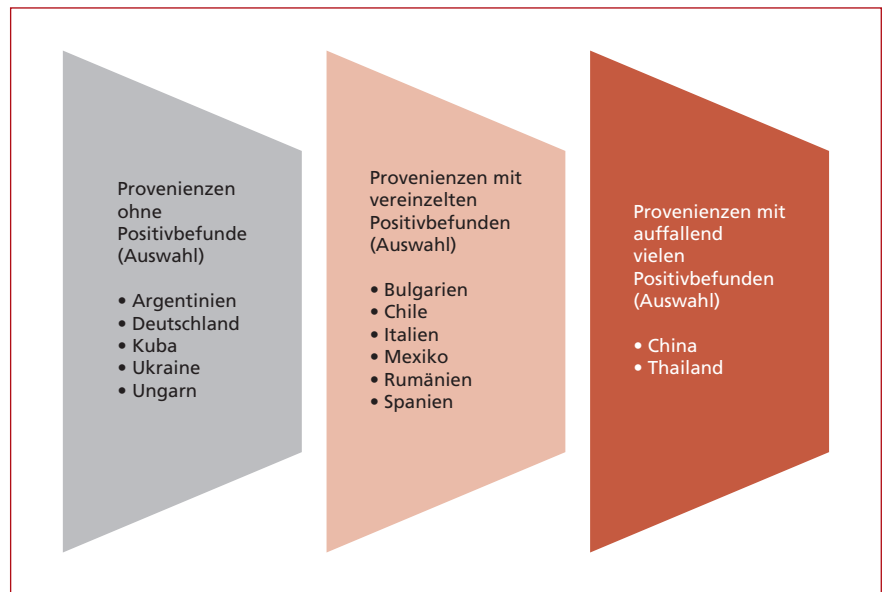


Abb. 4 Übersicht von Honigen aus Provenienzen mit internationaler Bedeutung (Statistik berücksichtigt nur Untersuchungen mit mehr als 200 Proben/Provenienz)

- Honig. Deut Lebensm-Rundsch 104 (11/12), 55–57 (2008).
- [9] Deutsches Maiskomitee e. V.: Weltmaiserzeugnis, Mittel von 2010–2016; online unter: www.maiskomitee.de/Fakten/Statistik/Welt; letzter Zugriff am 10.12.2017.
- [10] *Hamilton BK et al.:* Glucose isomerase: a case study of enzyme-catalyzed process technology. In: *Olsen AC, Cooney CL* (eds.): Immobilized enzymes in food and microbial processes, pp. 94–106, 112, 115–137. Plenum Press, New York (1974).
- [11] *Antrim L, Colilla W, Schnyder BJ:* Glucose isomerase production of high-fructose syrups. Appl Biochem Bioengin 2, 97–155 (1979).
- [12] Patentschrift: DE3323591C2 30.01.1992. Verfahren zum Isomerisieren von Glucose in Fructose.
- [13] Quelle: Chemie.de. Psicose. www.chemie.de/lexikon/Psicose.html, aufgerufen am 10.12.2017.
- [14] Patentschrift: DE3323591C2 30.01.1992. Verfahren zum Isomerisieren von Glucose in Fructose.
- [15] Patentschrift: DE3323591C2 30.01.1992. Verfahren zum Isomerisieren von Glucose in Fructose.

DLR | Deutsche Lebensmittel-Rundschau Freie Redakteurinnen/Redakteure gesucht!

Sie haben neueste Erkenntnisse aus der Lebensmittel-Forschung und möchten diese anderen mitteilen? Sie sind Spezialist(in) der Lebensmittelchemie und möchten Ihr Wissen anderen zugänglich machen? Sie sind auf der Suche nach neuen Herausforderungen und daran interessiert, Fachwissen zu publizieren? Dann melden Sie sich bei uns! Werden Sie Teil unseres Teams und lassen Sie andere an ihrem Know-how teilhaben! Erhöhen Sie Ihren Bekanntheitsgrad und sichern Sie sich Ihren persönlichen Zugang zu dem umfangreichen Wissen eines renommierten Fachverlages!

Haben wir Ihr Interesse geweckt? Dann können Sie uns gerne kontaktieren:

Behr's GmbH
Jörg Grajewski
joerg.grajewski@behrs.de

Behr's GmbH · Averhoffstraße 10 · 22085 Hamburg · www.behrs.de