

Phenol – ein natürlicher Bestandteil neuseeländischen Waldhonigs?

G. Beckh und C. Lüllmann

Institut f. Honiganalytik, Flughafendamm 9A, D-28199 Bremen

1. Einleitung

Die deutsche Honigverordnung vom 13. 12. 1976 besagt gemäß Paragraph 2,³⁾ daß dem Honig weder Stoffe zugesetzt noch honigeigene Bestandteile entzogen werden dürfen.

Infolgedessen kann jede chemische Substanz, die nicht als honigeigene Komponente nachgewiesen wurde, beanstandet werden.

Das Aroma von Sortenhonigen wird durch eine Vielzahl von Aromaten bestimmt, die aus dem Sekundärstoffwechsel der jeweiligen Trachtpflanzen stammen. Unter diesen findet man auch die Stoffklasse der Phenole, die im µg/kg Bereich als stark aromaaktive Substanzen die Sensorik des Honigs mitprägen. So wurden z. B. Eugenol, Hydrochinon, Dimethylphenole, Trimethylphenole im Honig nachgewiesen¹⁾.

Phenol selbst jedoch ist als natürlicher Bestandteil von Honig umstritten.

Da gleichzeitig im Fall des Phenols bekannt ist, daß früher z. B. in Nordamerika oder Australien angewandter, aber mittlerweile nicht mehr erlaubter Gebrauch von Bee Repellents auf phenolischer Grundlage (Karbollappen) bei der Honigernte zu einem nachweisbaren Rückstand von Phenol im Honig führt^{2,3,4)}, wird seit Jahren eine Höchstmenge für Phenol im Honig in Fachkreisen sehr kontrovers diskutiert.

Höchstmengen von Pestiziden oder Bienenarzneimitteln für Honig sind in der Rückstandshöchstmengen-Verordnung vom 1. 9. 1994 bzw. 8. 5. 1995⁵⁾ geregelt. Für Stoffe, die dort nicht explizit aufgeführt sind, gilt eine allg. Höchstmenge von 0,01 ppm.

Daher ist es eine Interpretationsfrage, ob z. B. für Phenol diese Höchstmenge anzuwenden ist, ob generell jede nachzuweisende Spur zu beanstanden ist oder ob Phenol in geringfügigen Spuren sogar natürlicher Bestandteil spezieller Trachten sein kann.

Eine Entstehungsmöglichkeit als natürlicher Bestandteil zeigten Speer und Montag⁶⁾ auf, nämlich als enzymatisches Abbauprodukt von Phenylalanin. Diese aromatische Aminosäure ist Ausgangssubstanz einiger wichtiger aromarelevanter Substanzen im Honig, z. B. Phenyl-essigsäure.

2. Problemstellung bei Neuseeland-Waldhonig

Ausschlaggebend für das Thema „Phenol“ als Rückstand im Honig war eine Veröffentlichung im Magazin Ökotest im Jahr 1988⁷⁾. Daraufhin durchgeführte regelmäßige Messungen von Rohwaren unterschiedlicher Herkunft ergaben u. a., daß auch biozertifizierte Neuseeland-Waldhonige in 92% gemessener Proben Phenolergebnisse bis 0,18 mg/kg (s. Tab. 1) aufwiesen.

Intensiver Austausch mit den zuständigen Behörden und wissenschaftlichen Instituten in Neuseeland ergab, daß der Einsatz von Phenol als Chemikalie seit Mitte der 70er Jahre offiziell als illegal in der Imkerei Neuseelands eingestuft ist. Da zudem alle untersuchten Honige aus bio-

zertifizierten Betrieben stammen, war eine unerlaubte Anwendung eines Bee Repellents als Ursache für die Phenolergebnisse eigentlich auszuschließen. Zudem war aus imkerlicher Sicht auf der Südinsel Neuseelands der Einsatz von Chemikalien als Bee Repellent aus Wettergründen noch nie praktikabel. Verwendet werden entweder Absperrgitter oder, da noch praktikabler und schneller, sog. Bee Blower. Zugekauftes Wachs als Quelle früheren Gebrauchs ist ebenfalls auszuschließen, da alle betroffenen Betriebe nur eigenes Wachs verwendeten.

Tab. 1. Phenol-Gehalt von NZ-Waldhonig, von 12. 5. 92 bis 27. 4. 95

Nr.	Ergebnis in mg/kg	Nr.	Ergebnis in mg/kg
1	0,18	20	0,14
2	0,15	21	0,18
3	0,11	22	0,05
4	0,16	23	0,03
5	0,05	24	0,03
6	0,07	25	0,03
7	0,05	26	<0,02
8	0,16	27	<0,02
9	0,14	28	0,07
10	0,18	29	0,05
11	0,11	30	0,03
12	0,15	31	0,08
13	0,13	32	0,10
14	0,14	33	0,11
15	0,12	34	<0,02
16	0,18	35	0,05
17	0,11	36	0,05
18	0,09	37	0,09
19	0,11		

Um ganz sicher zu gehen, wurden 1994 in Neuseeland bei imkerlichen Betrieben unter behördlicher Aufsicht Honigproben gezogen und sowohl dort als auch in Deutschland untersucht. Diese Proben, die nachgewiesenermaßen ohne Einsatz eines Bee Repellents gewonnen worden waren, zeigten ebenfalls positive Phenolergebnisse (s. Tab. 2). Die Proben wurden in Neuseeland von R. J. Hill Laboratories Ltd. untersucht, die Methode war identisch mit unten angegebener, zudem wurden die Ergebnisse über GC-MS abgesichert.

Tab. 2. Phenolergebnisse in mg/kg Neuseeland-Waldhonig, amtlich gezogene Proben, Ergebnisse vom 13. 4. 94, Doppelbestimmungen

Probe	1. Messung 4/94	2. Messung 6/94
1	0,056 ppm	0,08 ppm
2	0,081 ppm	0,16 ppm
3	0,035 ppm	0,05 ppm
4	0,041 ppm	0,07 ppm

Die Ergebnisse der Wiederholungsmessungen nach 2 Monaten liegen bei allen Proben über den Erstmessungen. Bei Gebrauch eines Bee Repellents ist es nachgewiesenermaßen so, daß Phenol sich verflüchtigt und folglich die Werte mit Abstand der Behandlung niedriger werden²⁾. Auch diese Ergebnisse legten daher den Schluß nahe, daß Phenol in dieser Honigsorte natürlicher Bestandteil ist. Um das noch weiter zu belegen, reiste ein Mitarbeiter des Inst. f. Honiganalytik im Frühjahr 1995 nach Neuseeland und zog selbst direkt aus den Bienenstöcken in den betreffenden Regionen Proben.

Tab. 3. Phenolgehalt Neuseeland Waldhonig 1995, direkt aus den Waben entnommen an verschiedenen Standorten auf der Südinself

Nr.	Ergebnis in mg/kg	
1	0,12	Waldhonig mit Wachs
2	0,11	Waldhonig mit Wachs
3	<0,02	Waldhonig mit Wachs
4	0,10	Waldhonig mit Wachs
5	0,18	Waldhonig
6	0,23	Wachs
7	0,07	Waldhonig
8	0,1	Waldhonig mit Wachs
9	0,09	Wachs
10	0,05	Waldhonig
11	<0,02	Honig wilde Bienen
12	<0,02	Honig wilde Bienen
13	0,13	Honig wilde Bienen
14	0,04	Honig wilde Bienen
15	0,12	Honig wilde Bienen
16	0,06	Honig wilde Bienen
17	0,09	Waldhonig
18	0,09	Waldhonig
19	0,08	Waldhonig, helle Wabe
20	0,04	Waldhonig, helle Wabe
21	0,06	Waldhonig, braune Wabe
22	0,20	Waldhonig, dunkle Wabe
23	0,05	Waldhonig
24	0,04	Waldhonig
25	0,10	Waldhonig, dunkle Wabe
26	0,11	Waldhonig
27	0,07	Waldhonig, dunkle Wabe
28	0,13	Waldhonig
29	0,02	Waldhonig
30	0,02	Waldhonig
31	0,23	Waldhonig
32	0,07	Waldhonig
33	0,15	Wald/Manuka

Diese Proben sind ohne Einsatz eines Bee Repellents gezogen, dennoch ergab die Untersuchung der Proben positive Phenolergebnisse (s. Tab. 3). Desweiteren wurde Wachs untersucht, Honig von hellen Rähmchen und dunklen Rähmchen. Das verwendete Wachs stammt ausschließlich aus dem eigenen biozertifizierten Betrieb, so daß auch hier keine Quelle für Phenolrückstände vorhanden sein kann. Außerdem handelt es sich bei einem Teil der Proben um Honig und Wachs wildlebender Bienen, welches z. T. aus hohlen Baumstämmen oder aus unterirdischen verlassenen Wespennestern aus der Honigtauregion gewonnen wurde. Diese können von keiner imkerlichen Maßnahme beeinflußt worden sein.

Material und Methoden

Die Bestimmung des Phenols erfolgte mittels Wasserdampfdestillation, Extraktion und anschließender Bestimmung mittels Gas-Chromatographie.

Aufbereitung: Wasserdampfdestillation einer wässrigen Honiglösung, anschließende Extraktion mit Dichlormethan.

Messung: GC/FID, Trägergas H₂, Messung auf zwei Säulen: Maße 25 m x 0,25 µm, Phase 1: NB 20 M, Phase 2: NB 1701, Detektor-Temperatur 270 Grad. Innerer Standard Eugenol Nachweisgrenze: 0,02 mg/kg.

Beispielchromatogramme s. Abb. 1 und 2

1) Standard und NZ-Wald, Säule NB 20 M

2) Standard und NZ-Wald, Säule NB 1701.

3. Vegetation Neuseelands

Aufgrund der langen Isolation Neuseelands hat sich dort im Laufe der Erdgeschichte eine einzigartige Vegetation gebildet, die charakterisiert ist durch einen stark ausgeprägten Endemismus⁸⁾.

Zu der ursprünglichen Vegetation zählen z. B. Manuka- und Kanuka-Gestrüppe, Sträucher von *Leptospermum scoparium* und *Kunzea ericoides* (Myrtaceae), deren Inhaltsstoffe von den Maoris wegen ihrer heilenden Wirkung schon immer geschätzt wurden. Ähnlich wie Eucalyptus-Öl, Tea Tree-Öl ist auch das ätherische Öl von Manuka mittlerweile genau untersucht. Zu den wichtigsten Komponenten gehören Terpene, aber auch phenolische Substanzen, wie Leptospermone und Flavesone⁹⁾.

Bekannt wurde durch Forschungen an der Universität Waikato, Hamilton, NZ, auch Manuka-Honig wegen seiner stark antibakteriellen Wirkung, deren genaue Ursache teilweise noch nicht aufgeklärt werden konnte, da außer den bekannten Faktoren bei dieser Honigsorte offensichtlich ganz neue Substanzen wirken. Es ist zudem bekannt, daß nicht alle Manukahonige dieselbe Wirksamkeit zeigen¹⁰⁾.

Desweiteren wurden von *Wilkins et al.* umfassende gaschromatographische Untersuchungen der Inhaltsstoffe neuseeländischer Honigsorten veröffentlicht, die u. a. auch Phenol aufführen z. B. bei Heidehonig¹¹⁾.

Unter den weiteren charakteristischen Vegetationsformen Neuseelands finden sich reine Südbuchen-Wälder. Diese stellen eintönige, geschlossene Bestände von einer oder mehreren *Nothofagus*-Arten dar. Es kommen vier Arten immergrüner *Nothofagus*-Arten vor. Ausgedehnte Vorkommen dieser Vegetationsform beschränken sich auf die Südinself Neuseelands, auf der Nordinsel finden sich nur vereinzelte Bestände. Aus diesen Südbuchenwäldern stammt der neuseeländische Waldhonig.

4. Entstehung des Honigtaus

Sog. Honigtau stellt den Rohstoff für Waldhonig dar. Im Gegensatz zu Blütenhonig wird von Bienen nicht Nektar gesammelt, sondern die zuckerhaltigen Ausscheidungen pflanzensaugender Insekten.

Die für die Bienenzucht wichtigsten Vertreter der Pflanzensauger gehören zur Insektenordnung der Schnabelkerfe (Rhynchota), die in der Lage sind mit ihren Mundwerkzeugen die Siebröhren der Wirtspflanzen anzustechen.

Die Zusammensetzung des Honigtaus ist abhängig von der Zusammensetzung des Phloemsafte der Pflanze, vom Stoffwechsel des jeweiligen Pflanzensaugers und von Bakterien, die als Endosymbionten der Pflanzensauger essentielle Stoffwechselprodukte wie z. B. Aminosäuren synthetisieren.

In Mitteleuropa leben diese Honigtauerzeuger überwiegend auf den grünen, oberirdischen Pflanzenteilen, wie Blättern oder Nadeln, z. B. Napschildläuse, Lecanien, oder Rindenläuse, Lachniden, auf Tanne oder Fichte. Aus dem mediterranen Raum ist *Marchalina hellenica*, eine Schildlaus, Familie Margarodidae, als wichtiger Honigtauerzeuger auf Kiefernarten bekannt. Diese Art lebt auf der Rinde der Kiefern. Zu derselben Familie gehört der wichtigste Honigtauerzeuger Neuseelands, *Ultracoelostoma assimile*. Die Wirtspflanzen dieses Insekts sind *Nothofagus* (Südbuchen)-Arten, außer der Silberbuche, *Nothofagus solandri* var. *cliffortoides* und v. *solandri*^{12,13}. Das erste Larvenstadium von *Ultracoelostoma assimile* sitzt hier unter der Rinde des Stammes des Wirtsbaumes. Zu erkennen sind die Insekten lediglich an dem langen Analstiel aus Wachs, der mehrere cm aus der Rinde herausragt und an dessen Ende der Honigtau ausgeschieden wird.

Dieser zuckerhaltige Honigtau stellt die Nahrungsgrundlage nicht nur für Insekten dar, sondern auch z. B. für Vögel. Bei letzteren vermutet man sogar, daß der Honigtau hormonähnliche Substanzen enthält, die das Brutverhalten dieser Vögel beeinflusst.

Infolge der starken Honigtau-Ausscheidungen unter günstigen klimatischen und topographischen Bedingungen kann eine mehrere Zentimeter dicke schwarze Rußtauschicht den Stamm bedecken. Diese schlägt sich auch deutlich im mikroskopischen Bild des neuseeländischen Waldhonigs nieder. Die Pilzflora dieser Rußtauschicht

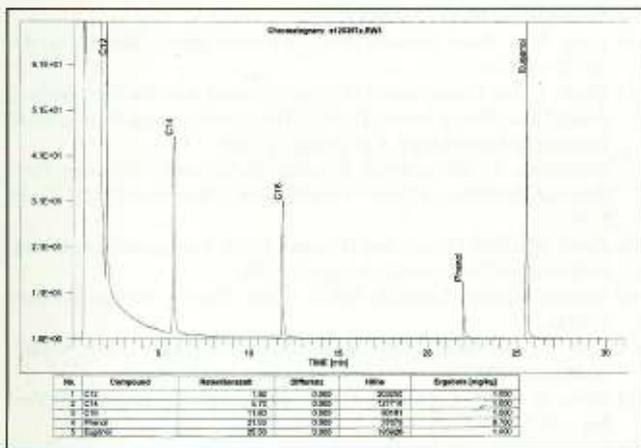


Abb. 1A. Gaschromatogramm: Standard, Säule NB 20M.

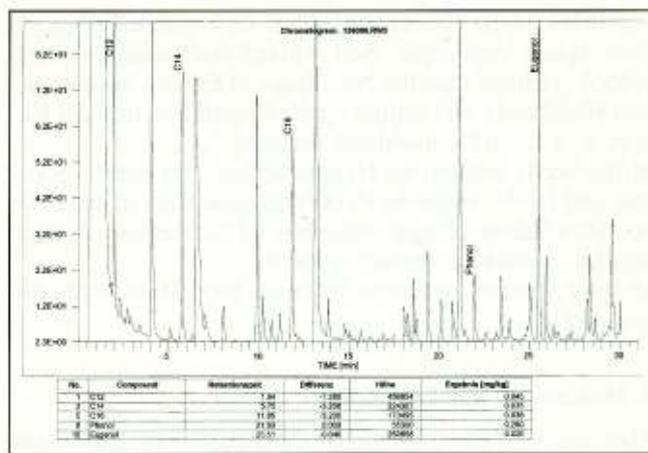


Abb. 1B. Gaschromatogramm: NZ-Wald, Säule NB 20M.

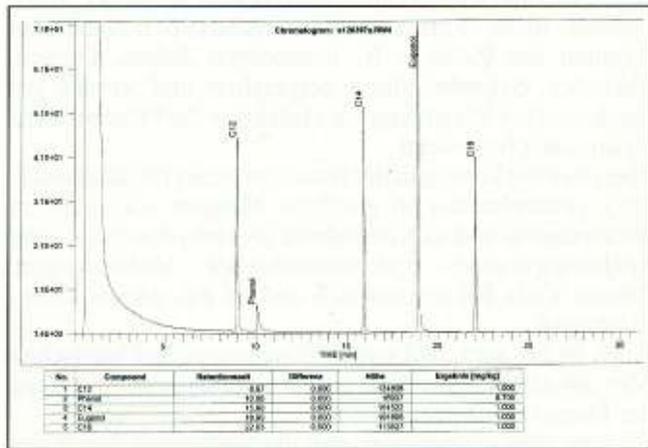


Abb. 2A. Gaschromatogramm: Standard, Säule NB 1701.

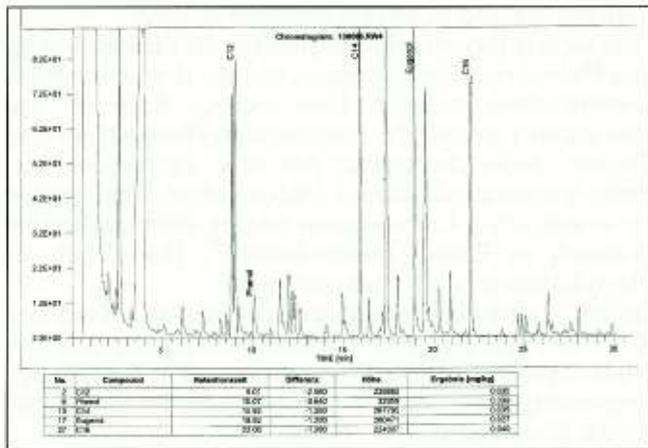


Abb. 2B. Gaschromatogramm: NZ-Wald, Säule NB 1701.

wurde auf ca. 10 Hauptarten verschiedener Ascomyceten¹³ bestimmt.

5. Imkerei Neuseelands

Traditionell wurde der schon seit Anfang des Jahrhunderts bekannte Honigtauhonig von den Imkern in Neuseeland nicht als Speisehonig angesehen, da praktisch Exkremente

von Insekten die Grundlage bilden. Er wurde lediglich als Futterhonig verwendet. Seit Anfang der siebziger Jahre jedoch erkannte man die Nachfrage in Europa nach dunklem Waldhonig und seither ist die Produktion und der Export, u. a. nach Deutschland steigend¹⁴⁾.

Mittlerweile stehen zur Haupttrachtzeit im späten Sommer und Herbst mehrere 10 000 Bienenvölker in den Südbuchenwäldern. Haupterntegebiet ist die Region nördlich von Mt. Somers, unterhalb 1000 m.

Im Jahr werden zwischen 200 und 300 t Honigtauhonig geerntet.

5. Diskussion der Ergebnisse

Phenolische Verbindungen gehören zu den am häufigsten vorkommenden, sekundären Inhaltsstoffen von Pflanzen. Ihr biologischer Nutzen liegt in ihrer hohen potentiellen Toxizität gegenüber vielen Organismen. In freier Form liegen sie nur selten vor, aber als phenolische Säuren, Glycoside und Biopolymere sind sie weit verbreitet. Meist werden diese Substanzen in metabolisch inaktiven Räumen der Zelle, z. B. besonderen Zellen, Drüsen, Vakuolen, Sekretbehältern gespeichert und werden bei mechanischer Verletzung oder Infektion der Pflanze durch Hydrolasen freigesetzt.

Phenol selbst kommt in der Natur entweder frei oder esterartig gebunden nur in geringen Mengen vor, z. B. in Kiefernadeln und in Kiefernholz als Dehydrierungs- und Spaltungsprodukt hydroaromatischer Verbindungen. Phenol wirkt bakteriostatisch und ist ein starkes Protoplasmagift.

Auch ist bekannt, daß viele Pflanzenarten auf biotischen oder abiotischen Streß mit einem allgemeinem Ansteigen der Phenolgehalte reagieren.

Es wäre daher vorstellbar, daß die Südbuchen durch den massiven Befall mit den Pflanzensauger *Ultracoelostoma* ebenfalls mit einem Ansteigen bestimmter phenolischer Verbindungen reagieren, die auf bisher noch ungeklärtem Stoffwechselweg zu Phenol abgebaut werden.

Eine weitere theoretische Möglichkeit für die Entstehung von Phenol sind Verbindungen, die aus dem Aminosäurestoffwechsel stammen. Eine wichtige Rolle für das Honigaroma spielen die Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin, deren chemischer Ab- bzw. Umbau im sog. Phenylpropanmetabolismus (Shikimisäure-Weg) primär zu aromatischen Carbonsäuren und im weiteren Verlauf eventuell zu Phenol führen könnte⁵⁾. Der Gehalt an Phenylalanin ist stark trachtabhängig.

Bislang konnte noch nicht untersucht werden, auf welcher Stufe das Phenol entsteht, ob in der Wirtspflanze d. h. den *Nothofagus*-Arten, beim Pflanzensauger d. h. dem Honigtauererzeuger, bei deren Symbionten oder im Stoffwechsel der Biene selbst.

Die bislang veröffentlichten Ergebnissen für Phenol als Rückstand lagen im Durchschnitt wesentlich höher als der von uns in Neuseeland-Waldhonig gefundene Durchschnittswert, so z. B. bei 0,71 ppm mit min. 0,05 und max. 5,88 ppm¹⁹⁾ oder bei durchschnittlich 4,3 ppm im Bereich von 0,2 bis 12 ppm⁴⁾.

Aus den vorliegenden Ergebnissen schließen wir jedoch, daß Phenol in Spuren bis 0,2 mg/kg als natürlicher Bestandteil neuseeländischen Waldhonigs zu sehen ist.

Inwieweit das bei Waldhonigen anderer Herkunft ebenfalls gegeben sein könnte, bleibt zu untersuchen.

Zusammenfassung

In Honig sind viele verschiedene phenolische Substanzen, die entweder für das typische Honigaroma oder das trachtspezifische Aroma verantwortlich sind, nachgewiesen worden, wogegen Phenol selbst als Rückstand für unerlaubten Einsatz eines Bee Repellents betrachtet wird.

Neuseeländischer biozertifizierter Honigtauhonig, erzeugt von *Ultracoelostoma assimile* auf *Nothofagus*-Arten, zeigt regelmäßig Spuren von Phenol bis 0,2 ppm. Probenahmen vor Ort ohne Bee Repellent und Untersuchungen von Honig wild lebender Bienen aus den Südbuchenwäldern der Südinself Neuseelands belegten diese Tatsache. Daher kann Phenol in geringen Mengen (<0,2 ppm) als natürlicher Bestandteil dieses Honigtauhonigs betrachtet werden.

Entstehungsmöglichkeiten im Zusammenhang mit der speziellen Vegetation und dem speziellen Honigtauerzeuger Neuseelands werden diskutiert.

Summary

Many different phenolic substances are known as characteristic components of honey responsible for the honeyspecific or sourcespecific flavour and taste. Phenol itself is generally considered as residue of a Bee Repellent. Therefore maximum limits for Phenol in honey are discussed controversially between honeyexperts and the trade. In New Zealand Honeydew honeys produced by the beech scale insect *Ultracoelostoma assimile* on *Nothofagus* spec. can be found traces of Phenol up to 0.2 ppm even in biocertificated ones. Sampling of honeydew honey directly in New Zealand as well as analysing honeydew honey from bees wild living in the same region could prove this fact. So Phenol in small amounts (<0.2 ppm) should be considered as a natural component of this special honeytype. Different possibilities of the origin of Phenol are discussed.

Literatur

- 1) Steeg, E. und A. Montag: Minorbestandteile des Honigs mit Aromarelevanz. II. Dtsch. Lebensm. Rdsch. **84**, 147–150 (1988).
- 2) Daharu, P. A. and P. Sporns: Phenol Residue Levels in Honey. J. Apic. Res. **23**, 110–113 (1984).
- 3) Daharu, P. A. and P. Sporns: Residue Levels and Sensory Evaluation of the Bee Repellent, Phenol, Found in Honey. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. **18**, 63 (1985).
- 4) Wilshire, W. B.: Phenol Residue in Honey. Australian Bee J. **74**, 3–15 (1993).
- 5) Bundesgesetzblatt I, 2299 (1994) und 927 (1995).
- 6) Speer, K. und A. Montag: Abbauprodukte des Phenylalanins als Aromakomponenten im Honig. Dtsch. Lebensm. Rdsch. **83**, 103–107 (1987).
- 7) „Nektar in Nöten“ Ökotec Nov. 1988.
- 8) Blum, A.: Am anderen Ende der Welt, die Pflanzenwelt Neuseelands. Deutsche Apoth. Ztg. **135**, 21–31 (1995).
- 9) Wilkins, A. L.: GC/MS Analysis of Manex and Kanex Oil Samples. Chemistry Department, University of Waikato, Hamilton, NZ.
- 10) Molan, P.: The antibacterial activity of honey. Bee World **73**, 5–28; 59–76 (1992).
- 11) Seng To Tan, A. Wilkins et al.: Extractives from New Zealand Unifloral Honeys. Part 1: J. Agric. Food Chem. **36**, 453–460 (1988). Part 2: J. Agric. Food Chem. **37**, 1217–1221 (1989). Part 3: J. Agric. Food Chem. **38**, 1833–1838 (1990).
- 12) Cook, V. A.: New Zealand Honeydew from Beech. Bee World **62**, 20–22 (1981).
- 13) Smith, J.: The Production of Honeydew Honey from the New Zealand South Island Beech Forest. Diplom-Thesis of the Royal New Zealand Institute of Horticulture, Christchurch 1980.
- 14) Matheson, A.: Beekeeping: Leading Agricultural Change in New Zealand, Bee World **72**, 60–73 (1991). Part 2: Bee World **72**, 117–129 (1991).
- 15) Hahn, H.: Zum Gehalt und Herkunft freier Aminosäuren in Honig. Doktorarbeit, Universität Stuttgart (1970).
- 16) Römpf: Chemie Lexikon, Bd 4, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1991).
- 17) Lipp, J.: Der Honig, Hdb. d. Bienenkunde. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart (1994).
- 18) Horn, H. und C. Lüllmann: Das große Honigbuch. Ehrenwirth Verlag (1992).
- 19) Takeba-K et al.: Determination of phenol in honey by liquid chromatography with amperometric detection. J. A. O. A. C.: **73**, 602–604 (1990).