

Vorkommen von Pyrrolizidinalkaloiden  
in regional erzeugten ostholsteinischen Honigen  
und Risikobewertung

von Matthias Zimmermann

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der  
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

Vorkommen von Pyrrolizidinalkaloiden  
in regional erzeugten ostholsteinischen Honigen  
und Risikobewertung

von Matthias Zimmermann  
aus Friedrichshafen  
München 2018



Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:  
Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Manfred Gareis  
Mitbetreuung durch: Dr. Christoph Gottschalk



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.  
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Manfred Gareis  
Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Christina Hölzel

Tag der Promotion: 27.07.2018



## Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril
B.	<i>Borago</i>
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BMDL <sub>10</sub>	Benchmark dose lower confidence limit 10 %
C.	<i>Crotalaria</i>
CE	Collision energy
CID	Collision-induced dissociation
COT	UK Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment Komitee für Toxizität von Chemikalien in Lebensmitteln, Verbrauchsgütern und Umwelt
CONTAM-Panel	EFSA-Expertengremium zu "Contaminants in the Food Chain"
CYP450 Monooxygenase	Cytochrom P450 Monooxygenase
CXP	Cell exit potential
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DP	Declustering potential
E.	<i>Echium</i>
Ec	Erucifolin
EcN	Erucifolin-N-Oxid
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
Em	Echimidin
EmN	Echimidin-N-Oxid
EP	Entrance potential
ESI	Electro spray ionization
Eu	Europin
EuN	Europin-N-Oxid
FAO	Food and Agriculture Organisation
g	Gramm
GC	Gaschromatografie
GC-MS	Gaschromatografie-Massenspektrometrie
H.	<i>Heliotropium</i>
HCl	Salzsäure
Hn	Heliotrin
HnN	Heliotrin-N-Oxid
HPLC	High performance liquid chromatography, Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Schwefelsäure
HSS	Homospermidin-Synthase
Im	Intermedin
ImN	Intermedin-N-Oxid
IPCS	International Programme on Chemical Safety
Jb	Jacobin
JbN	Jacobin-N-Oxid
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
JKK	Jakobskreuzkraut
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
km	Kilometer
l	Liter
La	Lycopsamin
LaN	Lycopsamin-N-Oxid
Lc	Lasiocarpin
LC	Liquid chromatography, Flüssigkeitschromatografie



LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem-mass spectrometry, Flüssigkeitschromatographie- Tandemmassenspektrometrie
LcN	Lasiocarpin-N-Oxid
LiAlH <sub>4</sub>	Lithiumaluminiumhydrid
LD <sub>50</sub>	Mittlere letale Dosis
LLE	Liquid liquid extraction, Flüssig-Flüssig-Extraktion
LOD	Level of detection
LOQ	Level of quantification
Mc	Monocrotalin
McN	Monocrotalin-N-Oxid
ME	Matrixextrakt
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter
MOE	Margin of exposure
MRM	Multiple reaction monitoring
ms	Millisekunde
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandemmassenspektrometrie
µg	Microgramm
µl	Microliter
n	Anzahl
N <sub>2</sub>	Stickstoff
NCI	National Cancer Institute
ng	Nanogramm
NMR	Nuclear magnetic resonance
NOAEL	No observed adverse effect level
NTP	National Toxicology Program
PA	1,2-Dehydro-Pyrrolizidinalkaloid
PANO	1,2-Dehydro-Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid
PA/PANO-Gehalt	Summe aller quantifizierten PA/ PANO
PCR	Polymerase chain reaction
PVDF	Polyvinylidenfluorid
r <sup>2</sup>	Korrelationskoeffizient
Re	Retrorsin
ReN	Retrorsin-N-Oxid
RIVM	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Niederländisches Institut für Gesundheitswesen und Umwelt
rpm	Rounds per minute, Umdrehungen pro Minute
RNS	Ribonukleinsäure
RSD	Relative Standardabweichung
S.	<i>Senecio</i>
Sc	Senecionin
ScN	Senecionin-N-Oxid
ScX	Strong cation exchange, starker Kationentauscher
SD	Standardabweichung
Sk	Senkirkin
Sp	Seneciphyllin
SPE	Solid-phase extraction, Festphasenextraktion
SpN	Seneciphyllin-N-Oxid
spp.	Species pluralis
Std.	Stunden
t	Tonnen
TDI	Tolerable daily intake
TM	Trockenmasse

---

UPLC	Ultra-performance liquid chromatography
VOD	Veno-occlusive disease
VSD	Virtually safe dose
WFR	Wiederfindungsrate
WHO	World Health Organization



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Pyrrrolizidinalkaloide</b> .....	<b>16</b>
2.1.1	Chemie.....	16
2.1.2	Vorkommen in Pflanzen.....	18
2.1.3	Biosynthese.....	23
2.1.4	Toxikologie und Vergiftungsfälle.....	25
2.1.5	Vorkommen in Lebensmitteln.....	31
2.1.6	Rechtlicher Rahmen und Empfehlungen.....	34
2.1.7	Analysemethoden.....	37
<b>2.2</b>	<b>Honig</b> .....	<b>42</b>
2.2.1	Eigenschaften.....	42
2.2.2	Imkerei.....	46
2.2.3	Wirtschaftliche Bedeutung.....	47
<b>2.3</b>	<b>Risikobewertung</b> .....	<b>48</b>
2.3.1	Grundsätze.....	48
2.3.2	Honig und Pyrrrolizidinalkaloide.....	50
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>54</b>
<b>3.1</b>	<b>Material</b> .....	<b>54</b>
3.1.1	Probenmaterial.....	54
3.1.2	Reagenzien.....	61
3.1.3	Verbrauchsmaterial und Geräte.....	63
<b>3.2</b>	<b>Methoden</b> .....	<b>64</b>
3.2.1	Probenvorbereitung.....	64
3.2.2	Messung.....	66
3.2.3	Quantifizierung.....	68
3.2.4	Methodenvalidierung.....	68
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>70</b>
<b>4.1</b>	<b>Analytik</b> .....	<b>70</b>
<b>4.2</b>	<b>Vorkommen von Pyrrrolizidinalkaloiden in regional erzeugten Imkerhonigen</b> .....	<b>76</b>
4.2.1	Ergebnisse der Sommerernte 2015.....	76
4.2.2	Ergebnisse der Frühjahrsernte 2016.....	84
4.2.3	Ergebnisse der Sommerernte 2016.....	91

---

4.2.4	Vergleich der Ergebnisse .....	99
<b>5</b>	<b>Risikobewertung .....</b>	<b>108</b>
<b>6</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>116</b>
6.1	Methodik .....	116
6.2	Saisonal bedingte Schwankungen .....	120
6.3	Geographisch bedingte Schwankungen .....	122
6.3.1	„Inter“-Standort Unterschiede .....	122
6.3.2	„Intra“-Standort Unterschiede .....	123
6.4	Risikobewertung .....	124
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>128</b>
<b>8</b>	<b>Summary.....</b>	<b>130</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>132</b>
<b>10</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>142</b>
<b>11</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>146</b>
<b>12</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>148</b>
<b>13</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>172</b>

## 1 Einleitung

Pyrrrolizidinalkaloide (PA) sind eine Gruppe sekundärer Pflanzenmetaboliten, die von schätzungsweise 3 % der blühenden Pflanzen zum Schutz vor Fraßfeinden gebildet werden (Smith und Culvenor, 1981). Zurzeit wird von etwa 660 verschiedenen PA und ihren korrespondierenden N-Oxiden (PANO) ausgegangen, die von ca. 6.000 Pflanzenspezies gebildet werden können (Teuscher und Lindequist, 2010; WHO, 2016). Als Hauptquellen der PA/PANO sind maßgeblich drei Familien zu betrachten: die *Asteraceae* (Korbblütler), *Boraginaceae* (Raublattgewächse) und *Fabaceae* (Hülsenfrüchtler) (EFSA, 2011; Hartmann und Witte, 1995).

PA/PANO werden in der Leber zu hochreaktiven Pyrrolestern metabolisiert, die in der Lage sind, mit Nukleinsäuren und Proteinen zu reagieren. Charakteristisch für eine akute Intoxikation durch PA/PANO ist eine venöse Verschlusskrankheit an der Leber (Veno-occlusive disease, VOD), die zu Leberversagen und bis zum Tod führen kann. Neben direkten Auswirkungen an der Leber kann auch eine Schädigung des Lungengewebes mit der Folge einer pulmonal-arteriellen Hypertension auftreten. Zudem besitzen PA/PANO bei chronischer Exposition mutagene und karzinogene Eigenschaften (Steenkamp et al., 2001).

Vergiftungsfälle durch PA/PANO sind bereits seit längerer Zeit bekannt. Neben ihrer Bedeutung als weltweit am weitesten verbreitete Vergiftungsquelle bei Weidevieh (Huxtable, 1980b) ist vor allem auch eine Gefährdung der Gesundheit des Menschen bedenklich. Lebensmittel pflanzlichen und tierischen Ursprungs wie Tee, Kräutertee und Honig sowie Nahrungsergänzungsmittel gelten als Hauptquellen für eine PA/PANO-Aufnahme, wenn die Produkte mit PA/PANO-haltigen Pflanzenteilen oder Pollen/Nektar PA/PANO-haltiger Pflanzen verunreinigt sind (Mulder et al., 2015; Neuman et al., 2015).

In den letzten Jahren hat die Ausbreitung verschiedener PA/PANO-haltiger *Senecio* (*S.*)-Spezies, die als Hauptquellen für PA/PANO gelten, wie Jakobskreuzkraut (*Jacobaea vulgaris*, ehemals *Senecio jacobaea*), Gemeines Kreuzkraut (*S. vulgaris*), Wasserkreuzkraut (*S. aquaticus*) und anderer Spezies in Nord- und Süddeutschland und anderen europäischen Ländern wie den Niederlanden deutlich zugenommen (Mulder et al., 2009; Suttner et al., 2016).

Seit 2008 ist in Europa speziell von Jakobskreuzkraut eine zunehmende Ausbreitung zu beobachten (Wiedenfeld, 2011). In Deutschland ist insbesondere die Region Ostholstein mit vielen Renaturierungsflächen betroffen, was in zunehmendem Maße zu einer Verunsicherung der Verbraucher und der Produzenten betroffener Lebensmittel, wie regional erzeugtem Honig, geführt hat (Krauskopf, 2012).

Ziel dieser Arbeit war es, in Zusammenarbeit mit dem Ostholsteiner Interessenverband „Jakobskreuzkraut - Naturschutz ohne Verlierer“ ein genaues Bild über die PA/PANO-Belastung von ostholsteinischen Imkerhonigen zu erhalten und für das beprobte Gebiet eine detaillierte, auf verschiedene Verbrauchergruppen und Verzehrsszenarien bezogene Risikobewertung durchzuführen. Die Beprobung von insgesamt 436 Honigen der Sommerernten 2015 und 2016 sowie der Frühjahrsernte 2016 erfolgte direkt an den Standorten der Bienenvölker bei mehreren Völkern pro Standort, um Variationen in den Gehalten beurteilen und mögliche Managementmaßnahmen ableiten zu können.

## 2 Literatur

### 2.1 Pyrrolizidinalkaloide

PA/PANO sind eine Gruppe sekundärer Pflanzenmetaboliten, die der Pflanze zum Schutz vor herbivoren Fressfeinden dienen (Boppré, 1986; Hartmann und Toppel, 1987). Sie zählen zu den potentesten biogenen Pflanzengiften weltweit. Derzeit wird von etwa 660 verschiedenen PA/PANO ausgegangen, die von ca. 6.000 Pflanzenspezies gebildet werden können (Teuscher und Lindequist, 2010; WHO, 2016). Aufgrund ihrer toxischen Eigenschaften sind PA/PANO unerwünschte Stoffe in Lebensmitteln und Futtermitteln (Mattocks, 1986). Als Hauptquellen gelten maßgeblich drei Familien: die *Asteraceae* (Korbblütler), *Boraginaceae* (Raubblattgewächse) und *Fabaceae* (Hülsenfrüchtler) (EFSA, 2011; Hartmann und Witte, 1995).

#### 2.1.1 Chemie

Die Gruppe der PA/PANO besitzt gemeinsame Grundstrukturen. Bei allen Vertretern handelt es sich um Ester aus einer Necinbase (1-Hydroxymethylpyrrolizidin) und einer oder zwei aliphatischen Carbonsäuren (Necinsäuren).

Die unter den PA/PANO am häufigsten verbreitete Base ist das Retronecin. Zu dieser Gruppe sind mehr als 300 Vertreter bekannt. Zusätzlich unterscheidet man PA/PANO vom Heliotridin-, Otonecin- und Platynecin-Typ (Abbildung 1). Der Retronecin- und der Heliotridin-Typ sind Diastereomere an Position C-7 (Hartmann und Witte, 1995).



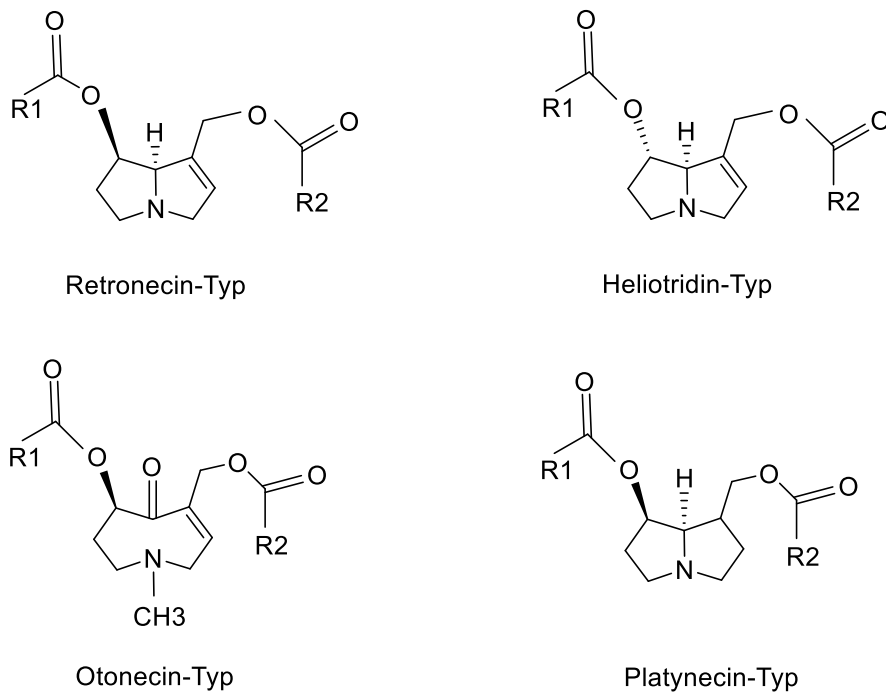


Abbildung 1: Strukturformeln der vier am häufigsten auftretenden Necinbasen für den Pyrrolizidinalkaloid-Aufbau

R1: Rest 1

R2: Rest 2

In Abhängigkeit von der Veresterung können PA/PANO als Monoester, Diester oder zyklische Diester auftreten. Abbildung 2 zeigt anhand dreier Beispiel-Analyten (Lycopsamin, Echimidin und Jacobin-N-Oxid) den unterschiedlichen Grundaufbau. Im Fall der PANO liegt der Stickstoff im Molekül oxidiert vor.

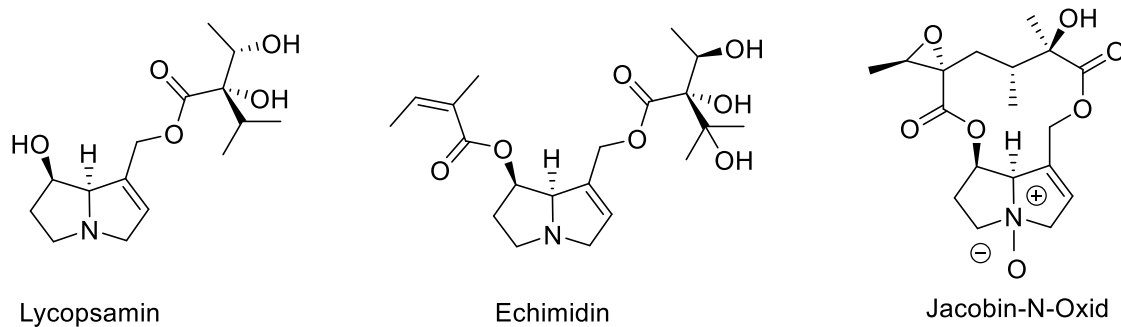


Abbildung 2: Differenzierung von Pyrrolizidinalkaloiden in Monoester, Diester und zyklische Diester:

- Lycopamin (Monoester)
- Echimidin (Diester)
- Jacobin-N-Oxid (zyklischer Diester)

Die Bandbreite unterschiedlicher Kombinationsmöglichkeiten zwischen Necinbasen und -säuren ist für das große Stoffspektrum der PA/PANO verantwortlich (Fu et al., 2004; Mulder et al., 2015).

In der Pflanze liegen PA und PANO gemischt nebeneinander vor. PANO werden nach oraler Aufnahme durch bakterielle Reduktasen im Darm zu ihrer tertiären Base metabolisiert, weshalb man davon ausgeht, dass PANO dieselbe Toxizität wie die korrespondierenden PA besitzen (Wang et al., 2005).

### 2.1.2 Vorkommen in Pflanzen

Unter den zurzeit bekannten PA/PANO-Produzenten bildet jede Spezies charakteristische PA/PANO, die in Tabelle 1 zu finden sind. So gehören beispielsweise Senecionin, Senecivernin, Seneciphyllin oder Jacobin zum Spektrum verschiedener in Deutschland heimischer *Senecio*-Spezies und lassen von ihrer Bezeichnung her Rückschlüsse auf die botanische Herkunft zu (Teuscher und Lindequist, 2010).

Tabelle 1: Typische PA/PANO-haltige Pflanzen und ihre PA (Teuscher und Lindequist, 2010)

<b>Familie</b>	<b>Speziesbezeichnung</b>	<b>Deutsche Bezeichnung</b>	<b>Typische PA</b>
<i>Asteraceae</i> (Korbblütler)	<i>Senecio (S.) vulgaris</i>	Gemeines Kreuzkraut	Senecionin, Senecivernin,
	<i>S. aquaticus</i>	Wasserkreuzkraut	Seneciphyllin, Jacobin,
	<i>Jacobaea (J.) vulgaris</i>	Jakobskreuzkraut	Erucifolin, Retrorsin
	<i>S. inaequidens</i>	Schmalblättriges Kreuzkraut	
	<i>Tussilago (T.) farfara</i>	Huflattich	Senecionin, Senkirkin, Tussilagin
	<i>Petasites (P.) hybridus</i>	Gewöhnlicher Pestwurz	Petasitenin, Senecionin
	<i>Eupatorium (Eu.) cannabinum</i>	Gewöhnlicher Wasserdost	Echimidin, Intermedin, Lycopsamin
<i>Boraginaceae</i> (Raublattgewächse)	<i>Echium (E.) vulgare</i>	Natternkopf	Echimidin, Echinatin, Lycopsamin
	<i>Borago (B.) officinalis</i>	Borretsch	Supinin, Intermedin, Lycopsamin, Echinatin
	<i>Symphytum (S.) officinale</i>	Beinwell	Lycopsamin, Heliosupin, Echimidin, Symphytin
	<i>Heliotropium (H.) europaeum</i>	Gemeine Sonnenwende	Supinin, Lycopsamin, Lasiocarpin, Heliotrin
<i>Fabaceae</i> (Hülsenfrüchtler)	<i>Crotalaria (C.) juncea</i>	Bengalischer Hanf	Monocrotalin, Retusamin,
	<i>C. retusa</i>	Teufelsbohne	Integerrimin
	<i>C. spectabilis</i>		

PA: Pyrrolizidinalkaloid

Die European Food Safety Authority (EFSA) stufte vier PA/PANO-Gruppen als besonders bedeutend hinsichtlich ihres Vorkommens in Futter- und Lebensmitteln, darunter Honig, ein (EFSA, 2011).

- Senecionin-Typ-PA/PANO  
Vorkommen: Pflanzen der Familie der *Asteraceae*, auch in *Crotalaria* spp., u.a. Erucifolin, Jacobin, Jacolin, Senecionin, Seneciphyllin
- Lycopsamin-Typ-PA/PANO  
Vorkommen: Pflanzen der Familie der *Boraginaceae*, u.a. Echimidin, Acetylechimidin, Vulgarin, Echivulgarin, Lycopsamin, Intermedin
- Heliotrin-Typ-PA/PANO  
Vorkommen: *Heliotropium* spp. aus der Familie der *Boraginaceae*, u.a. Europin, Heliotrin, Lasiocarpin
- Monocrotalin-Typ-PA/PANO  
Vorkommen: *Crotalaria* spp. aus der Familie der *Fabaceae*, u.a. Monocrotalin, Retusamin, Fulvin, Trichodesmin

PA/PANO-bildende Pflanzen sind weltweit verbreitet und mit zahlreichen Vertretern auch in Deutschland heimisch. Die in Tabelle 1 genannten Vertreter der Raublattgewächse (*Boraginaceae*) *Echium* (*E.*) *vulgare* (Natternkopf), *Borago* (*B.*) *officinalis* (Borretsch) und *Symphytum officinale* (Beinwell) wachsen typischerweise in Deutschland. *Symphytum officinale* ist im gesamten mitteleuropäischen Raum weit verbreitet und erreicht im Osten Sibiriens. *Heliotropium* (*H.*) *europaeum* (Gemeine Sonnenwende) spielt als Verursacher von Weidevergiftungen in Australien eine Rolle. Mit *H. europaeum* und anderen *Heliotropium*-Arten verunreinigtes Getreide führte dort zum Tod verschiedener Nutztiere. In Mitteleuropa bis Zentralasien spielt *Cynoglossum officinale* (Gewöhnliche Hundszunge) aus der Familie der *Boraginaceae* eine vergleichbare Rolle. Die Gattung *Crotalaria* ist in den Tropen weit verbreitet. *Crotalaria* (*C.*) *juncea* (Bengalischer Hanf) und *C. retusa* (Teufelsbohne) werden in Indien, Pakistan, Brasilien und im südlichen Afrika landwirtschaftlich genutzt (Stegelmeier, 2004).

Aus der Familie der *Asteraceae* sind beispielsweise *Eupatorium cannabinum* (Gewöhnlicher Wasserdost), *Tussilago farfara* (Huflattich) und *Petasites hybridus* (Pestwurz) in Deutschland beheimatet. Wasserdost wächst bevorzugt an Bachläufen, Waldrändern und auf feuchten Wiesen und wird auch heute noch wie Huflattich in Naturheilmitteln angewendet. Die Pflanzengattung *Senecio* aus der Familie der *Asteraceae*, die mit etwa 15.000 Arten die artenreichste Familie aller Blütenpflanzen darstellt, bildet eine wichtige Quelle ungesättigter PA/PANO. Es handelt sich um ein- oder zweijährige Kräuter mit kleinen Blüten, die oft zu mehreren köpfchenförmigen Blütenständen zusammengefasst sind. Von den weltweit existierenden 1.000 bis 1.250 Arten kommen 30 Arten in Mitteleuropa vor (Teuscher und Lindequist, 2010).

Mit Ausnahme von *Senecio (S.) inaequidens*, dem Schmalblättrigen Kreuzkraut, das als Neophyt aus Südafrika nach Deutschland gelangte, gehören alle übrigen in Tabelle 1 aufgeführten Vertreter der *Senecio* spp. zu den in Deutschland ursprünglich beheimateten Pflanzen. Häufig finden sich *S. vulgaris* und *J. vulgaris*, in den Mittelgebirgen *S. ovatus* und auf den kalkhaltigen Böden des Alpengebietes *S. alpinus* (Teuscher und Lindequist, 2010).

Das Jakobskreuzkraut (syn. Jakob-Greis-Kraut) ist eine zweijährige Pflanze. Im ersten Jahr ist nur eine grundständige, krautige Blattrosette ausgebildet. Der charakteristische dunkelrote Stängel und die gelben Blütenstände der bis zu 100 cm hohen Pflanze bilden sich erst im zweiten Jahr. Dann entwickelt sich ein schirmrispiger Hauptblütenstand, der in zahlreiche gelb blühende Teilblütenstände aufgeteilt ist. Die Blütenkörbchen mit einem Durchmesser von 15 bis 25 Millimetern besitzen immer eine Hülle aus 13 Hüllblättern und anliegenden Außenhüllblättern. Die 12 bis 15 Zungenblüten sind in der Regel gut ausgebildet (Abbildung 3).

Jakobskreuzkraut tritt verstärkt an wenig genutzten Standorten wie z.B. Straßenrändern und Bahndämmen in Erscheinung, daneben auch auf extensiv bewirtschaftetem Weide- und Grünland (Cameron, 1935; Haeupler et al., 2000; Mulder et al., 2009; Smith und Culvenor, 1981; Teuscher und Lindequist, 2010).



Abbildung 3: Charakteristische botanische Merkmale von *Jacobaea vulgaris* (Thomé, 1885)

Der Name der Pflanze bezieht sich auf ihren Blühtermin um Jacobi (25. Juli), wobei die Blütezeit schon Anfang Juni beginnt (Haeupler et al., 2000). Die Hauptblütezeit von *J. vulgaris* fällt somit in die sog. „Trachtlücke“, d.h. in einen Zeitraum, in dem den Bienen nach dem Abblühen der großen Frühjahrstrachten (Raps, Obst etc.) immer weniger alternative Futterpflanzen zur Verfügung stehen (Rosenkranz, 2012).

Abbildung 4 zeigt die massive Ausbreitung von Jakobskreuzkraut auf einer nicht mehr bewirtschafteten Renaturierungsfläche in Ostholstein, aufgenommen im August 2015.



Abbildung 4: Jakobskreuzkraut auf einer Ostholsteiner Brachfläche, Sommer 2015  
(Quelle: Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit, LMU München)

### 2.1.3 Biosynthese

Stoffspektrum und Gehalt der PA/PANO in der Pflanze sind in hohem Maße von Umwelt- und Wachstumsbedingungen abhängig und werden darüber hinaus vom Vegetationsstadium der Pflanze mitbestimmt. Der PA/PANO-Gehalt ist in den verschiedenen Pflanzenteilen und je nach Wachstumsphase der Pflanze unterschiedlich. Generell ist er jedoch zu Beginn der Vegetation in den Wurzeln am höchsten (Allgaier und Franz, 2015).

Bei *Senecio* spp. sind vermutlich nur die Wurzeln dazu in der Lage, PA/PANO zu synthetisieren. Diese werden dann in Form der hydrophilen PANO über das Phloem aufwärts in andere Kompartimente der Pflanze transportiert. Die PA/PANO-Bildner der *Boraginaceae* sind auch zur PA/PANO-Synthese in den Blättern fähig (Teuscher und Lindequist, 2010).

Akkumuliert werden die PA/PANO abhängig vom Vegetationsstadium unter anderem in Blüten und Samen. Eingelagerte PA/PANO verbleiben stabil und unterliegen keiner metabolischen Umwandlung (Hartmann et al., 1989; Langel et al., 2011).

Hartmann und Zimmer (1986) untersuchten anhand zweier *Senecio* spp. die PA/PANO-Verteilung innerhalb der Pflanze. *Senecio vernalis* und *Senecio vulgaris* wiesen zum Blütezeitpunkt 70 % bis 90 % der untersuchten PA/PANO (Senkirkin, Seneciphyllin, Senecionin, Seneciovernin, Integerrimin, Retrorsin und deren N-Oxide) in den Blütenständen auf. Davon wiederum befanden sich 90 % allein in den Röhrenblüten. Der Gehalt in diesem Teil der Pflanze war um das 5- bis 10-fache höher als in den Blättern. In der Pflanze lagen 90 % der Alkaloide als PANO vor.

In einem ersten Schritt synthetisiert die Pflanze Vorstufen für den Aufbau von Necinbasen und -säuren, den beiden Grundbausteinen der PA/PANO. Während der primäre Metabolismus die Grundbausteine liefert, werden im sekundären Metabolismus Necinbasen und Necinsäuren miteinander verestert. Die Biosynthese des Kohlenstoffgrundgerüsts der Necinsäuren ist noch nicht ausreichend erforscht. C-14-Tracereperimente bewiesen allerdings die Ableitung aus verzweigten Aminosäuren wie L-Valin, L-Leucin oder L-Isoleucin (Hartmann und Toppel, 1987; Langel et al., 2011).

Die Herkunft der Necinbasen ist mittlerweile im Detail geklärt. Die Vorstufen der Synthese werden hierbei aus der Aminosäure L-Arginin gebildet. Durch eine Decarboxylierung entsteht Agmatin, das wiederum zu N-Carbamoylputrescin umgewandelt wird. Das gebildete Putrescin ist die Vorstufe für Spermidin. Putrescin und Spermidin stellen Substrate für die Bildung des ersten spezifischen Intermediates der PA/PANO-Biosynthese dar, des Homospermidins. Das Schlüsselenzym dieses wesentlichen Syntheseschrittes ist die Homospermidin-Synthase (HSS) (Böttcher et al., 1994; Ober und Hartmann, 1999).

Das Homospermidin wird anschließend in mehreren Schritten komplett in die Necinbase der PA-Grundstruktur eingebaut (Langel et al., 2011). Abbildung 5 zeigt schematisch die wichtigsten Schritte der PA/PANO-Synthese und veranschaulicht die Bedeutung von HSS als Bindeglied zwischen primärem und sekundärem Metabolismus.



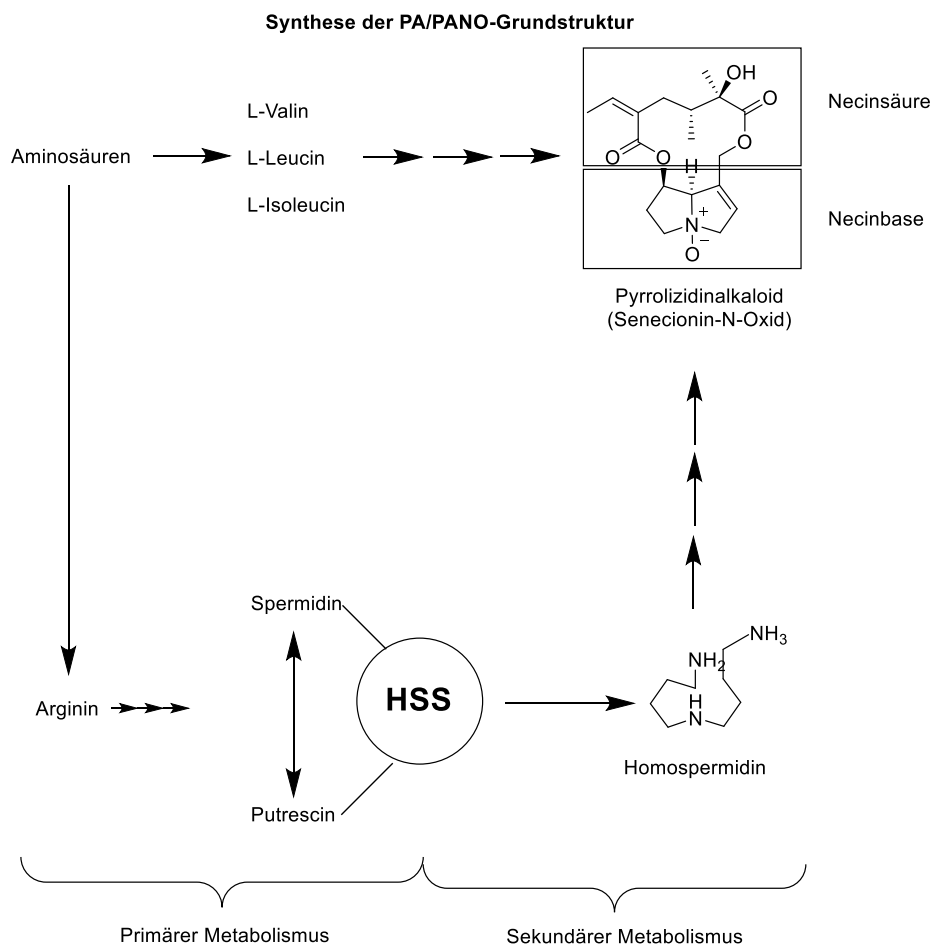


Abbildung 5: Schritte der PA/PANO-Synthese am Beispiel Senecionin-N-Oxid und Homospermidin-Synthase (HSS) als Bindeglied zwischen primärem und sekundärem Metabolismus nach Langel et al. (2011)

#### 2.1.4 Toxikologie und Vergiftungsfälle

Ca. die Hälfte der mehr als 660 bekannten PA/PANO entwickelt nach Aufnahme toxische Wirkung in Mensch und Tier (Mulder et al., 2015). Die Toxizität ist primär bedingt durch die Doppelbindung zwischen C-1 und C-2 (1,2-ungesättigte oder Dehydro-PA/PANO) und mindestens eine veresterte Hydroxy-Gruppe (Teuscher und Lindequist, 2010).

Diese Merkmale machen PA/PANO vom Retronecin-, Heliotridin- und Otonecin-Typ zu hochgiftigen Verbindungen mit lebertoxischer, karzinogener und mutagener Wirkung, während von den Verbindungen des Platynecintyps (1,2 gesättigte Verbindung) keine Gefahr ausgeht (Röder, 1992).

Es ist bekannt, dass von Monoestern über Diester zu zyklischen Diestern ein Anstieg in der Giftigkeit besteht (Teuscher und Lindequist, 2010). Die Risikobewertung von PA/PANO stützt sich derzeit noch auf Studien zur Karzinogenität einiger weniger Vertreter bei chronischer Applikation an Nagetieren (Tabelle 2).

Tabelle 2: Karzinogenitäts-Studien von Pyrrolizidinalkaloiden im Nagetier-Modell

Studie	Versuchstier	PA	Ergebnis	Quelle
Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity	Ratten	Lasiocarpin	Nachweis der Karzinogenität von Lasiocarpin im Ratten-Modell, Bildung hepatozellulärer Tumore und Hämangiosarkome der Leber	NCI (1978)
Toxicity and carcinogenicity of riddelliine in rats and mice	Ratten und Mäuse	Riddelliin	Nachweis der Toxizität und Karzinogenität von Riddelliin bei Dosis-Wirkungsbeziehung im Ratten- und Mäuse-Modell	NTP (2003)
Acute hepatotoxicity and pyrrolic metabolites in rats dosed with pyrrolizidine alkaloids	Ratten	Retrorsin, Senecionin, Monocrotalin, Lasiocarpin, Heliotrin, Indicin, Triacetyl-Indicin, Hydroxy-Senkirkin, Rosmarinin	Zusammenhang zwischen Toxizität einiger PA und der Menge gefundener Pyrrolester nach Verabreichung	Mattocks (1972)

PA: Pyrrolizidinalkaloide

#### 2.1.4.1 Metabolismus

Im Körper unterliegen PA/PANO Entgiftungsreaktionen des Phase-I-Metabolismus. Diese Derivatisierungsreaktionen (Hydrolyse, N-Oxidation und Dehydrogenierung der Ringstruktur zu Pyrrolderivaten) bewirken eine Toxifizierung der 1,2-ungesättigten PA. Während PANO per se als nicht toxisch zu betrachten sind, gelten die freien Basen der PA als Prätoxine, die durch mischfunktionelle Oxygenasen der Leber (Cytochrom P450 Monooxygenasen) aktiviert werden (Giftungsreaktion) (Wang et al., 2005).

Die Toxifizierung 1,2-ungesättigter Heliotridin- und Retronecin-Typ PA erfolgt im Zuge des Phase-I-Metabolismus durch Enzyme des Typs CYP 2A4, CYP 2B und CYP 2C. Nach Hydroxylierung der Necinbase führt eine spontane Dehydratisierung zur Entstehung der stark cytotoxischen und genotoxischen Pyrrolester (Fu et al., 2004). Im Fall der Otonecin-Typ PA kommt es über oxidative N-Demethylierung zur Bioaktivierung zu pyrrolischen Dehydronecinen.

Die entstandenen Pyrrolester sind hochreaktiv und in der Lage, sowohl mit nukleophilen Gruppen der Nukleinsäuren Guanin und Adenin als auch Proteinen Addukte zu bilden (Abbildung 6). Auf dieser Eigenschaft beruht ihre hepatotoxische, genotoxische und karzinogene Wirkung. Es kommt u.a. zu irreversiblen Quervernetzungen zwischen DNS-Strängen oder zu Reaktionen zwischen DNS bzw. RNS mit Proteinen, z.B. Actin (Mattocks, 1986; Wang et al., 2005; Xia et al., 2008; Xia et al., 2016).

Necinsäuren, die bei der Hydrolyse frei werden, sind toxikologisch nicht von Bedeutung, ebenso wie N-Oxid-Metaboliten, die aufgrund guter Wasserlöslichkeit sehr schnell über die Niere ausgeschieden werden. Diese beiden Stoffwechselwege stellen demnach Entgiftungsprozesse dar (Fu et al., 2004; Yang et al., 2001).

Die Ausscheidung erfolgt zum überwiegenden Teil über den Urin und die Faeces. Ein Teil der PA/PANO verbleibt an Gewebestandteile gebunden im Körper (WHO, 1988).

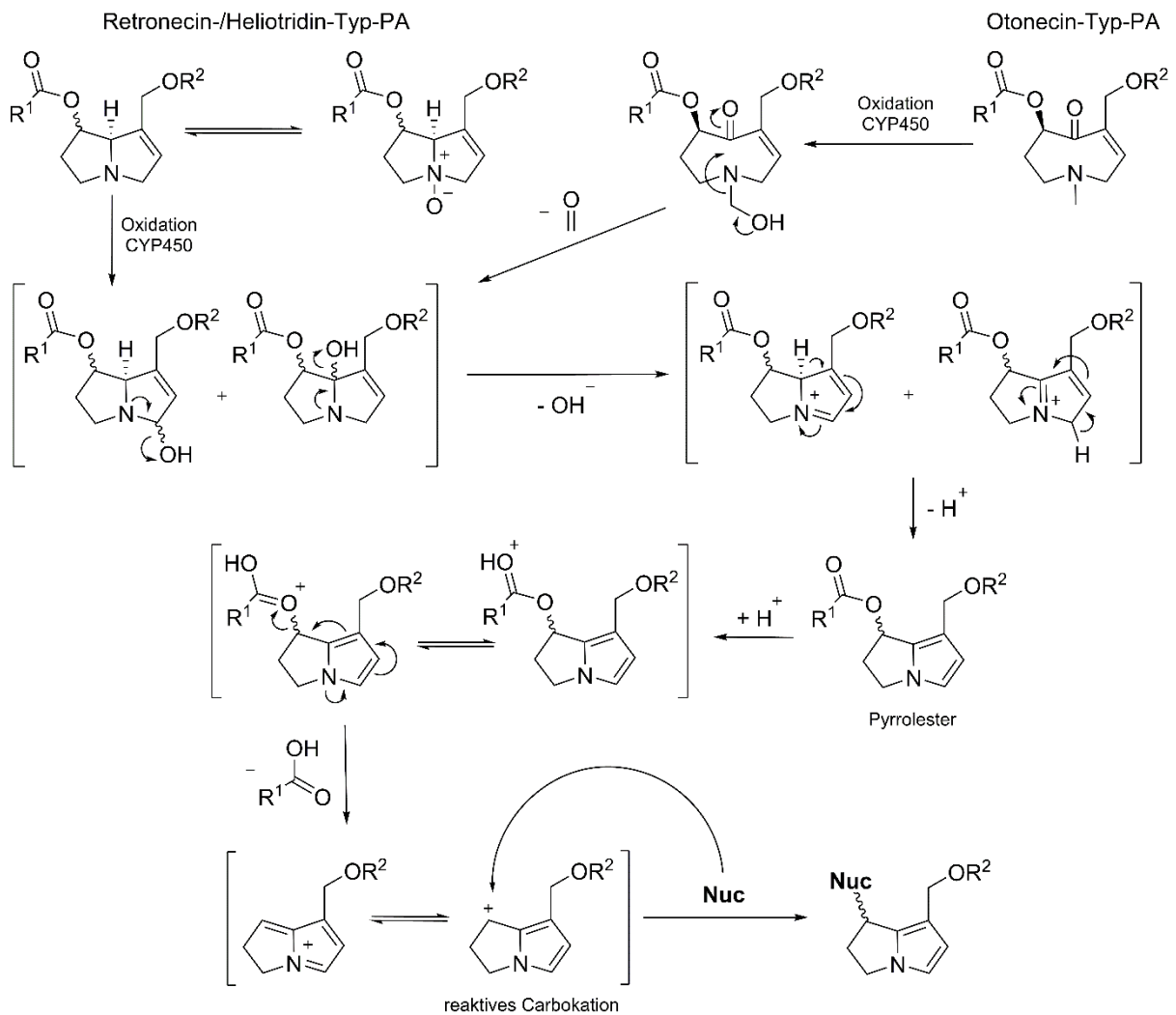


Abbildung 6: Giftungsweg 1,2-ungesättigter PA und Bildung von Addukten nach Fu et al. (2004)

Nuc: nukleophile Gruppe

CYP450: Cytochrom P450 Monooxygenase

#### 2.1.4.2 Akute Toxizität

Die Aufnahme größerer Mengen PA/PANO über einen kurzen Zeitraum kann zu akuten Vergiftungserscheinungen in Form einer venösen Verschlusskrankheit (Veno-occlusive disease, VOD) führen. Die Erkrankung ist durch einen Verschluss der zentralen sublobulären Lebervenen infolge einer Hepatocytomegalie gekennzeichnet, die durch eine Zellkernvergrößerung mit Zunahme des Zellchromatins verursacht wird. Zu den klinischen

Vergiftungssymptomen zählen vor allem Aszites, Körperödeme, damit verbundene Übelkeit und Erbrechen, sowie seltener Gelbsucht und Fieber. Es kommt zur teilweise massiven Lebervergrößerung und -verhärtung und in diesem Zusammenhang zu erheblichen Pleuraergüssen (Mattocks, 1986; Röder, 1984; WHO, 1988; Willmot und Robertson, 1920).

Die durch Hydrolyse aus Pyrrolestern gebildeten pyrrolischen Alkohole sind besser wasserlöslich als die Pyrrolester, sodass sie sich im Körper verteilen und andere Organe wie die Lunge schädigen können. Daraus resultieren arterielle Hypertensien, die in einigen Fällen zu Rechtsherzversagen (Cor pulmonale) führen (Mattocks, 1986; WHO, 1988).

Dokumentierte Folgen des Verzehrs von Beinwell belegten, dass die Aufnahme von Echimidin in Mengen über 15 µg/kg KG/Tag über einen Zeitraum von vier bis sechs Wochen zu akuten bis subakuten Lebererkrankungen führen kann (Ridker et al., 1985). Laut World Health Organization, WHO (1988) ist bei Annahme eines Dosisäquivalents, das über das Verhältnis der LD<sub>50</sub>-Werte (mittlere letale Dosis) im Tiermodell errechnet wurde, ab einer aufgenommenen Menge von 10 µg Heliotrin/kg KG/Tag ebenfalls mit akuten Schäden der Leber zu rechnen.

Für Retrorsin-N-Oxid ergaben Untersuchungen an Ratten (Tabelle 2) eine LD<sub>50</sub> von 48 mg/kg KG (Mattocks, 1972).

In der Literatur sind zwei Vergiftungsfälle beschrieben, aus denen sich Dosisangaben zu akuten PA/PANO-Vergiftungen beim Menschen ableiten lassen (Huxtable, 1980a; Stillman et al., 1977). Es handelte sich in beiden Fällen um Erkrankungen von Kindern mexikanischer Herkunft (Mädchen, sechs Monate und Junge, zwei Monate), die über einen Zeitraum von 14 bzw. 4 Tagen PA/PANO belasteten Kräutertee aus *S. longilobus* zu sich genommen hatten. Das Mädchen entwickelte Aszites und Pleuraergüsse, schließlich eine Leberfibrose und nach sechs Monaten eine Leberzirrhose. Der Junge litt neben Gelbsucht mit starker Hepatomegalie an zentralnervösen Symptomen und verstarb nach sechs Tagen. Aus Analysen der Kräuteraufgüsse und des Verabreichungsschemas ergab sich für das Mädchen eine geschätzte Tagesdosis von 0,8- 1,7 mg/kg KG und für den Jungen eine Tagesdosis von 3 mg/kg KG. Die Tees enthielten ein PA/PANO-Gemisch, dessen Hauptbestandteile Riddelliin und Retrorsin-N-Oxid waren (BfR, 2011).

Das Niederländische Institut für Gesundheitswesen und Umwelt (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, RIVM) leitete 2005 aus der Datenbasis einer 2003 vom U.S. National Toxicology Program (NTP) durchgeführten Studie mit Ratten einen TDI (tolerable daily intake) für akute nicht-neoplastische Effekte ab (Tabelle 2) (NTP, 2003). Den Versuchstieren war über einen Zeitraum von 105 Wochen oral Riddelliin verabreicht worden. Auf den NOAEL-Wert (no-observed-adverse-effect-level) von 0,01 mg/kg KG/Tag für Hepatocytomegalie wurde ein Unsicherheitsfaktor von 100 angewendet, wodurch sich ein TDI für den Menschen von 0,1 µg/kg KG ergibt (RIVM, 2005) (Tabelle 3).

Im Jahr 2008 veröffentlichte das britische Komitee für Toxizität von Chemikalien in Lebensmitteln, Verbrauchsgütern und Umwelt (UK Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment, COT) eine Risikoeinschätzung für PA/PANO in Lebensmitteln. Es stimmt darin in der Anwendung eines NOAEL von 0,01 mg/kg KG/Tag aus der Riddelliin-Studie mit dem RIVM überein (Tabelle 3) (COT, 2008).

#### **2.1.4.3 Chronische Toxizität**

Eine chronische Erkrankung durch PA/PANO kann aus der Aufnahme kleinerer Mengen PA/PANO über einen längeren Zeitraum resultieren (Mattocks, 1986). Das klinische Bild an der Leber entspricht dem einer unspezifischen Leberzirrhose. Zu den Folgen einer chronischen PA/PANO-Vergiftung zählen die bereits zuvor beschriebene VOD, Verlust der metabolischen Zellfunktion, fettige Degeneration, Proliferation der Gallengangsepithelien, Adenome und Karzinome (Fu et al., 2004; Mattocks, 1986; Röder, 1992).

Neben den Effekten an der Leber sind im Falle chronischer Vergiftungen zusätzlich Schäden an Lunge, Gefäßen, seltener auch an Nieren, Pankreas, Magen-Darm-Trakt, Knochenmark und Gehirn zu beobachten.

Die Karzinogenität verschiedener PA/PANO wurde in mehreren Tierversuchen untersucht (Tabelle 2). *In vitro* Versuche mit menschlichen Lebermikrosomen zeigten, dass die kanzerogenen Eigenschaften von Riddelliin auch für den Menschen von Relevanz sind (Xia et al., 2003). Weitere Experimente an Ratten bewiesen auch die Placentagängigkeit ungesättigter PA/PANO, sowie einen Übergang in die Muttermilch (WHO, 1988).

Da PA/PANO im Verdacht stehen, kumulative Wirkung zu haben und daher auch sehr geringe Aufnahmeraten eine Gesundheitsgefährdung bedeuten, empfiehlt die WHO, die Exposition gegenüber PA/PANO so gering wie möglich zu halten (WHO, 1988).

Zum jetzigen Zeitpunkt existieren zwei Langzeitstudien zur Karzinogenität von PA/PANO im Tiermodell (WHO, 2016). Die Studie des National Cancer Institute, NCI (1978) untersuchte die Karzinogenität von Lasiocarpin, die Studie des National Toxicology Program, NTP (2003) die Karzinogenität von Riddelliin (Tabelle 2).

In der Lasiocarpin-Studie wurde Versuchsratten Lasiocarpin in unterschiedlichen Mengen über einen Zeitraum von 104 Wochen verabreicht. Die niedrigste Dosis (BMDL<sub>10</sub>, benchmark dose lower confidence limit 10 %), die bei 10 % der Versuchstiere zur Bildung von Hämangiosarkomen in der Leber führte, lag bei 0,073 mg/kg KG/Tag (NCI, 1978).

Auch die Riddelliin-Studie des NTP von 2003 beschäftigte sich in einem 2-Jahres-Versuch mit den Folgen einer Langzeitaufnahme von PA/PANO bei Ratten und Mäusen. Der am häufigsten beobachtete neoplastische Effekt war, wie im Versuch mit Lasiocarpin, die Bildung von Hämangiosarkomen der Leber. Sie traten nach Verabreichung von Riddelliin (1 mg/kg KG/Tag) bei 86 % der männlichen und 76 % der weiblichen Ratten auf (NTP, 2003).

Für neoplastische PA/PANO-Effekte etablierte das RIVM einen VSD-Wert (virtual safe dose) von 0,00043 µg/kg KG/ Tag, der unter einer Million Menschen bei höchstens einer Person zu Krebs führen soll (RIVM, 2005). Der Wert ergibt sich aus der niedrigsten Dosis Riddelliin (1 mg/kg KG/Tag), die im Versuch des NTP (2003) noch zu Tumorbildung im Tiermodell führte (EFSA, 2011).

### **2.1.5 Vorkommen in Lebensmitteln**

Die Exposition des Verbrauchers kann durch Kontamination pflanzlicher Nahrungsmittel und im Falle einer Verfütterung von PA/PANO-haltigen Futtermitteln durch Carry-Over über Lebensmittel tierischer Herkunft erfolgen.

Bereits 1933 wurden Vergiftungsfälle in Afrika aus den 1920er Jahren beschrieben. Ursache war der Verzehr von Brot, das aus mit *Senecio* spp. verunreinigtem Getreide hergestellt

worden war (Steyn, 1933). PA/PANO-Kontamination von Getreide war auch verantwortlich für schwerwiegende Fälle von akuten und subakuten Vergiftungen in Zentral- und Südasien mit teilweise hohen Sterblichkeitsraten (Edgar et al., 2011). In Afghanistan kam es 1974 zu einer massenhaften Vergiftung innerhalb der Bevölkerung, die 1.600 Todesfälle nach sich zog. Die letzten Fälle wurden 2008 beschrieben (Kakar et al., 2010), wobei 38 Fälle mit massiver Aszites und vier Todesfälle auftraten, die auch hier mit kontaminiertem Getreide in Verbindung gebracht wurden. Verantwortliches PA war in diesem Fall Heliotrin aus *H. popovii*.

In Deutschland wurden 2007 in einer Salatmischung Blätter von *S. vulgaris* gefunden, die Ähnlichkeiten mit Rucola aufweisen. Vor nicht ausschließbaren akuten bis mittelfristigen Leberschäden infolge des Verzehrs wurde gewarnt (BfR, 2007).

Eine Studie aus dem Jahr 2015 zeigte die Verunreinigung medizinischer Tees in Deutschland mit PA/PANO (Schulz et al., 2015). Es wurden 169 verschiedene im Handel befindliche Tees und 109 Tee-Mischungen untersucht, von denen 30 % bzw. 56,9 % PA/PANO in Konzentrationen oberhalb der Bestimmungsgrenze von 10 µg/kg enthielten (Schulz et al., 2015). In elf medizinischen Tees wurden PA/PANO-Gehalte von > 300 µg/kg Trockenmasse nachgewiesen.

In den Jahren 2014 und 2015 wurden insgesamt 1.105 unterschiedliche Lebensmittelproben aus sechs europäischen Ländern (Frankreich, Deutschland, Griechenland, Italien, den Niederlanden und Spanien) gesammelt und auf ihren Gehalt an 28 PA/PANO analysiert. Sämtliche der untersuchten Teeproben ergaben positive Ergebnisse mit einem mittleren Gehalt von 6,2 µg/l. Dabei waren Rooibos Tees mit einem Maximalgehalt von 7,9 µg/l am höchsten belastet (Mulder et al., 2015).

Die Exposition des Verbrauchers kann nicht nur durch pflanzliche Nahrungsmittel, sondern im Falle PA/PANO-haltiger Futtermittel durch Carry-Over auch über Lebensmittel tierischen Ursprungs erfolgen. Aufgrund des bitteren Geschmacks wurde allgemein davon ausgegangen, Weidetiere würden PA/PANO produzierende *Senecio* spp., wie das Jakobskreuzkraut, meiden (Stegelmeier, 2004). Dennoch wurden immer wieder Vergiftungsfälle bei Vieh beobachtet (Kowalczyk et al., 2015; Shimshoni et al., 2015; Tokarnia et al., 2002). Zur Aufnahme kommt es, wenn alternative Futterpflanzen fehlen oder kontaminiertes Heu oder Silage an die Tiere verfüttert wird.



Hoogenboom et al. (2011) untersuchten den PA/PANO-Übertrag in Milch. Milchkühe wurden über drei Wochen mit täglich ansteigenden Mengen Jakobskreuzkraut (50 g-200 g) gefüttert und die Milch untersucht. Ermittelt wurde eine Transferrate von 0,1 - 4 % (in Abhängigkeit von den untersuchten PA/PANO). Diese Carry-Over-Rate in Milch scheint zwar gering zu sein, ist im Hinblick auf die Genotoxizität und kanzerogenen Eigenschaften der PA/PANO aber dennoch von Relevanz. Zudem lieferte die Studie Hinweise auf einen umfangreichen Stoffwechsel der PA/PANO (Hoogenboom et al., 2011).

### 2.1.5.1 Vorkommen in Honig

Ein Carry-Over findet auch bei Honig oder Pollenprodukten statt, wenn Honigbienen PA/PANO-haltige Pflanzen anfliegen und deren Nektar zur Honigerzeugung nutzen (Bodi et al., 2014; Kempf et al., 2010). PA/PANO synthetisierende Pflanzen wie *B. officinalis* und *Echium* spp. werden aktiv angebaut und als Quelle für Sämereien und pflanzliches Öl vermarktet. *E. vulgare* findet teilweise sogar als eigens angesäte Bienenweide Verwendung (Edgar et al., 2002).

Bereits seit Ende der 1970er Jahre ist ein Auftreten von PA/PANO in Honigen beschrieben (Deinzer et al., 1977; Edgar et al., 2002). Dabei wurden bis zu 3,9 mg/kg PA/PANO in monofloralem *J. vulgare* Honig nachgewiesen (Deinzer et al., 1977).

Es existieren in der Literatur keine Hinweise darauf, dass Bienen PA/PANO produzierende Pflanzen bewusst meiden oder der Gehalt an PA/PANO im Nektar sie in irgendeiner Weise abstößt. Ca. 3 % aller Pflanzen weltweit produzieren PA/PANO (Smith und Culvenor, 1981). Der Anteil PA/PANO-haltiger Rohhonige beträgt ebenfalls 3 % bezogen auf die Gesamthonigmenge (Edgar et al., 2002). Durch eine Vermischung in der industriellen Honigproduktion sind Mischhonige generell häufiger belastet als Rohhonige (BfR, 2011).

Den höchsten PA/PANO-Gehalt einer Studie des BfR (2011) erbrachte mit 3.298 µg/kg ein Rohhonig. Insgesamt wurden 1.324 Mischhonige und 13.280 Rohhonige untersucht. Mischhonige waren im Durchschnitt mit 21,0 µg/kg PA/PANO belastet, Rohhonige mit 55,0 µg/kg.

Neumann und Huckauf (2016) untersuchten insgesamt 86 Honigproben aus der Region Ostholstein sowohl von Standorten im Umfeld größerer Jakobskreuzkraut-Bestände als auch von Standorten ohne Jakobskreuzkraut in der näheren Umgebung. In 53,5 % aller Proben wurden neben PA/PANO aus verschiedenen Raublattgewächsen und dem Wasserdost überwiegend (71,4 % der positiven Proben) PA/PANO aus dem Spektrum von *Senecio* spp. nachgewiesen (vgl. Tabelle 1). 15,1 % der Proben wiesen PA/PANO-Gehalte oberhalb der Maximalwerte auf, die vom BfR für unterschiedliche Verzehrsgewohnheiten empfohlen werden (vgl. Kap.2.3.2).

### 2.1.6 Rechtlicher Rahmen und Empfehlungen

Die WHO stufte PA/PANO bereits 1988 als in Lebensmitteln generell unerwünscht ein, da die kumulativen Eigenschaften PA/PANO auch in sehr geringen Mengen zu einem potentiellen Verbraucherrisiko machen (WHO, 1988).

In der Kontaminanten-Verordnung von 2006 werden für Kontaminanten sowie diverse Pflanzentoxine Höchstgehalte in Lebensmitteln aufgeführt (Verordnung (EG) Nr. 1881/2006). Für PA/PANO existieren jedoch bis zum jetzigen Zeitpunkt noch keine bindenden Grenzwerte. Aufgrund des nicht ausreichenden Forschungsstands zu Toxikologie und Langzeitauswirkung beim Menschen gibt es bisher nur wenige Empfehlungen und Richtwerte, die sich aus den genannten Tierstudien ableiten (EFSA, 2011) (vgl. Tabelle 3).

Gegenwärtig existieren in einigen europäischen Ländern Regelungen zu PA/PANO, die jedoch nur Teilbereiche abdecken. So verbietet Belgien die Verwendung von Borretsch (*B. officinalis*), der hierzulande nach wie vor als Küchenkraut, z.B. in Form von „Frankfurter Grüne Soße“ verwendet wird. Lediglich Borretschöl, das mit geeigneten Methoden als frei von PA/PANO bestätigt wurde, darf in Belgien als Lebensmittelzusatzstoff noch angewendet werden (EFSA, 2011).

Österreich gestattet nur in einigen wenigen Fällen PA/PANO-haltige Pflanzen als Bestandteil von Heilmitteln. Diese können nur dann vermarktet werden, wenn sie auf ihren PA/PANO-Gehalt untersucht wurden und das Endprodukt für PA/PANO-frei befunden wurde (EFSA, 2011).

In Deutschland sind Anwendung und Dosierung PA/PANO-haltiger pflanzlicher Arzneimittel geregelt. Die oral aufgenommene Tagesdosis an PA/PANO darf 1,0 µg bei einer ordnungsgemäßen Anwendung der Präparate von unter sechs Wochen nicht überschreiten. Bei längerfristiger Aufnahme ist eine Tagesdosis von unter 0,1 µg einzuhalten. Zum Schutz von Neugeborenen sollten Schwangere und Stillende PA/PANO-haltige Präparate nicht anwenden (Bundesgesundheitsamt, 1992).

Laut Codex Alimentarius muss das Vorkommen giftiger Samen in Getreide verhindert werden, zumindest in Mengen, die ein Risiko für den Menschen darstellen (FAO, 2010). In der Europäischen Richtlinie zu unerwünschten Stoffen in der Tierernährung ist der Besatz von Futtermitteln mit PA/PANO-haltigen Pflanzenteilen/-samen geregelt. Dieser beträgt für *Crotalaria*-Samen 100 mg/kg Trockenmasse und für Getreidesamen anderer PA/PANO-haltiger Pflanzen 3.000 mg/kg (Richtlinie 2002/32/EG).

Honig sollte wegen seiner häufigen Kontamination mit PA/PANO besondere Beachtung geschenkt werden. Für Säuglinge und Kleinkinder besteht ein erhöhtes Risiko, da sie in Relation zu ihrem Körpergewicht oft große Mengen Honig zu sich nehmen. Bisher existieren für Honig in der EU keine Grenzwerte für PA/PANO (EFSA, 2007).

Nach einer Risikoeinschätzung der EFSA (2011) ist eine PA/PANO-Tagesdosis von 0,007 µg/kg KG bzw. 0,42 µg/Tag für einen 60 kg schweren Menschen bei Zufuhr aus allen Quellen nicht zu überschreiten (BfR, 2011).

BfR und EFSA wenden zur Einschätzung von Langzeitwirkungen genotoxischer Substanzen auf den Menschen den Margin of Exposure Approach (MOE) an (vgl. Kap. 2.3.1)(EFSA, 2011). Ein MOE > 10.000 gilt im Hinblick auf Krebsrisiken als wenig bedenklich (EFSA, 2011). Der Wert ergibt sich aus dem BMDL<sub>10</sub>-Wert (0,073 mg/kg KG/Tag) aus der Lasiocarpin-Studie des NCI (1978) (Tabelle 3).

Die EFSA publizierte 2017 eine überarbeitete Version der auf den Lasiocarpin- und Riddelliinstudien des NCI und NTP basierten Risikobewertung von 2011. Als aktueller Referenzpunkt für die Bewertung kanzerogener Wirkungen wurde auf Basis neuer Datenmodellierungen ein BMDL<sub>10</sub>-Wert von 237 µg/kg KG/Tag errechnet. Ausgangspunkt waren Daten der Riddelliin-Studie (NTP, 2003) zur Inzidenz von Leberhämangiosarkomen bei weiblichen Ratten. Die EFSA erneuerte die Risikoeinschätzung für PA/PANO in Honig und

anderen Lebensmitteln durch Anwendung des neuen Referenzwertes und etablierte einen MOE 10.000 von 0,024 µg/kg KG/Tag (EFSA, 2017) (Tabelle 3).

Das gemeinsam von WHO und FAO gebildete Expertenkomitee Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) berief sich 2016 in seiner Grenzwertempfehlung ebenfalls auf Ergebnisse der Riddelliin-Studie, die sie wegen der deutlicheren Dosis-Wirkungsbeziehung als geeigneter ansah (WHO, 2016). Die JECFA nutzt einen, in besagter Studie ermittelten, BMDL<sub>10</sub>-Wert von 182 µg/kg KG im Hinblick auf Krebsrisiken. Bei Anwendung des MOE ergibt sich daraus ein Grenzwert für die tägliche Aufnahme von PA/PANO von 0,018 µg/kg KG (Tabelle 3), der damit um das 2,5-fache höher liegt als der konservativere Wert von 0,007 µg/kg KG/Tag, den das BfR (bis 2017 auch die EFSA) empfiehlt.

Tabelle 3: Richtwerte verschiedener Institutionen für neoplastische und nicht neoplastische Schäden durch PA/PANO-Aufnahme und zugrundeliegende Studien

Institution	Endpunkt	Empfehlung	Basis-Studie	Ausgangswert	Quelle
RIVM (2005) / COT (2008)	akute nicht- neoplastische Schäden	TDI 0,1 µg/kg KG/Tag	Toxicity and carcinogenicity of riddelliine in rats and mice	NOAEL-Wert 0,01 mg/kg KG/Tag (Hepatocytomegalie bei männlichen und weiblichen Ratten)	NTP (2003)
BfR (2011) / EFSA (bis 2017)	chronische neoplastische Schäden	MOE 10.000 0,007 µg/kg KG/Tag	Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity	BMDL <sub>10</sub> -Wert 0,073 mg/kg KG/Tag (Hämangiosarkome der Leber bei männlichen Ratten)	NCI (1978)
JECFA (WHA/FAO) (2016)	chronische neoplastische Schäden	MOE 10.000 0,018 µg/kg KG/Tag	Toxicity and carcinogenicity of riddelliine in rats and mice	BMDL <sub>10</sub> -Wert 182 µg/kg KG/Tag (Hämangiosarkome der Leber bei weiblichen Ratten)	NTP (2003)
EFSA (ab 2017)	chronische neoplastische Schäden	MOE 10.000 0,024 µg/kg KG/Tag	Toxicity and carcinogenicity of riddelliine in rats and mice	BMDL <sub>10</sub> -Wert 237 µg/kg KG/Tag (Hämangiosarkome der Leber bei weiblichen Ratten)	NTP (2003)

PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

MOE: Margin of exposure

TDI: Tolerable daily intake

BMDL<sub>10</sub>: Benchmark-dose lower confidence limit 10 %

NOAEL: No observed adverse effect level

### 2.1.7 Analysemethoden

Die momentan geläufigsten Nachweis- und Quantifizierungsverfahren für PA/PANO basieren auf Gas- und Flüssigkeitschromatografie, wobei zurzeit vor allem die LC-MS/MS Analyse (liquid-chromatography tandem mass spectrometry) als Standard auf dem Gebiet der PA/PANO-Bestimmung gilt (Crews et al., 2010).

### 2.1.7.1 Probenvorbereitung

Die Extraktion der Analyten aus Pflanzenmaterial, Phytopharmaka, Honig oder tierischen Geweben erfolgt üblicherweise durch saure polare Lösungsmittel (Bodi et al., 2014; Crews et al., 2010; Gottschalk et al., 2015) unter Anwendung von Horizontalschüttlern oder Ultraschall. Um verlässliche Analyseergebnisse zu gewährleisten, muss die Methode die effiziente Extraktion sowohl der PA als auch ihrer PANO sicherstellen (EFSA, 2011). Abhängig von der Methodik unterscheiden sich Art und Aufwendigkeit der Vorarbeit voneinander. Diese reicht von einfachen Dilute and Shoot Methoden bis hin zu Derivatisierungsschritten, wie sie im Falle einer GC-MS-Messung (Gaschromatografie-Massenspektrometrie) nötig sind (Cramer et al., 2013; Kempf et al., 2008).

Vor allem der Spurennachweis von PA/PANO in sehr geringen Konzentrationen macht Aufreinigungsschritte zur Aufkonzentration der Analyten und eine Entfernung störender Substanzen nötig. Eine verbreitete Vorgehensweise ist die Aufreinigung über Festphasen-Kartuschen (Festphasenextraktion, SPE). Hierzu wurden bereits verschiedene SPE-Materialien, Ergosil, C-18-Material und starke Kationentauscher erfolgreich angewendet. Für Pflanzenmaterial ist die Anwendung von auf Kieselgur basierenden Kartuschen beschrieben, die auch schon für Honig angewendet wurden (Crews et al., 1997; Witte et al., 1993). Gerade für die PA/PANO-Spurenanalytik hat sich die Aufkonzentration über starke Kationentauscher (SCX-Kartuschen) weitestgehend durchgesetzt (Beales et al., 2004; Betteridge et al., 2005; Kempf et al., 2008).

Eine Alternative zur herkömmlichen Extraktreinigung durch stationäre SPE-Kartuschen bietet die Flüssig-Flüssig-Extraktion (liquid liquid extraction, LLE). Anastassiades et al. (2003) entwickelten eine Methode zur einfachen, kostengünstigen Aufreinigung von Pestizidrückständen auf Obst und Gemüse. Ergänzt werden kann die QuEChERS-Methode (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe) durch die Zugabe von Adsorbentien, die mit einem Teil des Probenextrakts vermischt werden. Die Vorgehensweise eignet sich für komplizierte Probenmaterialien und entfernt effektiv viele polare Matrixbestandteile wie organische Säuren, einige polare Pigmente und Zucker (Anastassiades et al., 2003).

### 2.1.7.2 Massenspektrometrische Verfahren

Für die PA/PANO Analyse können grundsätzlich zwei verschiedene Herangehensweisen, die Target- und die Summen-Methode, angewendet werden. Bei der Target-Methode werden die verschiedenen PA/PANO durch Standardsubstanzen identifiziert und als Einzelanalyten erfasst. Bei der Summen-Methode werden die PA/PANO auf den gemeinsamen Grundkörper reduziert und als Summenparameter bestimmt (BfR, 2011).

Beales et al. (2004) veröffentlichten für den PA/PANO-Nachweis in Honig mittels LC-MS die erste Target-Methode. Nach Aufreinigung mittels SCX-Festphasenextraktion erfolgte in Ermangelung geeigneter PANO-Standards ein Reduktionsschritt zur Überführung aller enthaltenen PANO in ihre korrespondierenden PA. Identifiziert wurden die Zielanalyten anhand von neun zum damaligen Zeitpunkt verfügbaren Standardsubstanzen (Echimidin, Echiumin, Lycopsamin, Intermedin, Heliotrin, Lasiocarpin, Senecionin, Europin, Indicin).

Ein Jahr später benutzten Betteridge et al. (2005) für simultane PA- und PANO-Extraktion und LC-MS-Nachweis in Honig sieben aus pflanzlichen Quellen isolierte Standardsubstanzen (Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Lasiocarpin, Lasiocarpin-N-Oxid, Monocrotalin, Echinatin-N-Oxid, Senecionin).

Auch Boppré et al. (2005) nutzten sieben kommerziell erwerbliche PA/PANO Standards (Heliotrin, Lasiocarpin-N-Oxid, Senecionin, Echimidin, Echiumin, Lycopsamin, Intermedin) für den PA/PANO-Nachweis mittels LC-MS in *E. vulgare* Pollen.

Dübecke et al. (2011) nutzten zehn verschiedene PA/PANO Vergleichsstandards (Senecionin, Senecionin-N-Oxid, Seneciphyllin, Seneciphyllin-N-Oxid, Echimidin, Lycopsamin, Heliotrin, Senkirkin, Monocrotalin, Retrorsin) zur LC-MS-Identifizierung von PA/PANO in Honig und Pollenproben. Die targetorientierten Ergebnisse der Studie sollten Hinweise auf das für die PA/PANO-Kontamination verantwortliche Pflanzenspektrum liefern.

Bodi et al. (2014) verwendeten die Target-Methode für den Nachweis von PA/PANO in Tees und Honigen. Zum damaligen Zeitpunkt wurde mit 17 Standardsubstanzen (Monocrotalin, Monocrotalin-N-Oxid, Senecionin, Senecionin-N-Oxid, Seneciphyllin, Seneciphyllin-N-Oxid, Retrorsin, Retrorsin-N-Oxid, Lasiocarpin, Lasiocarpin-N-Oxid, Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Trichodesmin, Intermedin, Lycopsamin, Echimidin, Senkirkin) gearbeitet, die mittels HPLC-MS/MS identifiziert und quantifiziert wurden.

Neumann und Huckauf (2016) untersuchten den PA/PANO-Gehalt in Sommerhonig im

Zusammenhang mit der Ausbreitung von Jakobskreuzkraut in Schleswig-Holstein und verwendeten 28 PA/PANO-Standards (Echimidin, Echimidin-N-Oxid, Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Intermedin, Lasiocarpin, Lasiocarpin-N-Oxid, Lycopsamin, Lycopsamin-N-Oxid, Monocrotalin, Monocrotalin-N-Oxid, Retrorsin, Retrorsin-N-Oxid, Senecionin, Senecionin-N-Oxid, Seneciphyllin, Seneciphyllin-N-Oxid, Senkirkin, Trichodesmin, Erucifolin, Erucifolin-N-Oxid, Europin, Europin-N-Oxid, Jacobin, Jacobin-N-Oxid, Jaconin, Senecivernin, Senecivernin-N-Oxid).

Zhang et al. (2007) entwickelten eine Summen-Methode zur Erfassung aller PA/PANO mit Retronecin-Grundkörper für Pflanzen als 7-Ethoxy-1-Ethoxymethylretronecin-Derivat, das als gemeinsamer Marker dient (Zhang et al., 2007).

Kempf et al. (2008) optimierten die Summenmethodik für den PA/PANO-Nachweis in Honig mittels GC-MS. Alle in der Probe enthaltenen Retronecin- und Heliotridin-Typ PA/PANO wurden dabei durch zwei aufeinander folgende Reduktionsschritte mit Zink (zur PANO-Reduktion) und Lithiumaluminiumhydrid ( $\text{LiAlH}_4$ ) auf das gemeinsame Necin-Grundgerüst, Retronecin bzw. Heliotridin, reduziert. Die so entstandene Mischung wurde durch Reaktion mit N-Methyl-N-(Trimethylsilyl)Trifluoroacetamid (MSTFA) zu Trimethyl-Silyl-Ether derivatisiert und gemessen. PA/PANO vom Otonecin-Typ wurden jedoch nicht erfasst. Die Methode gibt keine Information über die chemische Struktur der Einzelanalyten (Kempf et al., 2008).

Cramer et al. (2013) erarbeiteten eine auf den von Kempf et al. (2008) erbrachten Ergebnissen basierende Methode zur Bestimmung von PA/PANO-Gehalten mittels LC-MS/MS mit vereinfachtem Aufarbeitungsprozess. Ein wesentlicher Fortschritt besteht gegenüber Kempf et al. (2008) in der simultanen Reduktion von PANO und der PA-Esterfunktionsgruppen mittels  $\text{LiAlH}_4$ , um die gemeinsame Necin-Grundstruktur zu erhalten. Der PA/PANO-Gesamtgehalt einer Probe wird als Summenparameter „Retronecin-Äquivalente“ ausgedrückt (Cramer et al., 2013).

Bei der Analyse verschiedener Probenmaterialien findet vielfach die Gaschromatografie (GC) mit massenspektrometrischer Identifizierung Anwendung (Crews et al., 2010; Kempf et al., 2008). Sie ist nur anwendbar für Substanzen, die ohne Zerstörung zu verdampfen sind. Da dies für PANO nicht zutrifft, müssen diese beispielsweise mittels Zinkstaub zu ihrer korrespondierenden PA-Form reduziert werden (Stelljes et al., 1991). Witte et al. (1993)



gelang es, durch die Ermittlung von Retentionszeiten mittels GC-MS an die 100 verschiedene PA/PANO aus Pflanzen und Insektenmaterial zu identifizieren.

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-Massenspektrometrie (HPLC-MS/MS) ist ein Flüssigkeitschromatografieverfahren, das in Kombination mit Massenspektrometrie die Möglichkeit bietet, Substanzen nicht nur chromatografisch nach Retentionszeiten, sondern auch anhand ihrer spezifischen Masse und ihres Fragmentierungsverhaltens zu identifizieren und mittels Standardsubstanzen zu quantifizieren (Crews et al., 2010).

Mit der HPLC können im Unterschied zur GC nicht flüchtige Substanzen getrennt werden. Im Fall der PA/PANO-Analyse heißt das, dass PA und ihre korrespondierenden N-Oxide gleichzeitig analysiert werden können. Vorhergehende Derivatisierungsschritte, wie sie bei der GC zwingend erforderlich sind, entfallen.

Crews et al. (2010) lieferten eine ausführliche Zusammenfassung der Literatur zur PA/PANO-Analyse mittels LC-MS/MS. Zur quantitativen Bestimmung finden zumeist Triple-Quadrupol-Massenspektrometer mit Elektrospray-(ESI)-Ionisierung Anwendung (Crews et al., 2010). Der erste Quadrupol (Q1) eines Triple-Quadrupol-Massenspektrometers fungiert als Massenfilter zur Selektion der ionisierten Analyten nach ihrer spezifischen Masse. Der zweite Quadrupol (Q2) dient als Kollisionszelle, in die ein neutrales Stoßgas eingeleitet wird, welches die Fragmentierung in spezifische Fragmente (Tochterionen) ermöglicht. Diese Fragmentationen werden im dritten Quadrupol (Q3) selektiert und zum Detektor geleitet. Durch die Erfassung von zwei Fragmentationen kann im MRM-Modus (multiple reaction monitoring) sehr selektiv quantifiziert werden (Lottspeich et al., 1998).

### **2.1.7.3 Alternativer Nachweis mittels ELISA**

Obwohl die massenspektrometrische Detektion in Kombination mit GC oder HPLC in der PA/PANO-Analytik als momentaner Goldstandard gilt, ist diese Methode für eine schnelle Kontrolle vor Ort im Rahmen der Futter- und Lebensmittelüberwachung schwer einsetzbar.

Bober et al. (1989) wiesen mittels Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) Retronecin und Monocrotalin nach und verwendeten zur Herstellung des Antikörpers den gemeinsamen strukturellen Grundbaustein Retronecin vieler PA/PANO. Oplatowska et al. (2014)

entwickelten durch Nutzung gruppenspezifischer Antikörper gegen besonders relevante PA/PANO des Senecionin-, Lycopsamin- und Heliotridin-Typs eine Multiplex-ELISA-Methode für den PA/PANO-Nachweis in Honig und Futtermitteln.

ELISA-Methoden wie von Oplatowska et al. (2014) bieten die Möglichkeit eines schnell durchführbaren Screeningverfahrens für die PA/PANO-Analytik. Allerdings stehen solche Tests bisher noch nicht kommerziell zur Verfügung (EFSA, 2011). Die große Bandbreite unterschiedlicher chemischer Strukturen im Falle der PA/PANO macht die immuno-chemische Detektion als Gesamtheit in einer Probe zu einer analytischen Herausforderung (Oplatowska et al., 2014). Auch ein Reduktionsschritt kann erforderlich sein, wenn anti-PA Antikörper nicht mit den korrespondierenden N-Oxiden reagieren (Kempf, 2009; Lee et al., 2001).

## **2.2 Honig**

### **2.2.1 Eigenschaften**

Honig ist nach seiner chemischen Zusammensetzung eine konzentrierte wässrige Zuckerlösung von dickflüssiger bis fester, teilweise auch kristalliner Konsistenz. Während eines längeren Umlagerungsprozesses reichert die Biene den Honig mit körpereigenen Säuren, Enzymen und Eiweißen an (Liebig, 2011). Die überwiegend in Honig vorkommenden Enzyme sind alpha-Glucosidasen (Invertase, Saccharase), alpha- und beta- Amylasen (Diastase), Glucoseoxidase, Katalase und saure Phosphatase. Bei der Umlagerung des Honigs kommt es zur Invertierung von Saccharose, Isomerisierung von Glucose zu Fructose sowie Bildung höherer Saccharide. Zudem verringert sich während des Prozesses der Wassergehalt, bevor der reife Honig mit etwa 18 % Wasseranteil von den Bienen eingelagert wird (Belitz et al., 2007).

Die Hauptbestandteile von Honig sind neben anderen Kohlenhydraten, den genannten Enzymen, Aminosäuren, organischen Säuren, Mineral- und Aromastoffen im Wesentlichen Fructose (27 % bis 44 %), Glucose (22 % bis 41 %) sowie Wasser (15 % bis 21 %) (Ternes et al., 2005). Neben Fructose und Glucose wurden mehr als 20 Oligosaccharide identifiziert. Die Zusammensetzung des Spektrums wird hierbei wesentlich von der angeflogenen Pflanzenart

bestimmt. (Tabelle 4) zeigt den durchschnittlichen prozentualen Anteil verschiedener Zucker sowie Wasser und anderer Inhaltsstoffe in Honig (Belitz et al., 2007).

Tabelle 4: Prozentualer Anteil verschiedener Honiginhaltsstoffe nach Belitz et al. (2007)

Bestandteil	Mittelwert [%]
Wasser	17,2
Fructose	38,2
Glucose	31,3
Saccharose	2,4
Maltose	7,3
Höhere Zucker	1,5
Stickstoff	0,06
Mineralstoffe	0,2
Sonstiges (Aminosäuren, Vitamine, Aromastoffe etc)	3,1

Die Honigverordnung (HonigV) (2004) enthält Qualitätsanforderungen und Kennzeichnungsbestimmungen für das Lebensmittel Honig (Tabelle 5).

Blütenhonige werden laut HonigV überwiegend aus Blütennektar hergestellt. Dadurch unterscheiden sie sich von Honigtau Honig, der aus den zuckerhaltigen Ausscheidungen verschiedener Insekten gewonnen wird.

Die HonigV teilt Honige in unterschiedliche Kategorien nach geographischer Herkunft, Gewinnungsart, Angebotsform und Anwendungsform (z.B. Backhonig) ein. Außerdem schreibt sie die Kennzeichnung des Ursprungslandes auf der Honigverpackung vor. Bei mehreren Ursprungsländern im Fall von Mischware sind auch die Bezeichnungen „Mischung von Honig aus EU-Ländern“, „Mischung von Honig aus Nicht-EU-Ländern“ und „Mischung von Honig aus EU-Ländern und Nicht-EU-Ländern“ zulässig.

Tabelle 5: Verkehrsbezeichnungen und dazu gehörige Begriffsbestimmungen der in der Honigverordnung (2004) aufgeführten Honigarten

<b>Verkehrsbezeichnung</b>	<b>Begriffsbestimmung</b>
Blütenhonig/Nektarhonig	vollständig oder überwiegend aus dem Nektar von Pflanzen stammender Honig
Honigtauhonig	Honig, der vollständig oder überwiegend aus auf Pflanzenteilen befindlichen Exkreten von an Pflanzen saugenden Insekten (Hemiptera) oder aus Sekreten lebender Pflanzenteile stammt
Wabenhonig/Scheibenhonig	von Bienen in den gedeckelten, brutfreien Zellen der von ihnen frisch gebauten Honigwaben oder in Honigwaben aus feinen, ausschließlich aus Bienenwachs hergestellten gewaffelten Wachsblättern gespeicherter Honig, der in ganzen oder geteilten Waben gehandelt wird
Honig mit Wabenteilen oder Wabenstücke in Honig	Honig, der ein oder mehrere Stücke Wabenhonig enthält
Tropfhonig	durch Austropfen der entdeckelten, brutfreien Waben gewonnener Honig
Schleuderhonig	durch Schleudern der entdeckelten, brutfreien Waben gewonnener Honig
Presshonig	durch Pressen der brutfreien Waben ohne oder mit Erwärmung auf höchstens 45 Grad C gewonnener Honig
Gefilterter Honig	Honig, der gewonnen wird, indem anorganische oder organische Fremdstoffe so entzogen werden, dass Pollen in erheblichem Maße entfernt werden
Backhonig	Honig, der für industrielle Zwecke oder als Zutat für andere Lebensmittel, die anschließend verarbeitet werden, geeignet ist

Nach der Eintrags- bzw. der Erntezeit des Honigs unterscheidet man Frühtracht-Honige (Tracht bis Ende Mai) von Sommertracht-Honigen (Tracht im Juni und Juli). Art und Zusammensetzung der Tracht ändern sich im Jahresverlauf ständig, da das Nektarangebot mit den Blütezeiten der Trachtpflanzen variiert.

Eine Trachtzuordnung zu einer speziellen Blütensorte ist möglich, da Bienen nahezu blütentreu sind, d.h. während der Blütezeit nur eine Blütenart anfliegen und dort Nektar sammeln (Casaula et al., 1985).

Im Frühjahr steht den Bienen ein reichhaltiges Nektarangebot zur Verfügung (Obstblüte, Raps). Im Hochsommer (Juni bis August) ändert sich die Zusammensetzung der Bienenweide. Den Grundstock für die Sommertracht liefern Kultur- und Wiesenpflanzen und die für die Sommerernte wichtige Honigtautracht (Casaula et al., 1985).

Geruch und Geschmack eines Honigs sind in Abhängigkeit von der Tracht unterschiedlich und oftmals typisch für ein bestimmtes Nektarangebot. Die sehr starke Präsenz von Raps als Trachtpflanze im Mai und Juni führt zu einem häufig einheitlichen Charakter der Frühtrachthonige. Besonders milde Aromen finden sich bei Trachten von Raps, Klee und Robinie.

Die Vielfalt unterschiedlicher Aromen ist unter den Sommertrachthonigen größer, da die Bienen nach dem Überangebot von Raps im Frühjahr auf andere Nischen ausweichen müssen. Besonders reine Sortenhonige wie beispielsweise Edelkastanie, Löwenzahn, Linde, verschiedene Minzen und Heidehonige haben einen sehr charakteristischen Geschmack, sind aber selten. Der überwiegende Marktanteil setzt sich aus Honig verschiedener Nektarquellen zusammen. Um Abweichungen im Aroma zu vermeiden, die vom Verbraucher als „fremdartig“ empfunden werden, werden meist Mischhonige hergestellt, um Schwankungen in Aroma und Geschmack auszugleichen (Casaula et al., 1985).

In Abhängigkeit vom gesammelten Nektar kann die Farbe eines Honigs von nahezu weiß bis fast schwarz variieren. Zu den sehr hellen Honigen zählen z.B. Robinien-, Raps- Weißklee- und RotkleeHonige. Lindenblütenhonige sind grünlich gelb, während Kastanienhonige eine rotbraune Färbung aufweisen. Am dunkelsten sind Honigtauhonige. Die Farbe eines Honigs wird zusätzlich durch den Stand seiner Kristallisation mitbestimmt. Kandierete Honige sind meist heller als flüssige. Auch Lagerungsbedingungen können sich auf die Farbe eines Honigs auswirken. Helle Honige dunkeln bei zu hoher Lagerungstemperatur nach (Lipp, 1994).

Die Honigkonsistenz bewegt sich zwischen flüssig und fest, wobei Übergänge zwischen beiden Formen vorkommen. Dazu gehören der halbfeste Honig und der gelatinöse Heidehonig. Direkt nach der Ernte ist jeder Honig mehr oder minder flüssig. Nach etwa vier bis acht Wochen beginnt der Honig zu kristallisieren und gewinnt an Festigkeit.

Die Schnelligkeit der Kristallisation ist dabei abhängig vom Verhältnis zwischen Glucose- und Wassergehalt und dem Glucose/Fructose-Verhältnis (Casaulta et al., 1985; Liebig, 2011). Je geringer der Wassergehalt im Verhältnis zum Glucoseanteil ist, desto schneller kristallisiert der Honig. Je höher der Gehalt an Fructose im Vergleich zum Gehalt an Glucose ist, desto länger bleibt der Honig flüssig. Des Weiteren sind auch Faktoren wie Lagerungstemperatur und -dauer mitbestimmend für die Honigkonsistenz (Horn und Lüllmann, 2002).

Der ernährungsphysiologische Nutzen von Honig beruht zum größten Teil auf seinem hohen Zuckergehalt, daneben auch auf den in geringeren Mengen enthaltenen Mineralstoffen und Enzymen (Belitz et al., 2007) (vgl. Tabelle 4).

### 2.2.2 Imkerei

Für die weltweite Imkerei hat die westliche Honigbiene (*Apis mellifera*) die größte Bedeutung. Der Urtyp und ursprünglich einzige einheimische Vertreter der Honigbienen auf der Alpennordseite ist die Dunkle Europäische Biene (*Apis mellifera mellifera*) (Ruttner, 1992). Die von Imkern in vielen europäischen Ländern und auch in Deutschland bevorzugte Honigbiene ist die Carnica-Biene (*Apis mellifera carnica*). Nach ihrer Verbreitung über die Grenzen ihrer südlich der Alpen gelegenen Heimatregion hinaus verdrängte sie die Dunkle Europäische Biene auch nördlich der Alpen fast vollständig. Carnica-Bienen zeichnen sich durch Sanftmut, Fleiß und Schwarmfreude aus (Ruttner, 1992).

Honigbienen verfügen über einen ausgeprägten Sinn für die Entfernung verschiedener Futterquellen. Informationen über Art und Entfernung der Nektarquellen werden von Biene zu Biene weitergegeben (Casaulta et al., 1985). Auf Nektarsuche richtet sich die Sammelbiene nach Duft, Farbe, Form und Geschmack der Nektarquelle und entfernt sich auf Sammelflügen in einem Umkreis von bis zu drei Kilometern vom Stock (Casaulta et al., 1985; Liebig, 2011).

Der Imker kann den Honig ernten, wenn mindestens zwei Drittel der Waben von den Bienen mit Wachs verdeckelt worden sind. Sind die Waben wegen mangelnden Trachtangebotes nicht vollständig gefüllt, werden sie von den Bienen oft nicht verdeckelt. In diesem Fall wird mit der Spritzprobe überprüft, ob bei ruckartigem nach unten Schwingen der Waben, kleine Honigtröpfchen auszuschleudern sind. Ist das nicht der Fall, so ist auch nicht vollständig verdeckelter Honig reif. Die in den Zargen nebeneinander aufgehängten Waben werden unter Einsatz von Rauch zur Ablenkung der Bienen entnommen (Lampeitl, 1982).

Anschließend wird der Honig meist mit Hilfe einer Honigschleuder schonend aus den Waben geschleudert, um ihn möglichst frei von Wabenbestandteilen und Wachspartikeln zu halten. Zuvor werden die Wachsdeckel von den Waben entfernt. In selteneren Fällen kann Honig auch aus den Waben gepresst werden, oder er gelangt als „Scheibenhonig“ noch in der Wabe in den Verkauf (Horn und Lüllmann, 2002; Liebig, 2011).

Bevor er abgefüllt werden kann, wird der Honig gesiebt und an der Oberfläche verbleibende Luftbläschen und Wachspartikel werden abgeschöpft. Blütenhonige sollten vor der Abfüllung ins Glas gerührt werden, um dadurch ein grobes Auskristallisieren und den Verlust der Streichfähigkeit zu verhindern. Durch den Vorgang des Rührens werden sich bildende Zuckerkristalle zerschlagen und fein verteilt (Liebig, 2011; Eisenbrand und Schreier, 2006.).

Die Haltbarkeit und Qualität des Honigs nach der Gewinnung werden zum einen durch seinen Wassergehalt, zum anderen durch die Lagerungsbedingungen bestimmt. Die größte Gefahr, der der Honig nach seiner Einlagerung ausgesetzt ist, ist das Gären. Ideal zur Honiglagerung ist eine konstante Temperatur von +10 °C und eine Luftfeuchtigkeit unter 50 %. Der Wassergehalt sollte unter 18 % liegen. Darüber ist Honig deutlich anfälliger für den Verderb durch osmophile Hefen. Blütenhonige sind Lagerschäden bezüglich empfindlicher als Honigtauhonige (Liebig, 2011).

### **2.2.3 Wirtschaftliche Bedeutung**

Etwa 130.000 t Honig mit einem Marktwert von über 200 Millionen Euro werden jährlich aus Nicht-EU-Ländern in die EU importiert. In Deutschland produzieren nach Angaben des Deutschen Imkerbundes e. V. (DIB) zurzeit ca. 115.000 Imker mit etwa 800.000 Bienenvölkern

eine Gesamtmenge von 15.000 bis 25.000 t Honig im Jahr. Jedes Bienenvolk leistet dazu einen beachtlichen Beitrag von 20-30 kg Honig. Er wird sowohl roh, als auch als Zusatz- und Süßungsmittel in einer Vielzahl von Lebensmitteln eingesetzt. Neben seiner Anwendung in Frühstückszerealien, verschiedenen Bäckereiprodukten, Süßigkeiten etc. findet Honig auch in diversen Kosmetika und als Naturheilmittel Verwendung. Im Durchschnitt nimmt jeder Deutsche jährlich 1,1 kg Honig zu sich (DIB, 2017).

Der Großteil des deutschen Honigs stammt aus der hobbymäßig oder als Nebenerwerbstätigkeit betriebenen Imkerei. Dabei greifen 96 % aller in Deutschland Honig produzierender Imker auf einen Bienenbestand von einem bis 25 Völkern zurück. Weniger als 1 % der deutschen Imker betreibt die Imkerei hauptberuflich und benötigt dazu in der Regel mehr als 50 Völker, um wirtschaftlich arbeiten zu können (DIB, 2017).

Der Umsatz, der im Laufe der letzten Jahre von 2011 bis 2016 im deutschen Einzelhandel mit Honig gemacht wurde, stieg von 267 Millionen Euro im Jahr 2011 auf 334 Millionen Euro 2016 an (LZ, 2017). Im ähnlichen Zeitraum von 2008 bis 2015 stieg die jährliche Honigproduktion in Deutschland nach Angaben der Bundesanstalt für Ernährung und Landwirtschaft von 15.700 auf 23.400 t (BLE, 2016).

## **2.3 Risikobewertung**

### **2.3.1 Grundsätze**

Die Risikobewertung (risk assessment) ist die Abschätzung eines Risikos mittels wissenschaftlicher Methoden und umfasst mehrere Schritte (Abbildung 7).

Sie beinhaltet die Identifizierung der möglichen Gefahrenquelle (hazard identification) und deren Charakterisierung (hazard characterisation), d.h. die Erfassung der qualitativen und quantitativen Auswirkungen einer Gefahrenquelle, ggf. unter Berücksichtigung von Dosis-Wirkungsbeziehungen. Daran schließt sich eine Schätzung der Exposition des Menschen gegenüber der potentiellen Gefahrenquelle (exposure assessment) an. Hierbei fließen Angaben zu exponierten Verbrauchergruppen in unterschiedlichen Belastungssituationen (Alter, Körpergewicht etc.), sowie im Falle von Lebensmitteln Angaben zu



Verzehrgewohnheiten und der daraus resultierenden Expositionshäufigkeit ein.

Schließlich wird das konkrete Risiko charakterisiert (risk characterisation) und Einschätzungen des Schweregrades der schädlichen Auswirkungen auf bestimmte Bevölkerungsgruppen vorgenommen. Daraus ergibt sich die Wahrscheinlichkeit, sowie ggf. Häufigkeit und Dauer unerwünschter Ereignisse (BfR, 2010; Pitzer, 2016).

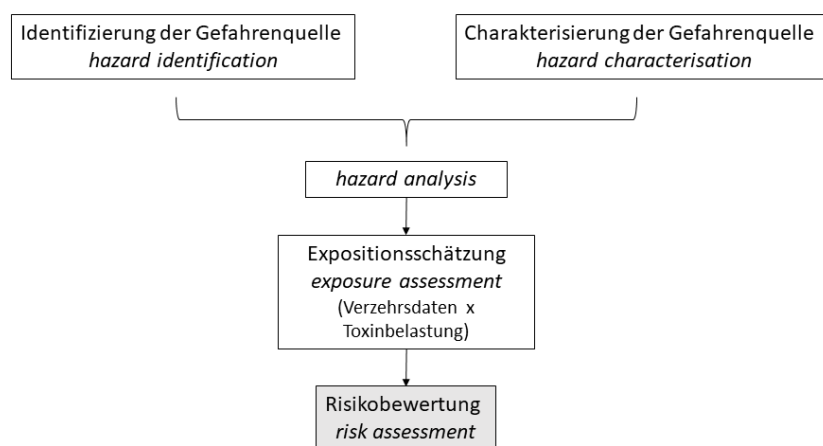


Abbildung 7: Grundsätze der Risikobewertung nach BfR (2011)

Toxikologische und epidemiologische Kenngrößen werden verwendet und daraus ggf. gesundheitlich relevante Grenzwerte abgeleitet. Der no observed adverse effect level (NOAEL) als eine toxikologische Kenngröße entspricht der höchsten geprüften Dosis eines Agens in chronischen oder subchronischen Studien ohne beobachtete schädigende Wirkung. NOAEL-Werte beziehen sich häufig auf Toxizitätsstudien an Nagetieren.

Das NOAEL-Verfahren bezieht sich auf nur einen einzigen Wert der Dosis- Wirkungsbeziehung. Im Gegensatz dazu bezieht das Benchmark-Verfahren alle Punkte einer Dosisreihe in eine quantitative Risikoeinschätzung mit ein. Dabei wird mittels eines mathematischen Modells eine Benchmark-Dosis (BMD) geschätzt, die mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit einen Effekt herbeiführt. Zur BMD wird ein Vertrauensbereich angegeben, dessen untere Grenze als

Benchmark-Dose Lower Confidence Limit (BMDL) angegeben wird (Davis et al., 2011; Petzinger, 2011).

Der Margin of Exposure (MOE) Approach ist ein Instrument der Risikobewertung zur Einschätzung von genotoxischen und kanzerogenen Substanzen. Es handelt sich dabei um einen „Sicherheitsabstand“, den Quotient aus geschätzter Aufnahme und der Dosis eines Stoffes, bei der erstmals eine schädliche Wirkung messbar wird (BfR, 2010; Davis et al., 2011).

### **2.3.2 Honig und Pyrrolizidinalkaloide**

Honig gilt neben Kräutertee als Haupteintragsquelle für PA/PANO in die menschliche Ernährung (Mulder et al., 2015). Bei der Risikobewertung von PA/PANO in Honig werden sowohl die akute Toxizität berücksichtigt, als auch Krebsrisiken, denen eine chronische Aufnahme zugrunde gelegt wird. Auch gering PA/PANO-belastete Honige können durch den kumulativen Effekt der PA/PANO bei Langzeitverzehr eine potentielle Gefahrenquelle für den Verbraucher darstellen (Dübecke et al., 2011).

Die Honigverbraucher untergliedern sich in Erwachsene und Kinder. Bezogen auf ihr geringeres Körpergewicht erreichen Kinder bei oft ähnlichen Verzehrsmengen wie Erwachsene schneller relevante Aufnahmemengen pro kg KG (BfR, 2011).

Die Honigverbraucher unterscheiden sich zusätzlich zu Alter und Körpergewicht durch die Menge an Honig, die gewohnheitsmäßig verzehrt wird. Für die Risikobewertung werden sie in Normal- und Vielverzehrer unterteilt, außerdem wird zwischen der Langzeitaufnahme geringerer Mengen (chronisch) und der Kurzeitaufnahme großer Mengen Honig (akut) differenziert (BfR, 2011). In der vorliegenden Studie wurde zur Ergänzung der Begriffe Normal- und Vielverzehrer die Verbrauchergruppe Extremverzehrer eingeführt, um dem außergewöhnlich hohen Honigkonsum gerecht zu werden, wie er beispielsweise unter Imkern, deren Familienangehörigen und besonderen Liebhabern des Lebensmittels Honig vorkommt.

Durchschnittlich wird von der erwachsenen deutschen Bevölkerung täglich 0,05 g Honig pro kg KG/Tag verzehrt. Das 95 %-Perzentil liegt bei 0,28 g Honig pro kg KG/Tag. Für einen

Erwachsenen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 60 kg ergeben sich dadurch Verzehrsmengen von 3 g/Tag bzw. 17 g Honig/ Tag. Innerhalb der Bevölkerung gaben 88 % an, Honig zu sich zu nehmen, wobei sich die verzehrte Menge mit zunehmendem Alter der Befragten erhöhte (0,033 g/kg KG/Tag in der Gruppe der 14-18-Jährigen; 0,073 g/kg KG/Tag in der Gruppe der 65-80-Jährigen) (BMEL, 2008).

Die Datengrundlage zur Berechnung der Kurzeitaufnahme größerer Mengen Honig zur Einschätzung einer akuten Gefährdung basiert auf Angaben der 88 % der Bevölkerung, die Honig zu sich nehmen. Der maximale Verzehr der Befragten aus zwei Befragungstagen lag im 95 %-Perzentil bei 0,88 g/kg KG/Tag (BMEL, 2008).

Die durchschnittliche Tagesaufnahme bei Kindern beträgt 0,1 g/kg KG/Tag, das 95 %-Perzentil 0,4 g/kg KG/Tag, was bei einem angenommenen Durchschnittsgewicht von 16,15 kg eine Tagesmenge Honig von 1,6 g/Tag bzw. 6,5 g/Tag bedeutet. Im Falle der kurzfristigen Aufnahme einer größeren Menge gibt der Wert des 97,5 %-Perzentils der Befragung eine Verzehrsmenge von 1,36 g/kg KG/Tag an. Das entspricht bei einem angenommenen Gewicht von 16,15 kg einer Honigmenge von 22 g/Tag (BfR, 2005).

Für die Gruppe der Extremverzehrer wurde in der vorliegenden Studie unabhängig von Alter und Körpergewicht eine Tagesmenge Honig von 40 g/Tag angenommen, was ca. drei dick bestrichenen Honigbrotten entspricht.

Auf dieser Datenlage ergibt sich für die Risikobewertung die Einteilung in die genannten Verbrauchergruppen mit unterschiedlichem Honig-Essverhalten. Die Szenarien mit Normalverzehr werden für Kinder (zwei bis fünf Jahre, durchschnittliches KG 16,15 kg) und Erwachsene (14-80 Jahre, durchschnittliches KG 60 kg) mit den durchschnittlichen Verzehrsmengen aus der Befragung berechnet, für die Berechnung der Vielverzehr-Szenarien werden die höheren Verzehrswerte des 95 %-Perzentils verwendet (BfR, 2011).

Auf sämtliche Verbrauchergruppen, Erwachsene und Kinder, Normalverzehrer, Vielverzehrer und Extremverzehrer wird neben der unterschiedlichen Vorliebe für Honig der Faktor Markentreue angewendet. Je nachdem, ob häufig zwischen dem Honig verschiedener Anbieter und Standorte gewechselt wird, oder gezielt nur der Honig des Lieblingsimkers gekauft und verzehrt wird, ist mit unterschiedlicher PA/PANO-Aufnahme zu rechnen. Für den Fall, dass mit großer Treue zum Produkt immer Honig ausgewählt wird, der eine hohe

---

PA/PANO-Belastung aufweist, sind im worst case-Szenario hohe Aufnahmewerte zu erwarten. Zur Berechnung des worst case wird innerhalb eines Probenumfangs der Belastungswert des 95 %-Perzentsils verwendet. Bei geringer Markentreue des Verbrauchers (mean case-Szenario) wird vom niedrigeren Belastungsmittelwert ausgegangen (BfR, 2011).



## 3 Material und Methoden

### 3.1 Material

#### 3.1.1 Probenmaterial

Insgesamt wurden  $n = 436$  Honigproben aus dem Großraum Eutin, Ostholstein, auf ihren Gehalt an 25 PA/PANO untersucht. Die Proben wurden von 42 Imkern im Zeitraum Sommer 2015 bis Sommer 2016 an insgesamt 72 verschiedenen Standorten gezogen (Tabelle 6). Zur Beurteilung einer möglichen Gehaltsschwankung zwischen nah beieinander positionierten Bienenvölkern wurden an einem Standort, den ein Imker zur Aufstellung seiner Völker nutzt, nach den gegebenen Möglichkeiten jeweils drei Einzelvölker beprobt (Abbildung 8). Jede Probe wurde codiert, wobei nach Imker und Standort Identifikationsnummern vergeben wurden, bestehend aus Nummer des Imkers (Zahl) und Standort-ID (Buchstabe).

Tabelle 6: Beprobte Saisons mit jeweiliger Anzahl beteiligter Imker, Standorte und Honige

Saison	Zahl beteiligter Imker	Zahl beprobter Standorte	Anzahl beprobter Honige
Sommer 2015	31	53	151
Frühjahr 2016	35	53	152
Sommer 2016	29	46	133



Abbildung 8: Typischer Standort mit Oberbehandlungsbeuten mit drei beprobten Völkern, aufgenommen im Rahmen der Beprobung im Sommer 2015 in Ostholstein (Quelle: Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit, LMU München)

Zu sämtlichen beprobten Standorten wurden die genauen Geokoordinaten ermittelt und mittels Google Maps (<https://www.google.de/maps>) kartographisch erfasst. So konnten die Standorte untereinander im Hinblick auf ihre Entfernung zu großen Jakobskreuzkraut-Flächen verglichen werden.

Nicht alle Standorte konnten in jeder der drei Saisons beprobt werden. Von den insgesamt 75 untersuchten Standorten wurden 27 über alle drei Saisons beprobt, 21 Standorte in zwei der drei Saisons und 27 nur in einer Saison.

Die Völker, die an mehrmals beprobten Standorten untersucht wurden, waren von Saison zu Saison nicht zwangsläufig dieselben.

Abbildung 9 und Abbildung 10 zeigen die untersuchten Standorte im Beprobungsgebiet Eutin und Umgebung.

In den Abbildungen sind die Standorte entsprechend der Saisons, in denen dort Honig untersucht wurde, farblich gekennzeichnet. Zusätzlich sind in den Karten die zum Zeitpunkt der Probennahme bekannten flächendeckenden Jakobskreuzkraut-Bestände gelb hervorgehoben. Die in den Karten markierten Flächen geben den Stand zum Zeitpunkt des Sommers 2015 wieder. Die Informationen über Lage und Ausdehnung der Bestände stammen aus persönlichen Mitteilungen durch die Kreisverwaltung Ostholstein (Steffens, 2015, persönliche Mitteilung).



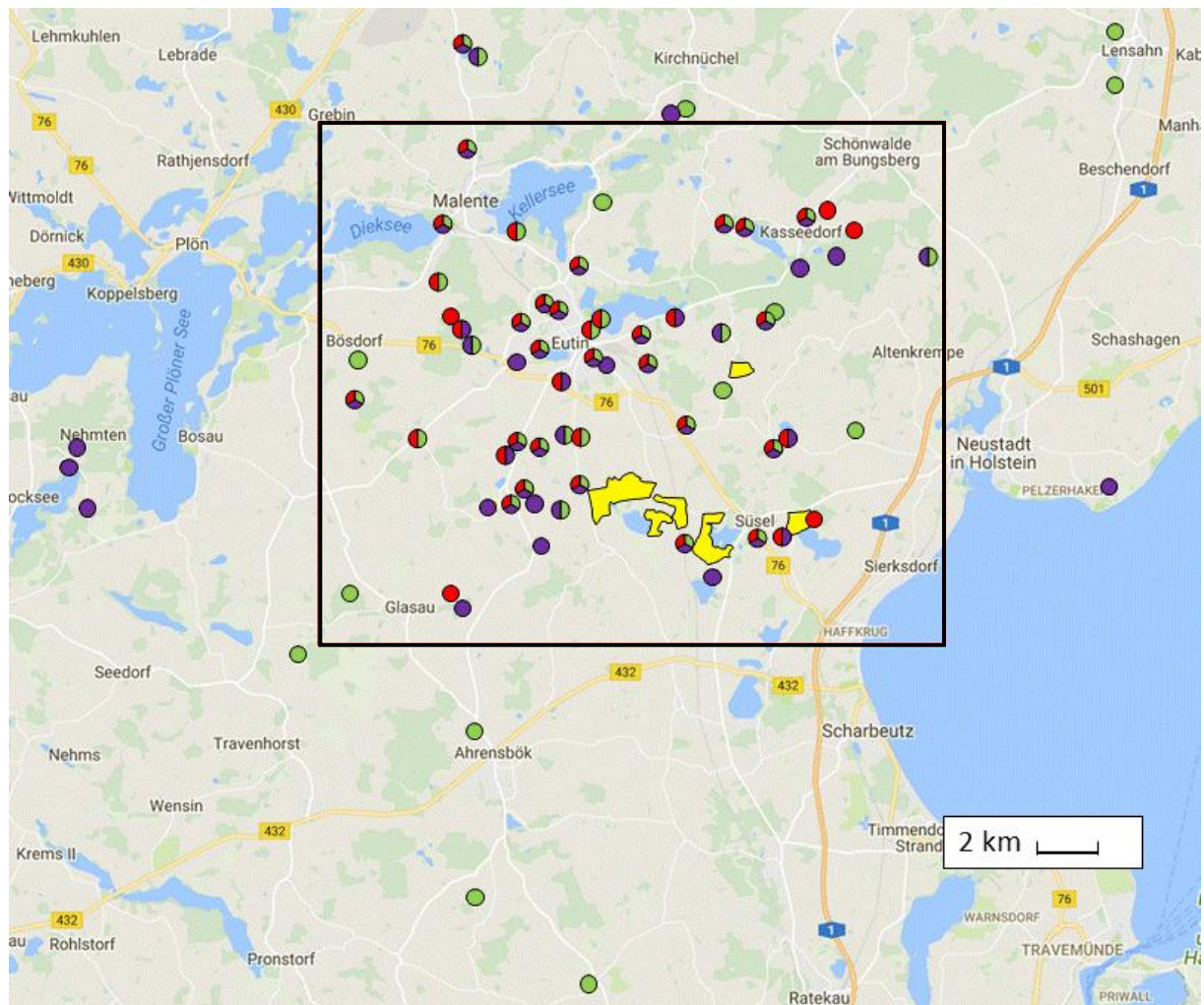


Abbildung 9: Lage der von Sommer 2015 bis Sommer 2016 beprobten Standorte im Großraum Eutin mit Jakobskreuzkraut-Beständen (Karten-Quelle: Google LLC) gelb gekennzeichnet: durch Kreisverwaltung Ostholstein kartierte Jakobskreuzkraut-Bestände (Steffens, 2015) schwarzer Kasten: Haupteinzugsgebiet des Probenhonigs (vgl. Abbildung 10)

- Sommer 2015
- Frühjahr 2016
- Sommer 2016
- Sommer 2015 & Frühjahr 2016
- Sommer 2015 & Sommer 2016
- Sommer 2015 & Frühjahr 2016 & Sommer 2016
- Frühjahr 2016 & Sommer 2016

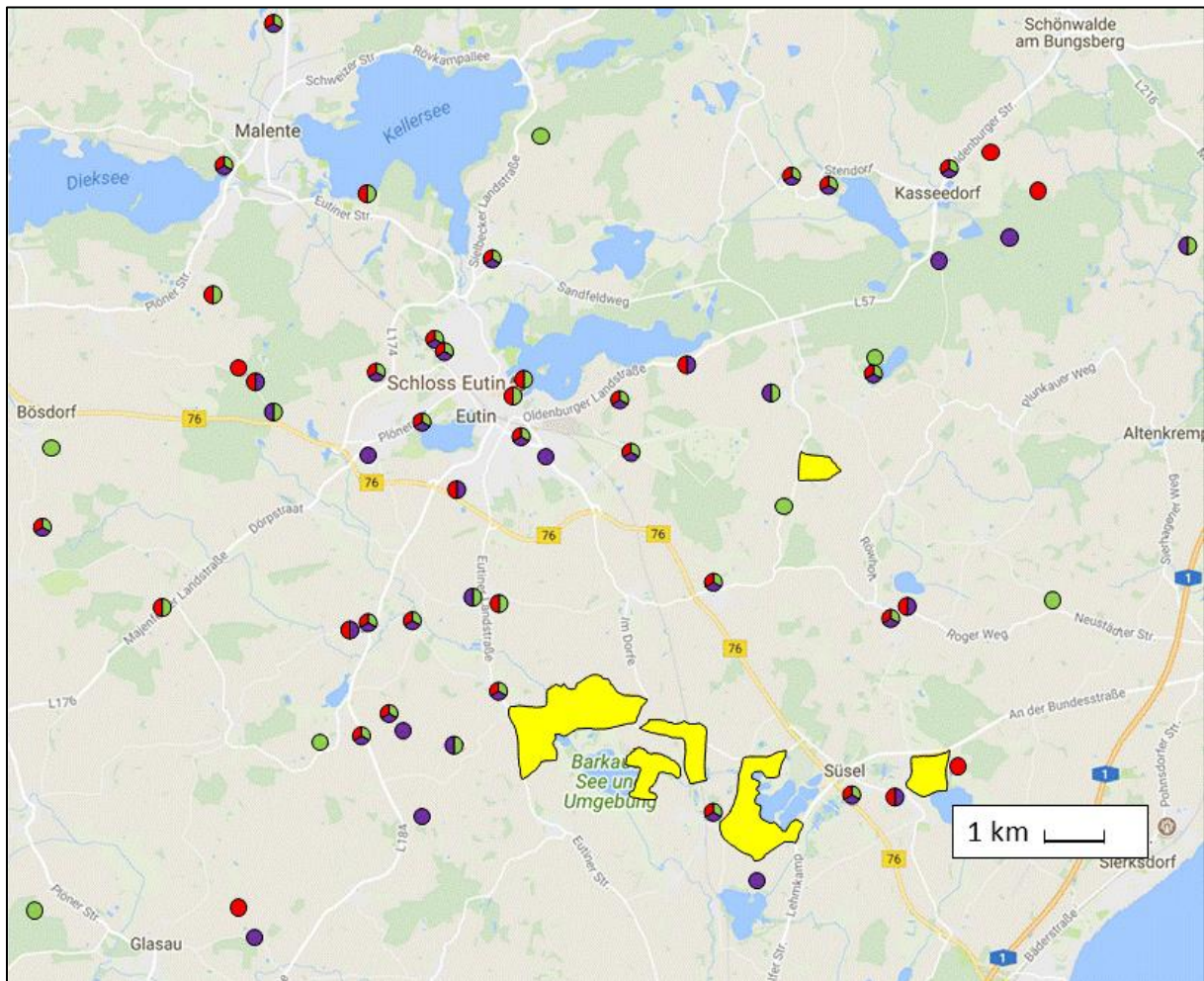


Abbildung 10: Lage der von Sommer 2015 bis Sommer 2016 beprobten Standorte im Großraum Eutin mit Jakobskreuzkraut-Beständen (vergrößerter Ausschnitt aus Abbildung 9) (Karten-Quelle: Google LLC)  
 gelb gekennzeichnet: durch Kreisverwaltung Ostholstein kartierte Jakobskreuzkraut-Bestände (Steffens, 2015)

- Sommer 2015
- Frühjahr 2016
- Sommer 2016
- Sommer 2015 & Frühjahr 2016
- Sommer 2015 & Sommer 2016
- Sommer 2015 & Frühjahr 2016 & Sommer 2016
- Frühjahr 2016 & Sommer 2016



Bei allen Honigen handelte es sich um Rohhonig, die direkt am jeweiligen Standort aus den Bienenvölkern entnommen wurden (Abbildung 11). Bei der Beprobung wurden mittels eines Holzspatels jeweils ca. 200 g Honig aus der stockwarmen Wabe ausgekratzt (Abbildung 12).

Diese Entnahme „direkt ab Beute“ verhinderte eine Durchmischung von Honig verschiedener Standorte oder Völker. In Abhängigkeit von Saison und Trachtangebot ist im Gesamtprobenumfang unterschiedlicher Blütenhonig vertreten. Die Proben wurden bis zur Analyse bei + 4 °C im Kühlschrank gelagert.



Abbildung 11: Beprobung von frisch verdeckeltem, erntereifem Honig direkt ab Beute, aufgenommen im Rahmen der Beprobung im Sommer 2015 in Ostholstein (Quelle: Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit, LMU München)



Abbildung 12: Auskratzen von Proben-Honig (ca. 200 g) aus der Bienenwabe, aufgenommen im Rahmen der Beprobung im Sommer 2015 in Ostholstein (Quelle: Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit, LMU München)

### 3.1.2 Reagenzien

Die für Probenaufarbeitung und -analyse verwendeten Chemikalien sind unter Angabe der Bezugsquelle in Tabelle 7 aufgeführt. Die zur anschließenden Messung mittels LC-MS/MS nach der Target-Methode verwendeten Standardsubstanzen finden sich in Tabelle 8.

Tabelle 7: Im Rahmen der Probenaufarbeitung und zur Herstellung der HPLC-Fließmittel verwendete Chemikalien

Chemikalien	Bezugsquelle
Ameisensäure	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen
Methanol (LC/MS-MS-grade)	
Wasser (LC/MS-MS-grade)	
Ammoniakalische Lösung (32 %) in Methanol	
Acetonitril (HPLC-grade)	
Schwefelsäure (0,1N)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Ammoniumformiat für die LC/MS-MS	Fluka Analytical, Seelze

Tabelle 8: Für den PA/PANO-Nachweis mittels LC/MS-MS-Target-Methode verwendete Standardsubstanzen

PA		PANO		Necinbase/ Veresterung
Ec	Erucifolin <sup>1</sup>	EcN	Erucifolin-N-Oxid <sup>1</sup>	Retronecin/ Zyklischer Diester
Em	Echimidin <sup>1</sup>	EmN	Echimidin-N-Oxid <sup>2</sup>	Retronecin/ Diester
Eu	Europin <sup>1</sup>	EuN	Europin-N-Oxid <sup>1</sup>	Heliotridin/ Monoester
Hn	Heliotrin <sup>1</sup>	HnN	Heliotrin-N-Oxid <sup>1</sup>	Heliotridin/ Monoester
Im	Intermedin <sup>1</sup>	ImN	Intermedin-N-Oxid <sup>1</sup>	Retronecin/ Monoester
Jb	Jacobin <sup>1</sup>	JbN	Jacobin-N-Oxid <sup>1</sup>	Retronecin/ Zyklischer Diester
La	Lycopsamin <sup>1</sup>	LaN	Lycopsamin-N- Oxid <sup>1</sup>	Retronecin/ Monoester
Lc	Lasiocarpin <sup>1</sup>	LcN	Lasiocarpin-N- Oxid <sup>1</sup>	Heliotridin/ Diester
Mc	Monocrotalin <sup>1</sup>	McN	Monocrotalin-N- Oxid <sup>1</sup>	Retronecin/ Zyklischer Diester
Re	Retrorsin <sup>1</sup>	ReN	Retrorsin-N-Oxid <sup>1</sup>	Retronecin/ Zyklischer Diester
Sc	Senecionin <sup>1</sup>	ScN	Senecionin-N-Oxid <sup>1</sup>	Retronecin/ Zyklischer Diester
Sk	Senkirkin <sup>1</sup>			Otonecin/ Zyklischer Diester
Sp	Seneciophyllin <sup>1</sup>	SpN	Seneciophyllin-N- Oxid <sup>1</sup>	Retronecin/ Zyklischer Diester

PA: Pyrrolizidinalkaloid

PANO: Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

<sup>1</sup>: Phytolab GmbH & Co. KG, Vestenbergsgreuth<sup>2</sup>: Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe

### 3.1.3 Verbrauchsmaterial und Geräte

Die zur Aufarbeitung des Probenmaterials verwendeten Labormaterialien und Geräte sind in Tabelle 9 aufgeführt.

Tabelle 9: Zur präanalytischen Probenaufarbeitung verwendetes Labormaterial

Instrument/ Material	Bezugsquelle
Pipetten und Zubehör	Eppendorf, Hamburg/ Gilson, Inc, Middleton, USA
Imkerfeinsieb 0,2 qmm	Bienen Ruck, Wülfershausen a.d. Saale
Feinwaage A 200 S	Sartorius Lab Instruments GmbH, Göttingen
Trockenschrank FD 115	Binder, Tuttlingen
Horizontalschüttler 3005	GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel
Zentrifuge 3K12	Sigma Aldrich Co., St. Louis, USA
Ultraschallbad Sonorex	Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlin
Vortexer VF2	IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen im Breisgau
Stickstoffevaporator	Zefa-Laborservice GmbH, Grasbrunn
SPE-Extraktionseinheit	Phenomenex Inc., Torrance, USA
LABOPORT Vakuumpumpe	Knf Neuberger, Inc., Trenton, USA
Zentrifugen Röhrchen 50 ml	ISOLAB GmbH, Schweitenkirchen
SPE Extraktionskartuschen Bond Elut Plexa SCX 500 mg, 6 ml	Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, USA
Spritzenaufsatzfilter PVDF 13 mm, 0,45 µm	Berrytec GmbH, Grünwald
HPLC Vials, 2ml	neoLab GmbH, Heidelberg
Verschlusskappen für Vials, PTFE/Silikon	neoLab GmbH, Heidelberg
Einmalspritzen, 2 und 5 ml	Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen

## **3.2 Methoden**

### **3.2.1 Probenvorbereitung**

Der Honig musste vor Beginn der Aufarbeitung erwärmt (38 ° C), verflüssigt und über ein Imkerfeinsieb von Wachspartikeln und Verschmutzungen gereinigt werden. Anschließend wurden sämtliche Honigproben durch stetes Rühren homogenisiert. Die weiteren Schritte der Aufarbeitung, die Extraktion und Aufreinigung der Honigproben umfassen, sind in Abbildung 13 dargestellt.



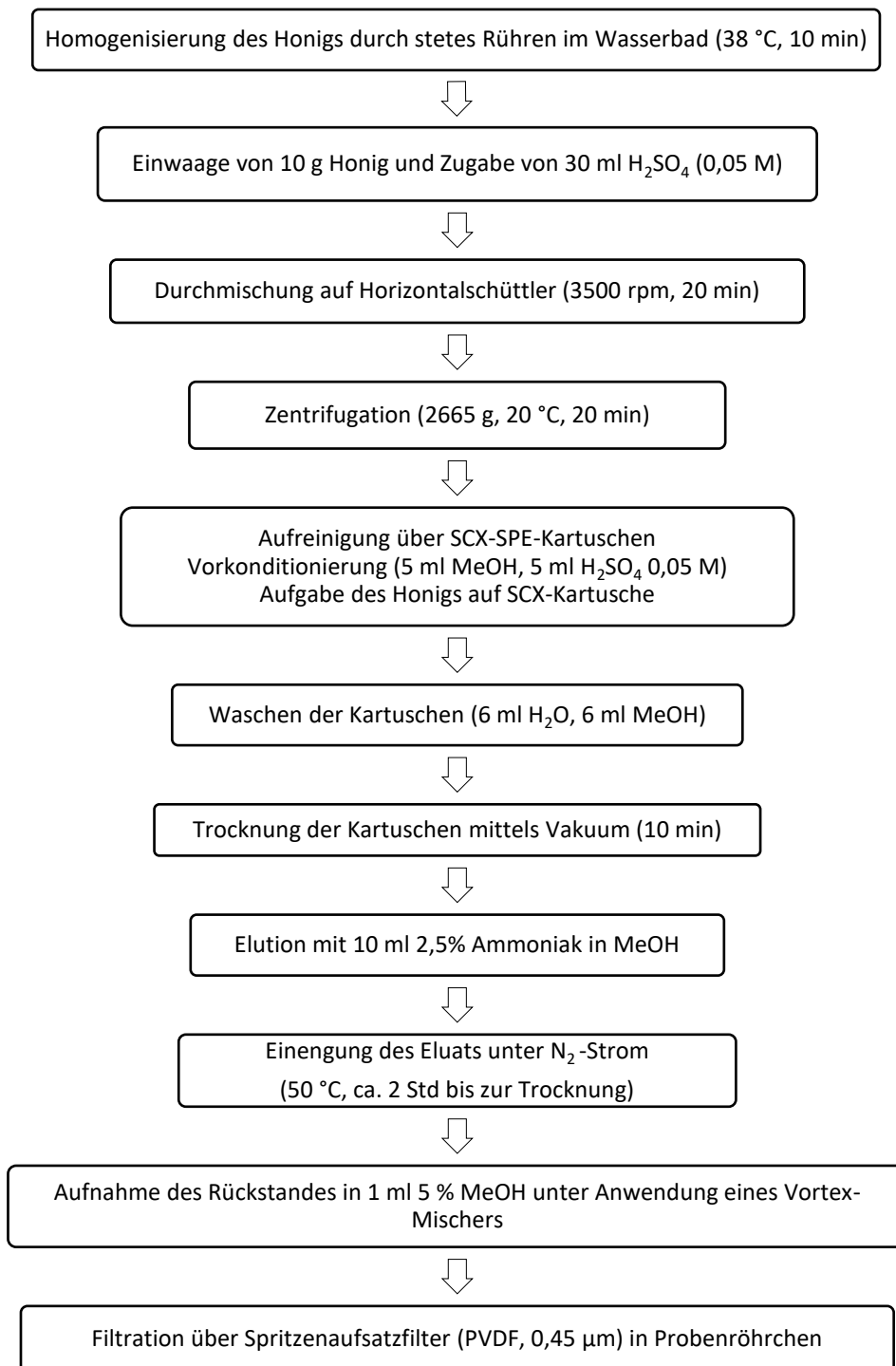


Abbildung 13: Arbeitsschritte der präanalytischen Probenbehandlung mit Extraktion und Probenaufreinigung und -aufkonzentration über SCX-SPE-Kartuschen

### 3.2.2 Messung

Die LC-MS-Analytik zur Bestimmung der 25 PA/PANO orientierte sich an der von Gottschalk et al. angewendeten Methode (Gottschalk, 2016)

Zur Detektion der Analyten wurde ein Triple-Quadrupol LC/MS-MS verwendet. In Tabelle 10 sind dessen einzelne Komponenten aufgeführt.

Tabelle 10: LC-MS/MS-Gerätekomponenten und Bezugsquellen

Gerätebestandteile	Bezugsquelle
Stickstoffgenerator	Cmc Instruments GmbH, Eschborn
HPLC (Autosampler, 2 Pumpen, Säulenofen, Degasser, Controller) LC 20 AD vp Serie	SHIMADZU GmbH, Kyoto, Japan
LC-Säule: Synergi 4u Polar-RP80A 150 x 2 mm, 4 µm	Phenomenex Inc., Torrance, USA
API 4000 Tandem Massenspektrometer	AB Sciex Pte. Ltd., Darmstadt

Tabelle 11 enthält HPLC- und Quellenparameter der LC-MS/MS-Methodik. Die Gradientenzusammensetzung (linear) aus beiden HPLC-Fließmitteln ist in Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 11: HPLC- und MS-Quellenparameter

Parameter	Einstellung
Mobile Phase A	Wasser (LC-MS/MS grade) + 5 mM Ammoniumformiat + 0,1 % Ameisensäure
Mobile Phase B	MeOH (LC-MS/MS grade) + 5mM Ammoniumformiat + 0,1 % Ameisensäure
Injektionsvolumen	20 µl
Vorwärmtemperatur des Säulenofens	40 °C
Art der Identifizierung	Spezifische Retentionszeiten und Massenübergänge eines Mutterions in zwei Tochterionen (Multiple reaction monitoring (MRM) transition)
Ionisierung	Positive Elektrospray Ionisierung
Ionisationsspannung	2000 Volt
Temperatur der Ionenquelle	650 °C

Tabelle 12: Zusammensetzung des linearen Fließmittelgradienten der mobilen Phasen A und B

<b>Zeit [min]</b>	<b>Mobile Phase A [%]</b>	<b>Mobile Phase B [%]</b>	<b>Flussrate [ml/min]</b>
0,0	95	5	0,4
5,0	95	5	0,4
10,0	75	25	0,4
14,0	75	25	0,4
22,0	5	95	0,4
22,1	95	5	0,4
28,0	95	5	0,4

### 3.2.3 Quantifizierung

Zur Kompensation von Matrixeffekten wurde eine Matrixkalibration durchgeführt. Dazu wurde PA/PANO-freier Honig für jede Messung frisch aufgearbeitet. Zur Herstellung der einzelnen Messpunkte der Kalibrationsgeraden wurde das Pipettierschema aus Tabelle 13 verwendet.

Tabelle 13: Pipettierschema für die Herstellung einer Matrixkalibrationsgeraden

PA/PANO Konzentration [ng/ml]	Verwendete Verdünnungsstufe von Standard-Mix 25 [ng/μl]	Eingesetztes Volumen [μl]	Eingesetztes Volumen blank ME [μl]
50,0	0,1	250	500
25,0	0,1	125	500
10,0	0,01	500	500
5,0	0,01	250	500
1,0	0,001	500	500

### 3.2.4 Methodvalidierung

Zur hausinternen Etablierung und Validierung der Methode wurden vor Beginn der Probenaufarbeitung und Messung die analytischen Kenndaten (Linearität des Messbereichs, LOD, LOQ) bestimmt. Dazu wurden nach DIN ISO 32645:2008:11 mit PA-25-Standard-Mix Kalibrationspunkte in Honigmatrix in äquidistanten Abschnitten im Bereich zwischen 0,01 μg/kg und 0,2 μg/kg und 0,1 bis 1,5 μg/kg sowie 2,5; 5,0; 10,0 μg/kg hergestellt und gemessen.

Erst oberhalb der Bestimmungsgrenze (LOQ, Limit of Quantification) werden quantitative Analyseergebnisse angegeben. Gemessene Konzentrationen, die sich zwischen der Nachweisgrenze (LOD, Limit of Detection) und LOQ bewegten, wurden als 0,5 x LOQ gewertet. Die Messergebnisse für die beprobten Honige wurden nach DIN ISO 32645:2008:11 als Summe aus den Einzelwerten für alle gemessenen PA/PANO angegeben [μg/kg].

Wiederfindungsraten wurden im Dreifachansatz mittels PA-Standard-Mix 25 und Honigmatrix

---

für die Spikelevel 5,0 µg/kg; 25,0 µg/kg und 50,0 µg/kg bestimmt. Die Ergebnisse der Methodvalidierung sind in Kap. 4.1 aufgeführt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Analytik

Tabelle 14 stellt die ausgewählten optimierten substanzspezifischen Parameter für die 25 untersuchten Analyten dar (Scheduled (s) MRM).

Tabelle 14: Massenübergänge und Substanz spezifische LC-MS/MS-Parameter

Analyt	Formel	Mutterion [m/z]	Tochterionen [m/z]	DP [V]	EP [V]	CE [eV]	CXP [V]	Dwell time [ms]	Reten- tionszeit [min]
<b>Mc</b>	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>6</sub>	326,1	121,1 120,2	116 116	10 10	41 49	20 20	150	5,2
<b>Im</b>	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>5</sub>	300,2	138,0 120,1	96 96	10 10	29 37	24 20	150	6,4
<b>La</b>	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>5</sub>	300,2	138,0 120,1	96 96	10 10	29 37	24 20	150	6,9
<b>Eu</b>	C <sub>16</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>6</sub>	330,1	138,0 156,1	86 86	10 10	41 41	6 8	150	8,8
<b>McN</b>	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>7</sub>	342,1	137,1 120,1	116 116	10 10	41 51	24 20	150	9,9
<b>ImN</b>	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub>	316,2	172,1 138,1	61 61	10 10	41 41	30 24	150	9,9
<b>EuN</b>	C <sub>16</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>7</sub>	346,2	172,1 270,1	106 106	10 10	45 35	30 16	150	9,8
<b>LaN</b>	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub>	316,2	172,1 138,0	106 106	10 10	41 41	30 24	150	10,0
<b>Ec</b>	C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>6</sub>	350,2	120,1 138,1	111 111	10 10	43 49	20 20	150	10,7
<b>Jb</b>	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub>	352,1	120,1 280,2	111 111	10 10	43 33	20 16	150	11,2

DP: declustering potential; EP: entrance potencial; CE: collision energy; CXP: cell exit potential

Tabelle 14: Fortsetzung Massenübergänge und Substanz spezifische LC-MS/MS-Parameter

Analyt	Formel	Mutterion [m/z]	Tochterionen [m/z]	DP [V]	EP [V]	CE [eV]	CXP [V]	Dwell time [ms]	Reten- tionszeit [min]
<b>Hn</b>	C <sub>16</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>5</sub>	314,2	138,2	86	10	41	36	150	12,7
			94,0	86	10	41	16		
<b>JbN</b>	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>7</sub>	368,2	296,2	111	10	35	16	150	12,7
			120,1	111	10	53	20		
<b>EcN</b>	C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>7</sub>	366,2	118,0	111	10	49	20	150	12,7
			120,1	111	10	45	22		
<b>Re</b>	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub>	352,1	138,1	121	10	43	24	150	12,9
			324,3	121	10	39	18		
<b>HnN</b>	C <sub>16</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>6</sub>	330,2	172,1	106	10	41	30	150	13,6
			93,7	106	10	63	16		
<b>Sp</b>	C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>5</sub>	334,1	120,1	111	10	41	20	150	14,1
			94,1	111	10	51	16		
<b>ReN</b>	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>7</sub>	368,2	118,1	111	10	47	20	150	14,1
			136,0	111	10	51	22		
<b>Sc</b>	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>5</sub>	336,2	120,1	116	10	41	20	150	16,9
			138,1	116	10	41	24		
<b>SpN</b>	C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>6</sub>	350,2	118,2	116	10	51	20	150	16,9
			136,0	116	10	45	24		
<b>Em</b>	C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>7</sub>	398,3	120,1	96	10	35	20	150	18,1
			119,5	96	10	37	42		
<b>ScN</b>	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub>	352,1	118,1	116	10	41	20	150	18,3
			136,0	116	10	53	24		
<b>Sk</b>	C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>6</sub>	366,2	122,1	121	10	49	20	150	18,4
			153,0	121	10	37	26		
<b>EmN</b>	C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>8</sub>	414,2	254,2	106	10	43	14	150	18,4
			352,2	106	10	35	20		
<b>Lc</b>	C <sub>21</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>7</sub>	412,2	120,1	101	10	45	22	150	19,5
			220,1	101	10	27	12		
<b>LcN</b>	C <sub>21</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>8</sub>	428,2	137,1	111	10	47	24	150	20,1
			138,1	111	10	45	24		

DP: declustering potential; EP: entrance potential; CE: collision energy; CXP: cell exit potential

Abbildung 14 zeigt ein Chromatogramm der entwickelten LC-MS/MS-Messmethode für 25 PA/PANO einer Konzentration von 10 ng/ml in Mischstandard.

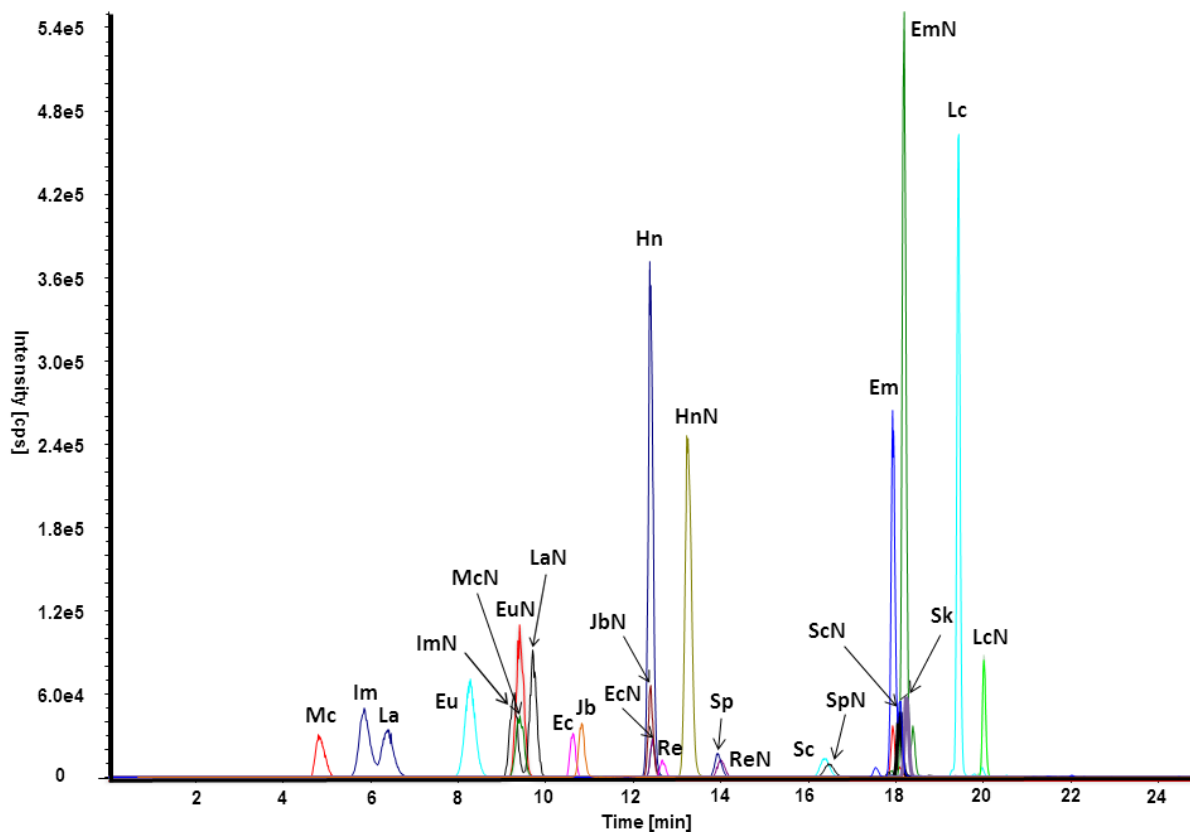


Abbildung 14: LC-MS/MS Chromatogramm (PA-Standard-Mix 25),  $c = 10 \text{ ng/ml}$   
cps = counts per second;

Ec = Erucifolin; EcN = Erucifolin N-Oxid; Em = Echimidin; EmN = Echimidin N-Oxid; Eu = Europin; EuN = Europin N-Oxid; Hn = Heliotrin; HnN = Heliotrin N-Oxid; Im = Intermedin; ImN = Intermedin N-Oxid; Jb = Jacobin; JbN = Jacobin N-Oxid; La = Lycopsamin; LaN = Lycopsamin N-Oxid; Lc = Lasiocarpin; LcN = Lasiocarpin-N-Oxid; Mc = Monocrotalin; MnN = Monocrotalin N-Oxid; Re = Retrorsin; ReN = Retrorsin N-Oxid; Sc = Senecionin; ScN = Senecionin N-Oxid; Sk = Senkirkin; Sp = Seneciphyllin; SpN = Seneciphyllin N-Oxid

Tabelle 15 und Tabelle 16 enthalten Ergebnisse der Methodvalidierung. Tabelle 15 zeigt die nach DIN ISO 32645:2008:11 ermittelte LODs und LOQs in Honigmatrix.

Die Linearität der Kalibrationsgeraden (in Honigmatrix) war bis zu PA/PANO-Konzentrationen von 50 ng/ml gegeben. Niedrige relative Standardabweichungen (RSD), die im Fünffachansatz für die Konzentrationsstufen 2,5 ng/ml und 25,0 ng/ml ermittelt wurden, zeigten eine gute



Präzision. Sie lagen in einem Bereich von 2,6 % bis 9,6 %. LODs lagen analytenabhängig zwischen 0,01 µg/kg und 0,19 µg/kg, LOQs zwischen 0,03 µg/kg und 0,59 µg/kg.

Tabelle 15: Verfahrenskennndaten der LC-MS/MS Messung von 25 PA/PANO in Honigmatrix

Analyt	Linearität	Korrelation r <sup>2</sup> * (6 Punkte)	RSD (n=5) (2,5 ng/ml) [%]	RSD (n=9) (25,0 ng/ml) [%]	LOD [µg/kg]	LOQ [µg/kg]
Em	LOD-50 ng/ml	0,9997	0,9	3,4	0,14	0,46
EmN	LOD-50 ng/ml	0,9995	1,5	9,6	0,02	0,05
Ec	LOD-50 ng/ml	0,9999	0,3	6,3	0,06	0,19
EcN	LOD-50 ng/ml	0,9999	4,9	8,4	0,19	0,59
Eu	LOD-50 ng/ml	0,9997	1,7	5,6	0,01	0,04
EuN	LOD-50 ng/ml	0,9991	3,7	8,4	0,02	0,07
Hn	LOD-50 ng/ml	0,9955	2,5	5,7	0,08	0,25
HnN	LOD-50 ng/ml	0,9995	2,8	3,5	0,01	0,04
Im	LOD-50 ng/ml	0,9998	6,4	6,3	0,09	0,28
ImN	LOD-50 ng/ml	0,9989	0,3	3,2	0,1	0,32
Jb	LOD-50 ng/ml	0,9998	11,1	5,1	0,07	0,24
JbN	LOD-50 ng/ml	0,9998	1,5	5,9	0,01	0,04
La	LOD-50 ng/ml	0,9997	0,2	9,7	0,02	0,06
LaN	LOD-50 ng/ml	0,9990	1,5	2,6	0,03	0,07
Lc	LOD-50 ng/ml	0,9995	0,2	5,2	0,01	0,03
LcN	LOD-50 ng/ml	0,9996	3,2	9,9	0,02	0,07
Mc	LOD-50 ng/ml	0,9986	5,4	7,6	0,07	0,24
McN	LOD-50 ng/ml	0,9991	0,9	4,1	0,17	0,54
Re	LOD-50 ng/ml	0,9996	4,3	5,2	0,04	0,13
ReN	LOD-50 ng/ml	0,9995	6,3	6,9	0,07	0,23
Sc	LOD-50 ng/ml	0,9999	3,0	7,9	0,13	0,4
ScN	LOD-50 ng/ml	0,9994	1,7	9,2	0,02	0,06
Sk	LOD-50 ng/ml	0,9995	6,8	3,5	0,01	0,04
Sp	LOD-50 ng/ml	0,9994	5,0	6,2	0,15	0,47
SpN	LOD-50 ng/ml	0,9996	2,1	7,8	0,02	0,05

\*Kalibrationsgerade mit Kalibrationspunkten zwischen 1 und 50 ng/ml;

LOD: Nachweisgrenze; LOQ: Bestimmungsgrenze; RSD: Relative Standardabweichung

Die Wiederfindungsraten (WFR) (Tabelle 16) wurden im Dreifachansatz für die Spike-Levels 5,0, 25,0, und 50,0 µg/kg mit PA-Standard-Mix-25 bestimmt. Für die Mehrheit der Analyten lagen die WFR bei 80-110 %. Die durchschnittliche WFR lag für alle gemessenen PA/PANO bei 98,8 %. In Anlehnung an Verordnung (EG) Nr. 401/2006 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln sollten die WFR in einem Bereich zwischen 50-120 % liegen.

Tabelle 16: Wiederfindungsraten (WFR)  $\pm$  RSD (%) für 5,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 25,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 50,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (bestimmt im Dreifachansatz)

Analyt	WFR* $\pm$ RSD	WFR* $\pm$ RSD	WFR* $\pm$ RSD	mittlere WFR	RSD
	[%] 5,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	[%] 25,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	[%] 50,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		[%] (n=9)
Em	96,7 $\pm$ 4,4	105,1 $\pm$ 7,4	107,0 $\pm$ 1,7	102,9	6,7
EmN	93,1 $\pm$ 7,7	111,2 $\pm$ 14,4	127,6 $\pm$ 5,7	110,6	16,2
Ec	98,8 $\pm$ 1,9	104,5 $\pm$ 2,4	102,0 $\pm$ 0,9	101,8	2,9
EcN	68,3 $\pm$ 3,7	89,1 $\pm$ 12,2	88,1 $\pm$ 1,2	81,8	14,1
Eu	79,1 $\pm$ 8,6	93,6 $\pm$ 17,2	106,0 $\pm$ 1,0	92,9	16,1
EuN	88,5 $\pm$ 6,2	105,9 $\pm$ 11,8	113,1 $\pm$ 4,3	102,5	13,0
Hn	84,4 $\pm$ 11,6	100,1 $\pm$ 4,1	84,1 $\pm$ 7,6	89,5	11,5
HnN	106,6 $\pm$ 3,1	107,5 $\pm$ 5,3	108,0 $\pm$ 1,6	107,4	3,7
Im	83,6 $\pm$ 13,6	92,2 $\pm$ 4,0	89,2 $\pm$ 4,8	88,4	9,2
ImN	89,1 $\pm$ 5,8	103,4 $\pm$ 3,4	103,6 $\pm$ 1,1	98,7	7,8
Jb	94,1 $\pm$ 12,7	95,2 $\pm$ 6,6	92,6 $\pm$ 4,5	94,0	8,8
JbN	72,6 $\pm$ 6,6	92,5 $\pm$ 9,7	92,8 $\pm$ 4,5	86,0	13,2
La	82,2 $\pm$ 4,1	85,2 $\pm$ 5,4	91,9 $\pm$ 5,3	86,4	6,9
LaN	95,2 $\pm$ 4,3	102,1 $\pm$ 4,3	103,1 $\pm$ 1,6	100,2	5,0
Lc	82,7 $\pm$ 8,7	102,4 $\pm$ 14,4	111,3 $\pm$ 2,8	98,8	15,5
LcN	95,3 $\pm$ 11,9	104,2 $\pm$ 17,7	127,6 $\pm$ 7,1	110,7	17,4
Mc	91,0 $\pm$ 6,8	98,2 $\pm$ 6,1	99,1 $\pm$ 5,2	96,1	7,1
McN	86,4 $\pm$ 8,0	99,0 $\pm$ 19,8	109,9 $\pm$ 4,5	98,4	15,9
Re	111,9 $\pm$ 6,7	105,0 $\pm$ 8,1	103,5 $\pm$ 6,3	106,8	7,8
ReN	127,2 $\pm$ 5,7	115,8 $\pm$ 10,8	119,3 $\pm$ 1,5	120,8	8,0
Sc	78,5 $\pm$ 12,5	89,8 $\pm$ 15,7	80,5 $\pm$ 12,3	83,0	15,0
ScN	96,0 $\pm$ 3,9	112,1 $\pm$ 4,2	110,3 $\pm$ 3,7	106,2	7,8
Sk	97,5 $\pm$ 4,0	108,0 $\pm$ 1,8	101,9 $\pm$ 2,6	102,4	5,1
Sp	120,0 $\pm$ 12,1	109,3 $\pm$ 8,9	104,2 $\pm$ 6,9	111,2	11,5
SpN	68,8 $\pm$ 14,8	97,8 $\pm$ 15,4	111,8 $\pm$ 5,0	92,8	22,6

\*: Mittelwert aus n = 3 Ansätzen

WFR: Wiederfindungsrate

RSD: Relative Standardabweichung

## **4.2 Vorkommen von Pyrrolizidinalkaloiden in regional erzeugten Imkerhonigen**

### **4.2.1 Ergebnisse der Sommerernte 2015**

#### **4.2.1.1 Häufigkeiten unterschiedlicher Kontaminationsbereiche**

Im Sommer 2015 wurden 151 Einzelproben gesammelt und untersucht (35 % des gesamten Probenmaterials). Von den 151 Einzelproben wiesen 137 Proben (91 %) Kontaminationen mit PA/PANO auf.

Der PA/PANO-Gehalt der belasteten Proben variierte zwischen 0,19 µg/kg und 110,5 µg/kg. In Abbildung 15 sind die Ergebnisse der Analysen dargestellt. Insgesamt 9 % der Proben (n = 14) waren negativ, in den restlichen 91 % wurden PA/PANO mit verschiedenen Gehalten nachgewiesen. Zudem sind Abbildung 15 die Kontaminationsrate, Minimalwert, Maximalwert, Median, Mittelwert und 95 %-Perzentil zu entnehmen.

Der überwiegende Anteil des beprobten Sommerhonigs 2015 (70 %) lag in einem Messbereich zwischen > LOD und ≤ 10 µg/kg. 10 % und 9 % der Proben wiesen PA/PANO-Gehalte von > 10 bis ≤ 25 µg/kg bzw. > 25 bis ≤ 50 µg/kg auf. Ein PA/PANO-Gehalt > 50 µg/kg bis ≤ 140 µg/kg ergab sich für insgesamt 3 Proben (2 %).

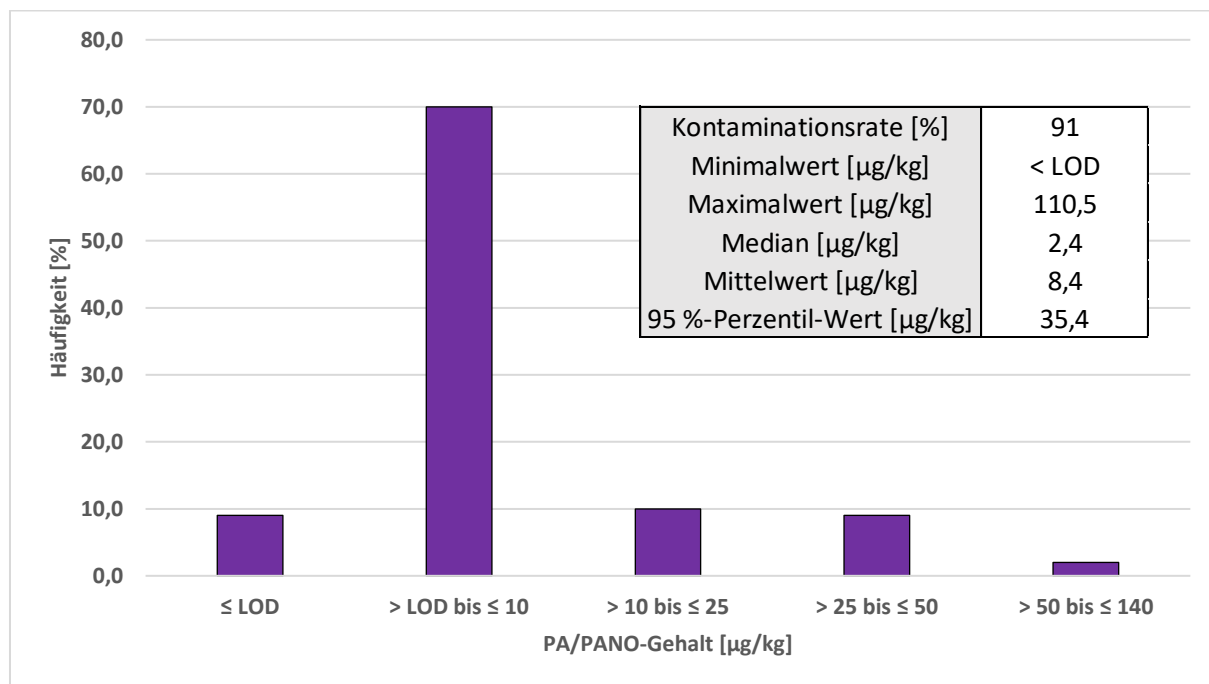


Abbildung 15: Vorkommen von PA/PANO in den Honigproben (n = 151) der Sommertracht 2015  
 LOD: Limit of Detection  
 PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.1.2 Unterteilung nach Analytengruppe

Die im Sommerhonig 2015 nachgewiesenen PA/PANO sind gruppiert nach pflanzlicher Herkunft in Abbildung 16 dargestellt.

Jacobin, Senecionin, Seneciophyllin, Erucifolin und Senkirkin gehören mit ihren N-Oxiden zur Gruppe der Senecionin-Typ-PA/PANO. Gemeinsam mit Retrorsin und Retrorsin-N-Oxid sind sie Bestandteil des PA/PANO-Spektrums der *Senecio* spp..

Neben den genannten Analyten wurden im Honig des Sommers 2015 PA/PANO vom Lycopsamin-Typ nachgewiesen (Echimidin, Intermedin, Lycopsamin und deren N-Oxide), die in Vertretern der *Boraginaceae* und gewöhnlichem Wasserdost (*Eupatorium cannabinum*) zu finden sind.

Honige, die ausschließlich PA/PANO vom Lycopsamin-Typ enthielten, machten 6,5 % der positiven Proben aus, 30 % der kontaminierten Honige waren ausschließlich mit PA/PANO des *Senecio*-Spektrums belastet. Im überwiegenden Anteil (63,5 %) der kontaminierten Proben wurde eine Mischung aus PA/PANO beider Gruppen nachgewiesen (Abbildung 16).

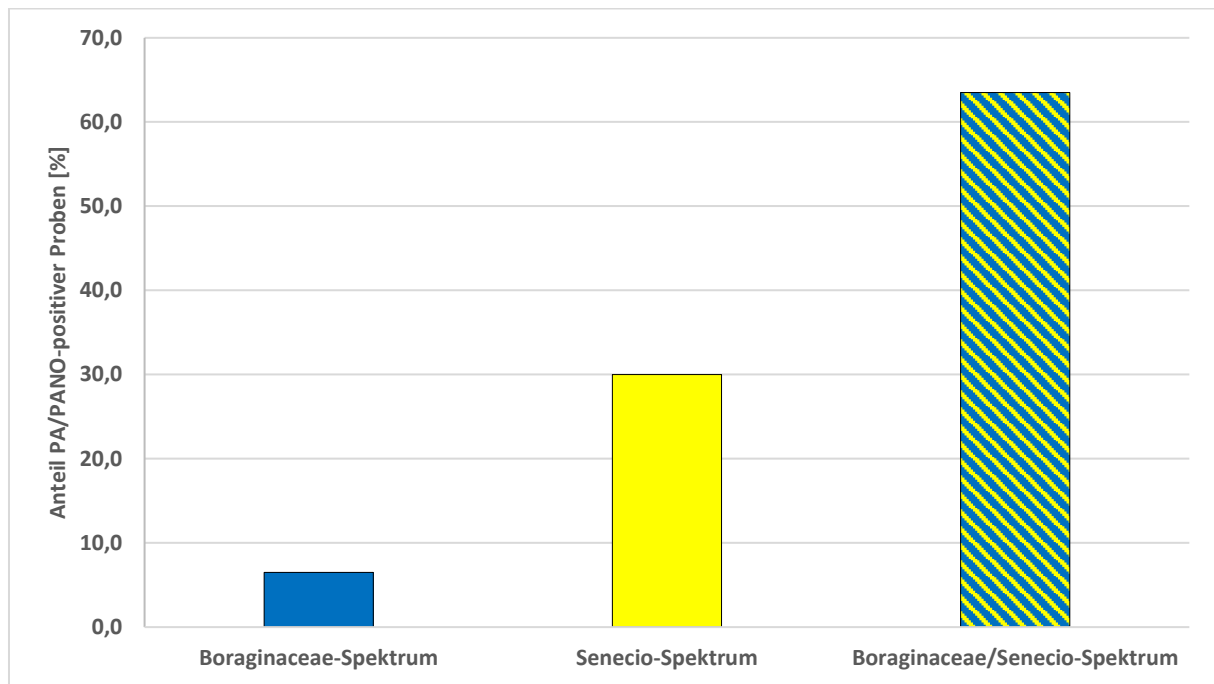


Abbildung 16: Verteilung der PA/PANO-Spektren in den 137 positiven Honigproben des Sommers 2015 (n = 151)  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.1.3 Einzelanalyten

Von den 25 als Standards zur Verfügung stehenden Analyten konnten in den Sommerhonigen von 2015 insgesamt 16 nachgewiesen werden.

Die am häufigsten nachgewiesenen Analyten waren Senecionin (77 % der positiven Proben), Seneciphyllin (73 % der positiven Proben) und Jacobin (64 % der positiven Proben) gefolgt von Retrorsin (62 % der positiven Proben) und Erucifolin (45 % der positiven Proben). In 36,5 % der PA/PANO belasteten Proben lagen alle fünf genannten PA/PANO gemeinsam vor.

Lediglich Echimidin-N-Oxid, Europin, Europin-N-Oxid, Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Monocrotalin, Monocrotalin-N-Oxid, Lasiocarpin und Lasiocarpin-N-Oxid wurden in keiner Probe nachgewiesen.

Abbildung 17 zeigt die Häufigkeit positiver Untersuchungsergebnisse der Sommerernte 2015 für die 16 nachgewiesenen PA/PANO. Die nachgewiesenen PA und ihre jeweils korrespondierenden PANO unterschieden sich in der Nachweishäufigkeit signifikant

voneinander ( $p \leq 0,05$ ). Bei allen 16 detektierten Analyten trat die nichttoxierte Form in über doppelt so vielen Proben auf wie das dazu gehörige N-Oxid.

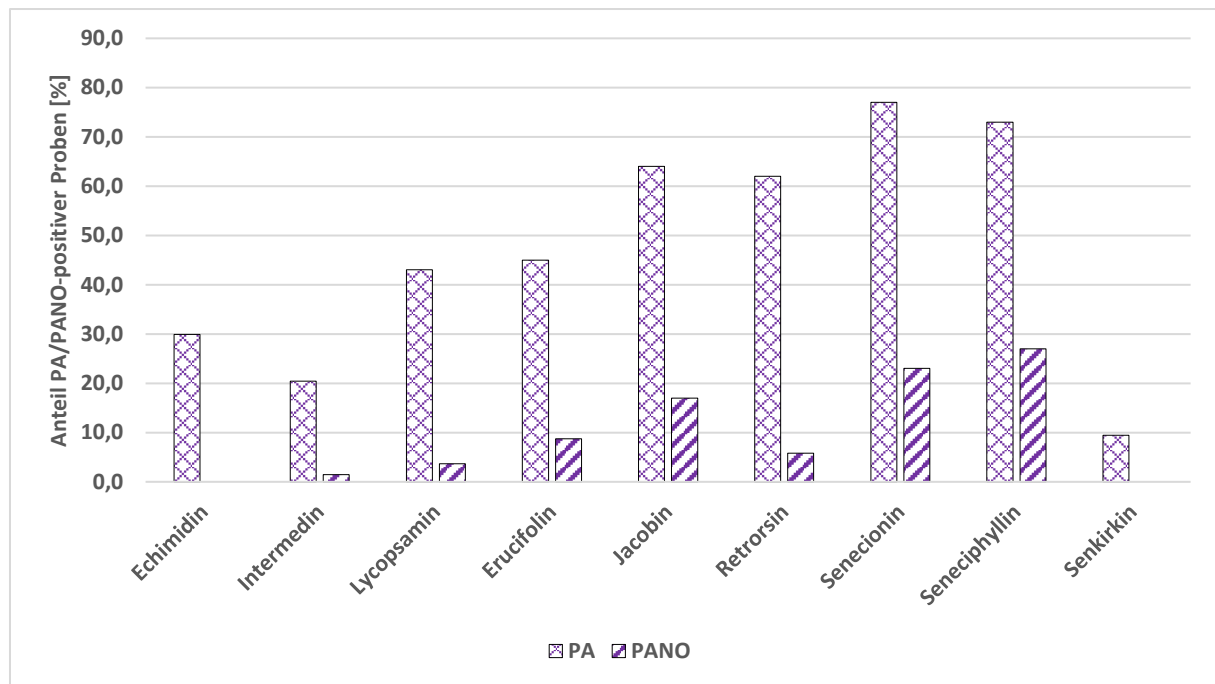


Abbildung 17: Häufigkeit der insgesamt 16 nachgewiesenen PA/PANO in den 137 positiven Honigproben des Sommers 2015 (n = 151)  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

Die PA/PANO des *Senecio*-Spektrums traten im Vergleich zu den Lycopsamin-Typ-PA/PANO aus dem Spektrum der *Boraginaceae* und *Eupatorium* spp. in größeren Mengen im Probenhonig des Sommers 2015 auf. Ihr Anteil (mittlere Belastung mit PA/PANO des *Senecio*-Spektrums: 8,0 µg/kg) betrug 96 % der mittleren PA/PANO-Gesamtbelastung (8,4 µg/kg). Die höchsten Gehalte wurden in den Sommerproben 2015 für die Senecionin-Typ-PA Jacobin (M-Wert: 1,16 µg/kg), Senecionin (M-Wert: 2,81 µg/kg) und Seneciphyllin (M-Wert: 3,26 µg/kg) gemessen.

Vertreter der Lycopsamin-Typ-PA/PANO traten hingegen in sehr geringen Gehalten auf. Ihr Anteil an der mittleren PA/PANO-Gesamtbelastung betrug 4 %. Der Mittelwert für Lycopsamin, das am häufigsten und in den größten Mengen nachgewiesene Lycopsamin-Typ-PA, betrug in den 59 Lycopsamin-positiven Proben 0,16 µg/kg.

Abbildung 18 zeigt die mittlere PA/PANO-Belastung der Proben des Sommers 2015 (n = 151) für PA/PANO des *Boraginaceae*-Spektrums und PA/PANO des *Senecio*-Spektrums.

Die relativen Standardabweichungen (RSD) lagen bei durchschnittlich 337 % innerhalb des Probenumfangs. Die vor allem im Falle der drei Senecionin-Typ PA Jacobin, Senecionin und Seneciophyllin sehr hohen Standardabweichungen, die für Senecionin und Seneciophyllin um das 19-fache, für Jacobin um das 20-fache über dem Mittelwert aus allen Proben lagen, zeigen die Streuung gemessener PA/PANO-Gehalte zwischen den untersuchten Honigproben.

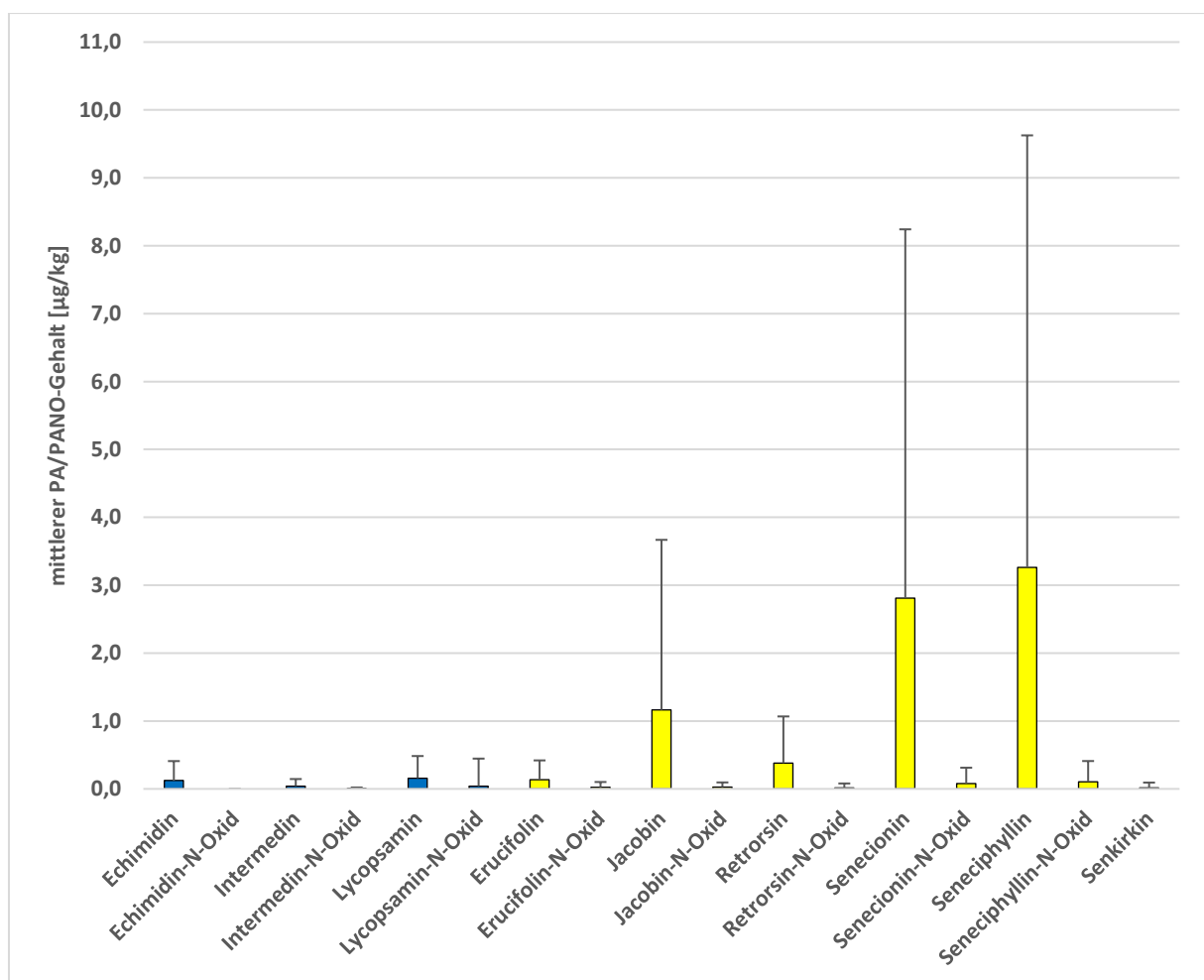


Abbildung 18: Mittlere PA/PANO-Gehalte der Proben des Sommers 2015 (n = 151) mit Standardabweichungen  
 gelb: *Senecio*-Spektrum-PA/PANO;  
 blau: *Boraginaceae*-Spektrum-PA/PANO  
 PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid



#### 4.2.1.4 Pyrrolizidinalkaloid-Gehalte an einzelnen Standorten

An einem Standort wurden wenn möglich immer  $\geq 3$  Völker beprobt (vgl. Kap. 3.1.1) und der Wert gemittelt. Abbildung 19 und Abbildung 20 zeigen die PA/PANO-positiven Standorte des Sommers 2015 in absteigender Reihenfolge nach ihrem gemittelten PA/PANO-Gesamtgehalt. Zur besseren Übersicht sind die dargestellten Standorte in zwei Kontaminationsbereiche gruppiert. Abbildung 19 zeigt Standorte mit mittlerem PA/PANO-Gehalt im Bereich  $> \text{LOD}$  bis  $\leq 10,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Abbildung 20 zeigt Standorte mit mittlerem PA/PANO-Gehalt im Bereich  $> 10,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ .

Die Bezeichnung der Standorte setzt sich, wie beschrieben, aus der Listenummer des Imkers und dem Kennbuchstaben des Standortes zusammen, an dem er seine Bienenvölker positioniert.

Insgesamt wurden im Sommer 2015 die Honige von 50 Standorten positiv auf PA/PANO untersucht. In den Honigproben von 36 der insgesamt 50 Standorte wurden PA/PANO-Gehalte im Bereich  $\leq 10,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  gemessen (Abbildung 19). Werte  $> 10,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  wurden in Honigen von 14 Standorten detektiert (Abbildung 20).

Der Minimalwert, der an einem Standort als Durchschnittswert ermittelt wurde, betrug  $0,1 \mu\text{g}/\text{kg}$ , der Maximalwert  $45,7 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Der Median aller Standortmittel betrug  $3,7 \mu\text{g}/\text{kg}$ .

Zwischen Nachbarvölkern desselben Standorts ergaben sich Gehaltsschwankungen mit RSD-Werten zwischen 10 % und 141 % bei einem Median von 55 %.

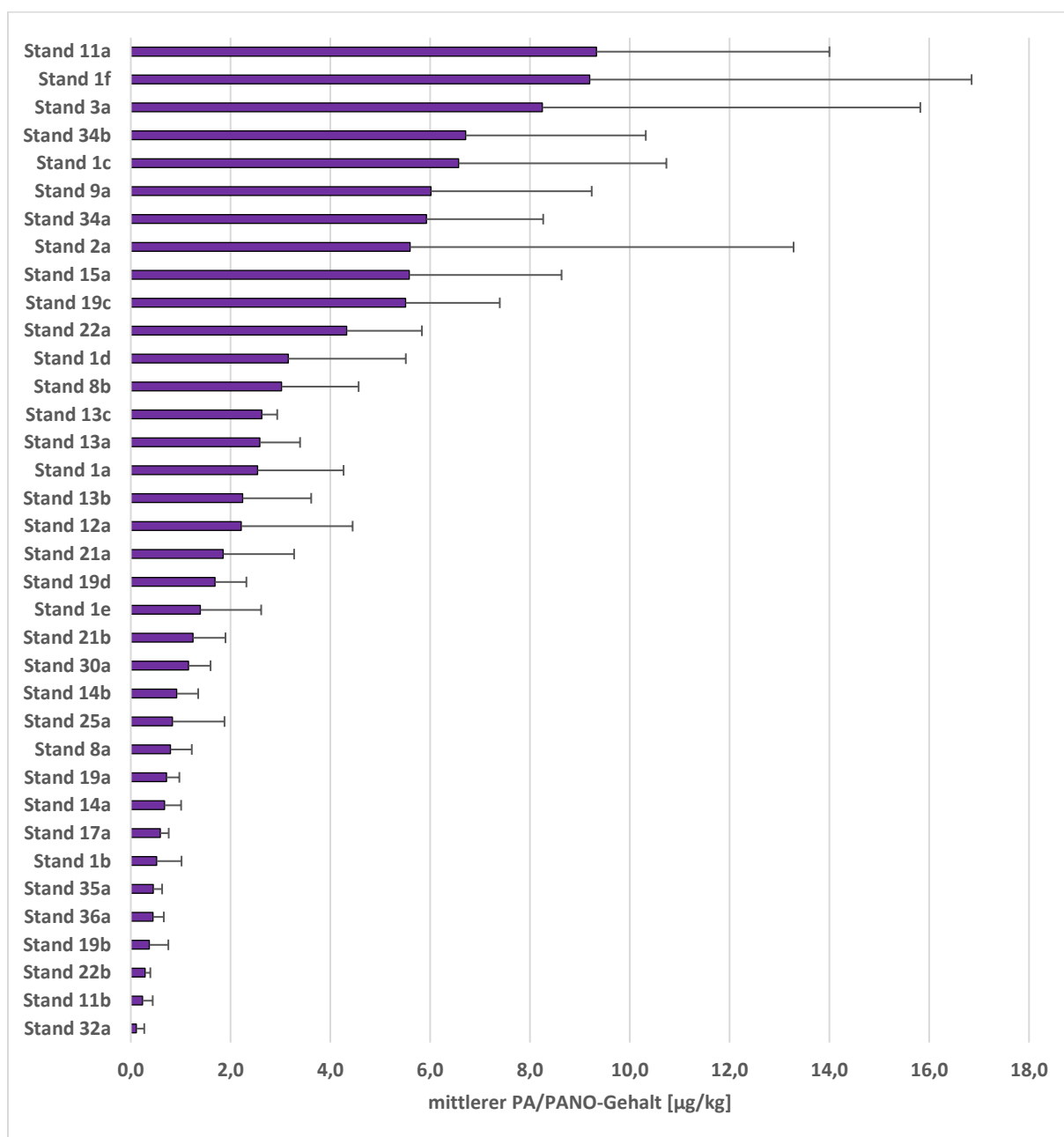


Abbildung 19: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2015; (Gruppe > LOD bis  $\leq 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) mit Standardabweichungen  
 PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

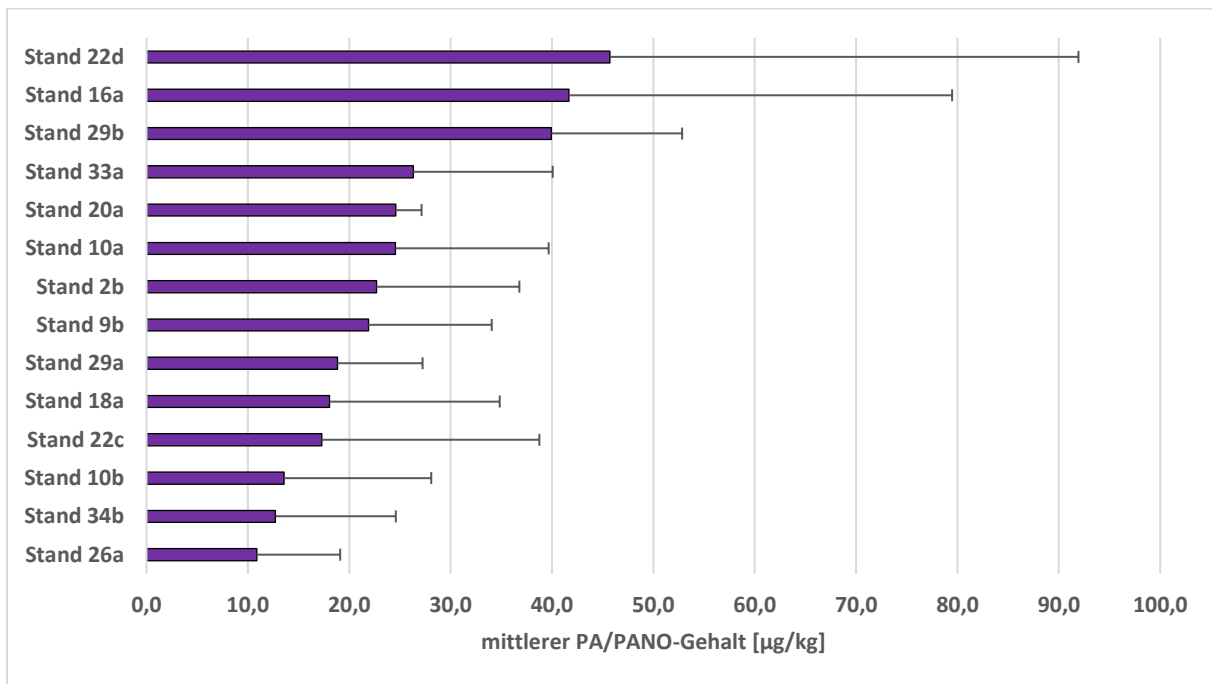


Abbildung 20: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2015; (Gruppe > 10 µg/kg) mit Standardabweichungen  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

## 4.2.2 Ergebnisse der Frühjahrsernte 2016

### 4.2.2.1 Häufigkeiten unterschiedlicher Kontaminationsbereiche

Der Anteil der im Frühjahr 2016 gesammelten Proben umfasst mit 35 % des Gesamtprobenumfangs 152 Einzelproben. Davon waren 129 Proben (85 %) mit PA/PANO belastet. Der PA/PANO-Gehalt der belasteten Proben variierte zwischen 0,1 µg/kg und 59,4 µg/kg.

Abbildung 21 stellt die Häufigkeitsverteilung verschiedener PA/PANO-Gehalte für die getesteten Honige des Frühjahrs 2016 dar. Außerdem sind der Abbildung Kontaminationsrate, Minimalwert, Maximalwert, Median, Mittelwert und 95 %-Perzentil zu entnehmen.

Der überwiegende Anteil (125 Proben, 82 %) der beprobten Honige des Frühjahrs 2016 war mit PA/PANO-Gehalten zwischen > LOD und ≤ 10,0 µg/kg belastet. In zwei Proben (1 %) wurden Gehalte > 10,0 und ≤ 25,0 µg/kg und in jeweils einer Probe (1 %) ein Gehalt von > 25,0 und ≤ 50,0 µg/kg bzw. > 50,0 µg/kg nachgewiesen.

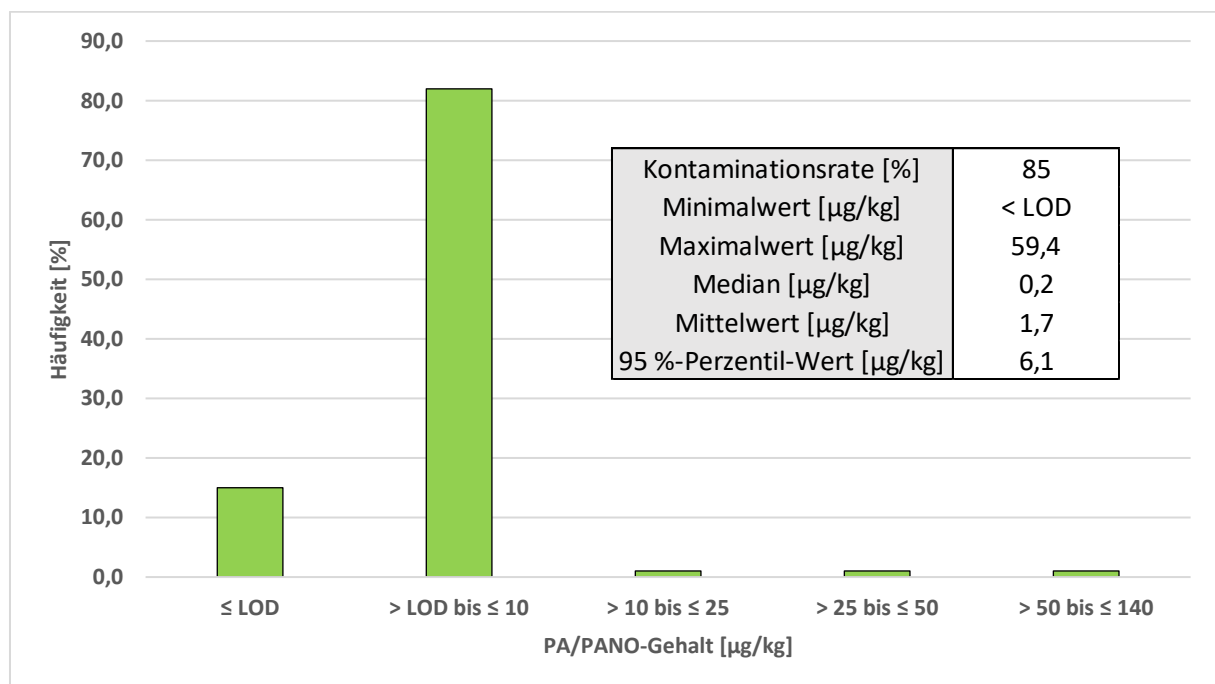


Abbildung 21: Vorkommen von PA/PANO in den Honigproben (n = 152) der Frühjahrsernte 2016

LOD: Limit of Detection

PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.2.2 Unterteilung nach Analytengruppe

Die Unterteilung der nachgewiesenen Analyten erfolgte wie in Kap. 4.2.1.2 beschrieben nach ihrer Zugehörigkeit entweder zum *Senecio*-Spektrum (Senecionin-Typ-PA/PANO und Retrorsin / Retrorsin-N-Oxid) oder der Gruppe der Lycopsamin-Typ-PA/PANO, die zum Spektrum der *Boraginaceae* und *Eupatorium* spp. gehören.

Gemeinsam lagen beide Gruppen in 29 % der positiven Proben vor. Ausschließlich PA/PANO aus dem *Senecio*-Spektrum wurden in 25 % des positiven Probenmaterials nachgewiesen.

46 % waren ausschließlich mit Lycopsamin-Typ-PA/PANO (*Boraginaceae*-Spektrum) belastet (Abbildung 22).

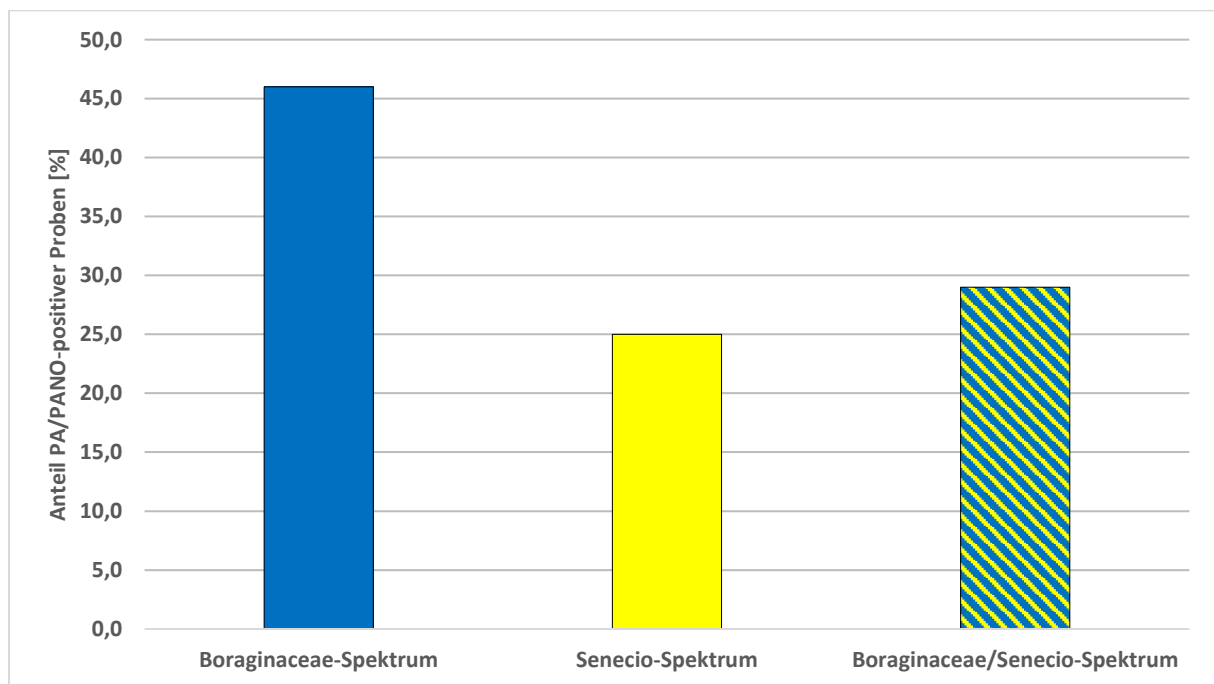


Abbildung 22: Verteilung der PA/PANO-Spektren in den 129 positiven Honigproben des Frühjahrs 2016 (n = 152)

PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.2.3 Einzelanalyten

Insgesamt konnten in den Honigen der Frühjahrstracht 2016 16 der 25 getesteten PA/PANO nachgewiesen werden.

Die drei am häufigsten nachgewiesenen PA/PANO waren Echimidin-N-Oxid (54 % der positiven Proben), Senecionin-N-Oxid (37 % der positiven Proben) und Seneciphyllin-N-Oxid (31 % der positiven Proben). Seltener wurden Jacobin und Jacobin-N-Oxid nachgewiesen (15 % bzw. 13 % der positiven Proben). Lycopsamin-N-Oxid wurde in 29 Proben detektiert (22 % der positiven Proben), das korrespondierende PA Lycopsamin jedoch nur in einer Probe. Die Analyten Intermedin, Europin, Europin-N-Oxid, Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Monocrotalin, Monocrotalin-N-Oxid, sowie Lasiocarpin und Lasiocarpin-N-Oxid wurden in keiner Probe detektiert.

Abbildung 23 zeigt die Häufigkeit positiver Untersuchungsergebnisse der Frühjahrstracht 2016 für die 16 nachgewiesenen PA/PANO.

PANO wurden in den Proben des Frühjahrs im Falle einiger Analyten häufiger nachgewiesen als ihre PA. Bis auf die Analyten Jacobin, Jacobin-N-Oxid (15 % bzw. 13 % der positiven Proben), Retrorsin, Retrorsin-N-Oxid (22 % bzw. 4 % der positiven Proben) und Erucifolin, Erucifolin-N-Oxid (EcN) (4 % bzw. 1 %) traf dies für alle anderen Analyten zu.

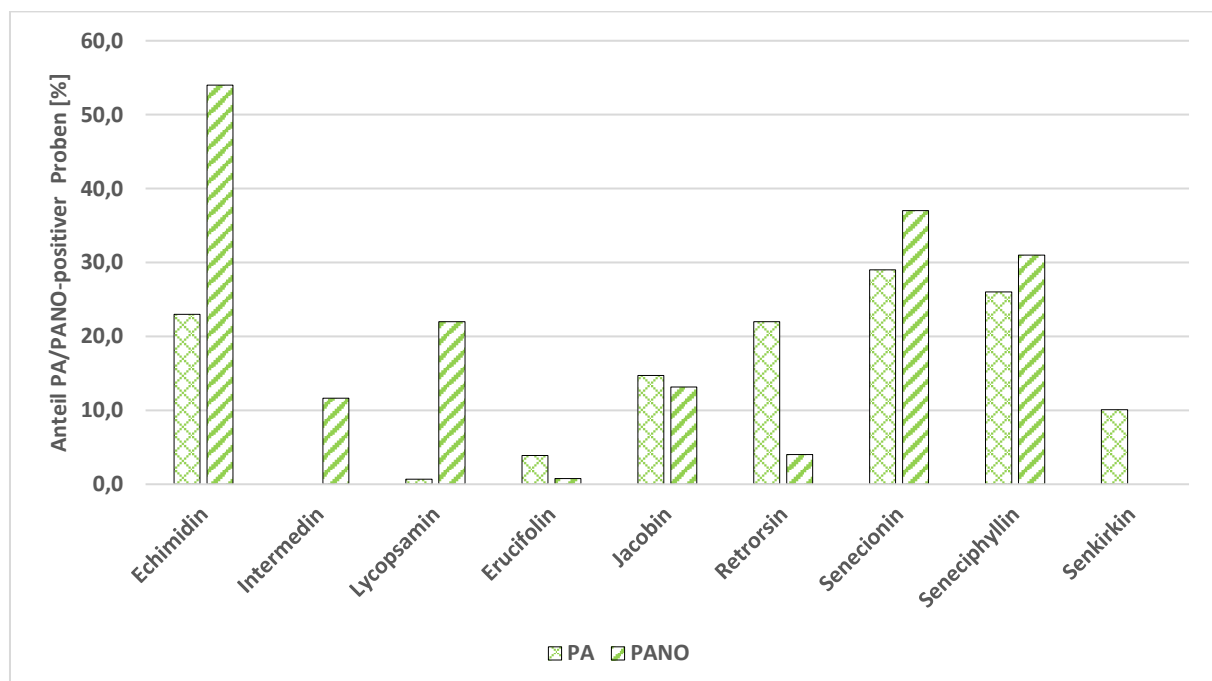


Abbildung 23: Häufigkeit der insgesamt 16 nachgewiesenen PA/PANO in den 129 positiven Honigproben des Frühjahrs 2016 (n = 152)

PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

Obwohl PA/PANO des *Senecio*-Spektrums weniger häufig nachzuweisen waren als Lycoposamin-Typ-PA/PANO des *Boraginaceae*-Spektrums, trugen sie 85 % zur Gesamtbelastung des Frühjahrshonigs 2016 (mittlere Belastung mit PA/PANO des *Senecio*-Spektrums: 1,4 µg/kg), die im Mittel 1,7 µg/kg betrug, bei

Abbildung 24 zeigt die mittlere PA/PANO-Belastung der Proben des Frühjahrs 2016 (n = 152) für PA/PANO des *Boraginaceae*-Spektrums und PA/PANO des *Senecio*-Spektrums. Hohe RSD-Werte für die PA der Senecionin-Typ- Gruppe (Jacobin RSD: 524 %, Senecionin RSD: 428 % und Seneciphyllin 518 %) zeigen die breite Streuung der gemessenen Einzelwerte.

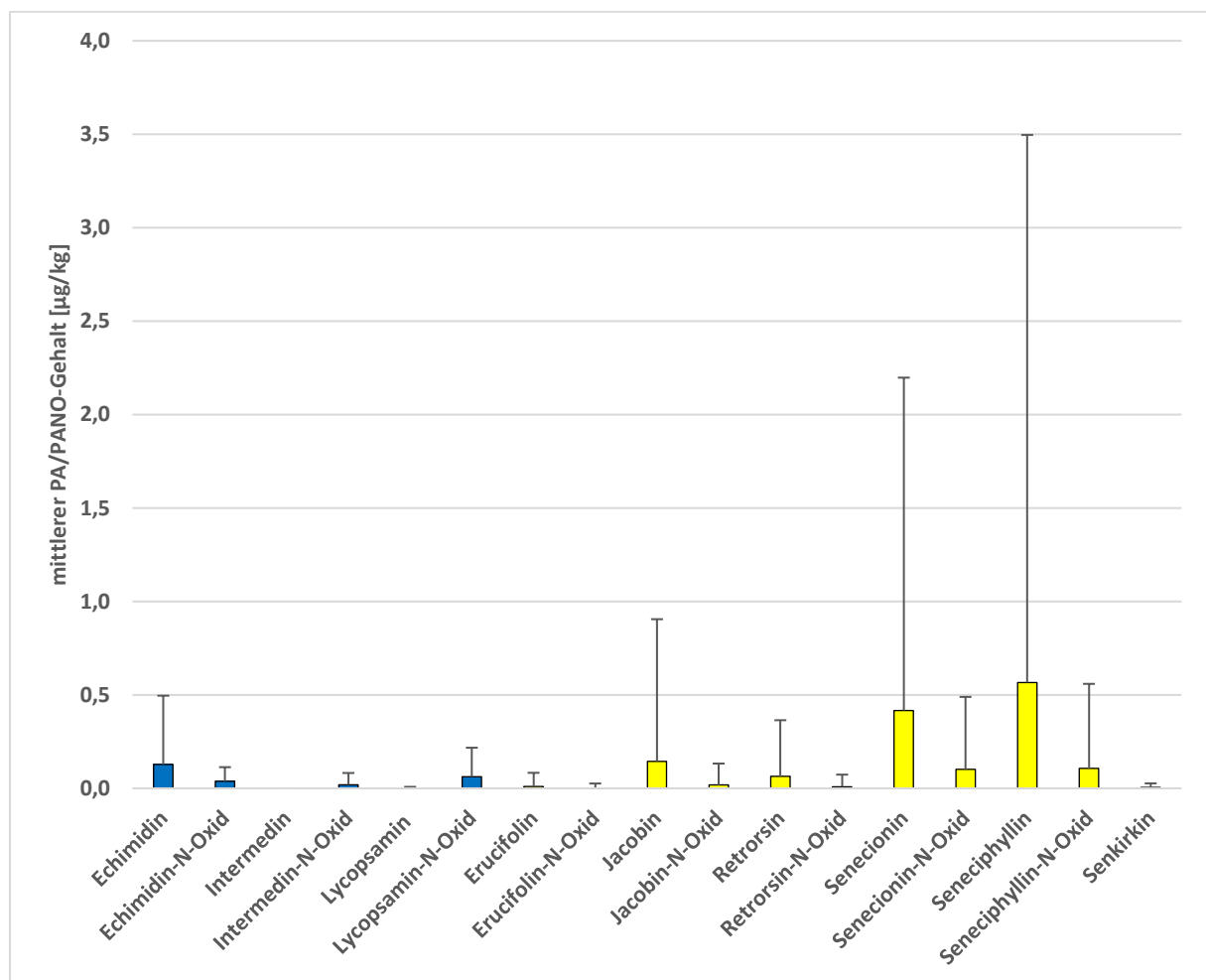


Abbildung 24: Mittlere PA/PANO-Gehalte der Proben des Frühjahrs 2016 (n = 152) mit Standardabweichungen  
 gelb: *Senecio*-Spektrum-PA/PANO;  
 blau: *Boraginaceae*-Spektrum-PA/PANO  
 PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.2.4 Pyrrolizidinalkaloid-Gehalte an einzelnen Standorten

Abbildung 25 und Abbildung 26 zeigen die positiv auf PA/PANO getesteten Standorte des Frühjahrs 2016 in absteigender Reihenfolge nach ihrem gemittelten PA/PANO-Gesamtgehalt (vgl. Kap. 4.2.1.4).

An 28 der insgesamt 47 im Frühjahr 2016 getesteten Standorte, deren Honige mit PA/PANO belastet waren, wurden mittlere Gehalte  $\leq 1,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  gemessen (Abbildung 25). Gehalte  $> 1,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  wurden in Honigen von 19 Standorten gemessen (Abbildung 26). Der Minimalwert, der für einen Standort ermittelt wurde (Mittelwert aus den beprobten Völkern), betrug  $0,01 \mu\text{g}/\text{kg}$ , der Maximalwert  $27,6 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Der Median aller Standortmittel betrug  $0,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ .

Wie bei Proben des Sommers 2015 schwankten auch bei den Honigen der Frühjahrsernte 2016 PA/PANO-Gehalte zwischen den Völkern desselben Standorts.

RSD-Werte bewegten sich zwischen 2 % und 127 % und lagen bei einem Median von 71 %. Der höchste PA/PANO-Gehaltsunterschied, den eine Standortschwankung verursachte, betrug  $24,2 \mu\text{g}/\text{kg}$  bei einer RSD der Völker von 88 %.



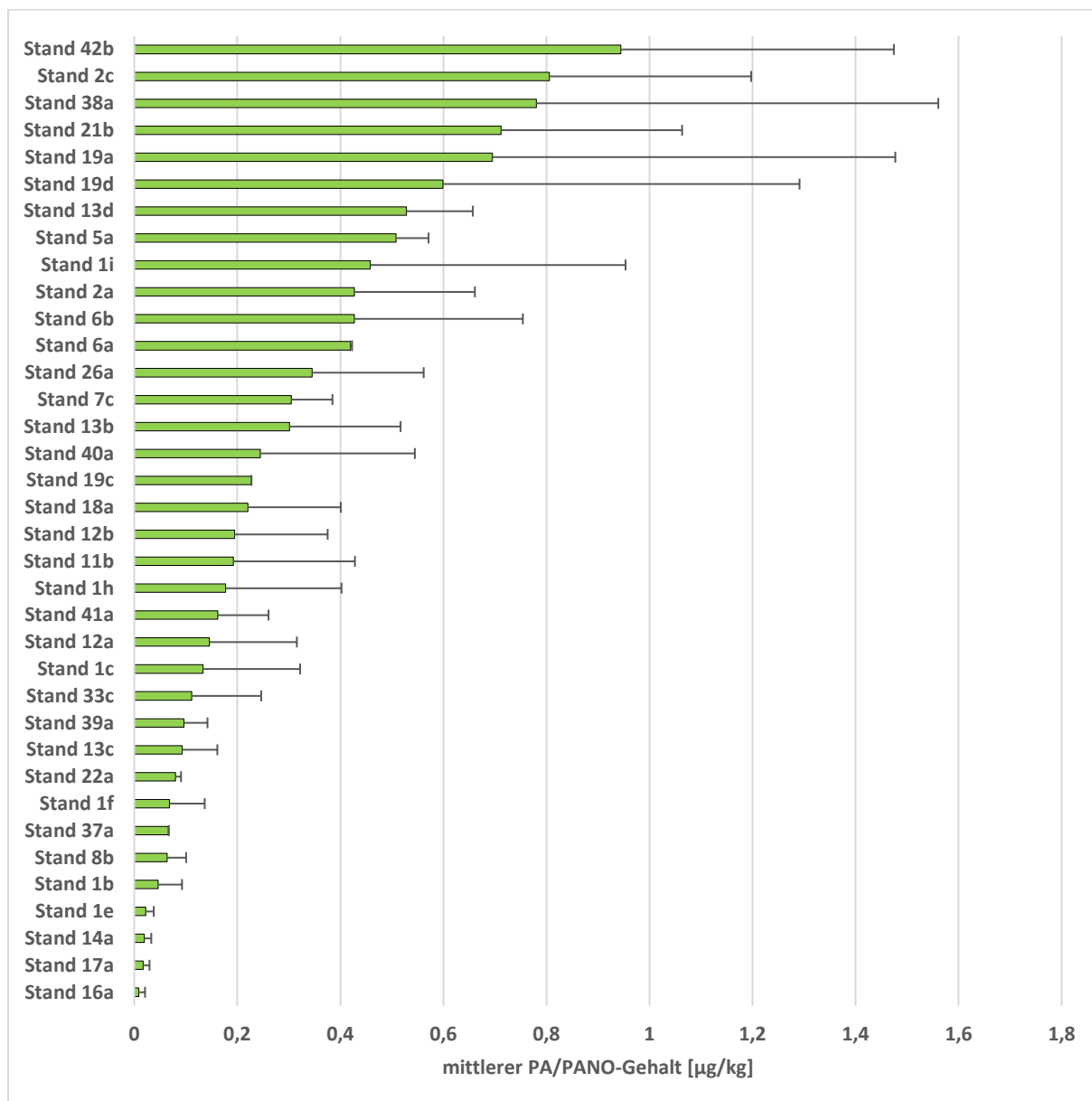


Abbildung 25: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Frühjahr 2016; (Gruppe  $> \text{LOD}$  bis  $\leq 1,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) mit Standardabweichungen  
 PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

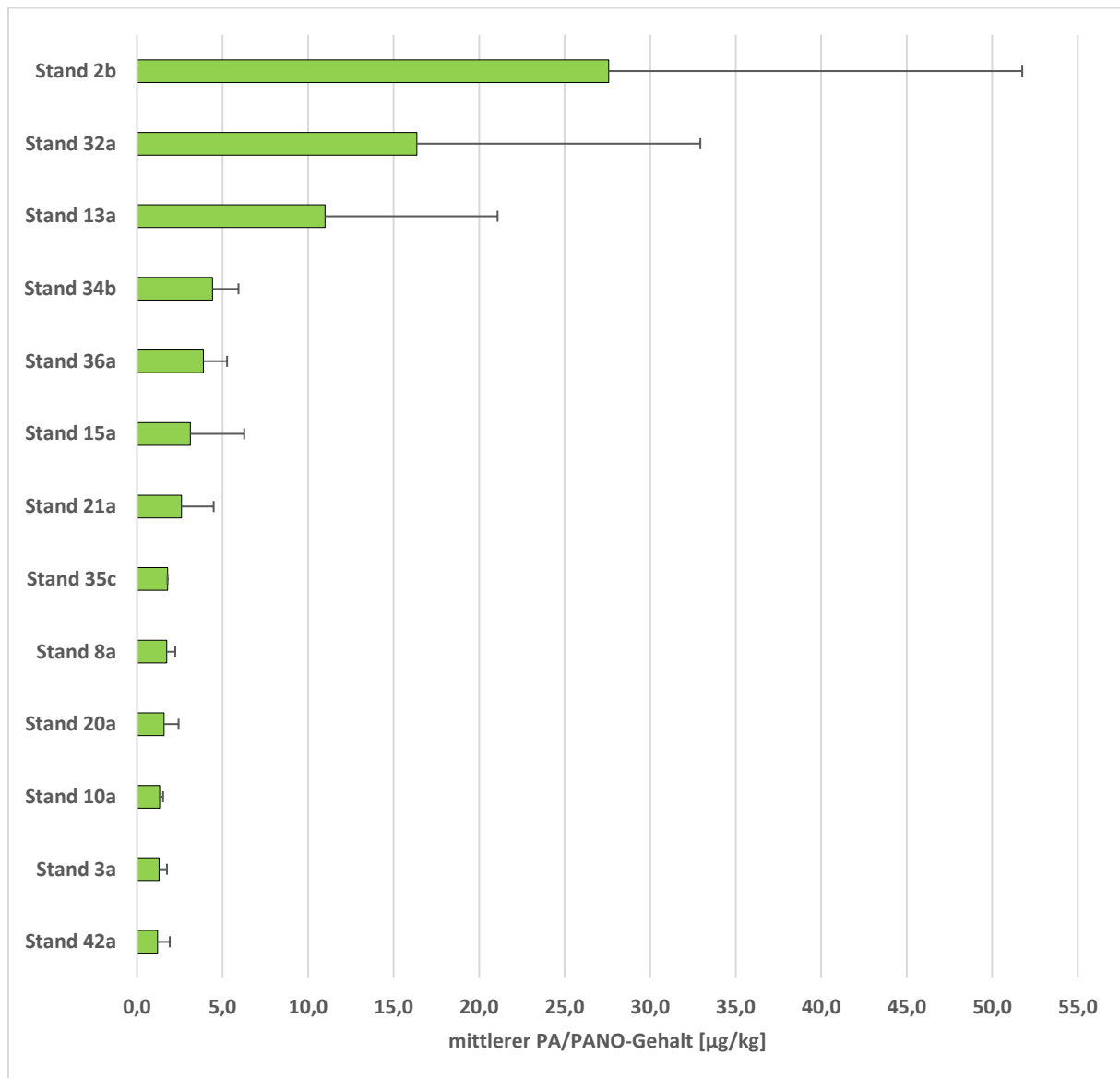


Abbildung 26: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Frühjahr 2016; (Gruppe >1,0 µg/kg) mit Standardabweichungen

PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

### 4.2.3 Ergebnisse der Sommerernte 2016

#### 4.2.3.1 Häufigkeiten unterschiedlicher Kontaminationsbereiche

Der Anteil der im Sommer 2016 gesammelten Proben umfasste mit 30 % des Gesamtprobenumfangs 133 Einzelproben. Davon waren 123 Proben (93 %) mit PA/PANO belastet. In 10 Honigen (7 %) wurden keine der 25 PA/PANO nachgewiesen.

Der Maximalwert der PA/PANO-Belastung betrug bei den Proben des Sommers 2016 3.313,3 µg/kg. Der Wert für den Median betrug 3,9 µg/kg, 95 % aller Proben wiesen Gehalte ≤ 181,4 µg/kg auf.

Abbildung 27 stellt die Häufigkeitsverteilung verschiedener PA/PANO-Gehalte für die getesteten Honige der Sommertracht 2016 dar. Der überwiegende Teil des beprobten Honigs (59 %) war mit PA/PANO-Gehalten zwischen > LOD und ≤ 10,0 µg/kg belastet. Jeweils 12 Honige (9 %) lagen in den Messbereichen von > 10,0 bis ≤ 25,0 µg/kg, > 25,0 bis ≤ 50,0 µg/kg und > 50,0 bis ≤ 140,0 µg/kg. 7 Honige (5 %) waren mit PA/PANO-Gehalten >140,0 µg/kg belastet.

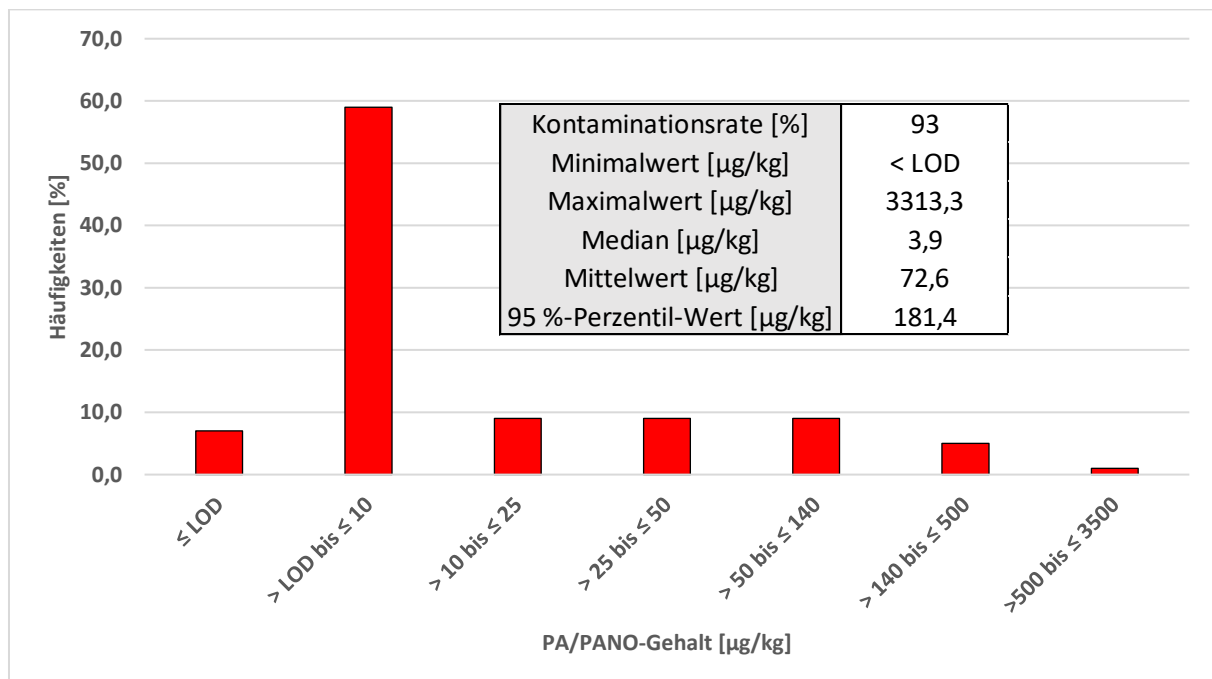


Abbildung 27: Vorkommen von PA/PANO in den Honigproben (n = 133) der Sommertracht 2016  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.3.2 Unterteilung nach Analytengruppe

Die Unterteilung der nachgewiesenen Analyten erfolgte in die PA/PANO des *Senecio*-Spektrums (Senecionin-Typ-PA/PANO und Retrorsin / Retrorsin-N-Oxid) und die PA/PANO vom Lycopsamin-Typ (*Boraginaceae*-Spektrum) (vgl. Kap. 4.2.1.2 und Kap. 4.2.2.2).

Gemeinsam lagen beide Gruppen in 59 % der positiven Proben vor. Ausschließlich mit PA/PANO vom *Senecio*-Spektrum waren 38 % des positiven Probenmaterials belastet. Insgesamt 3 % der positiven Proben waren ausschließlich mit PA/PANO des *Boraginaceae*-Spektrums belastet (Lycopsamin und Echimidin) (Abbildung 28).

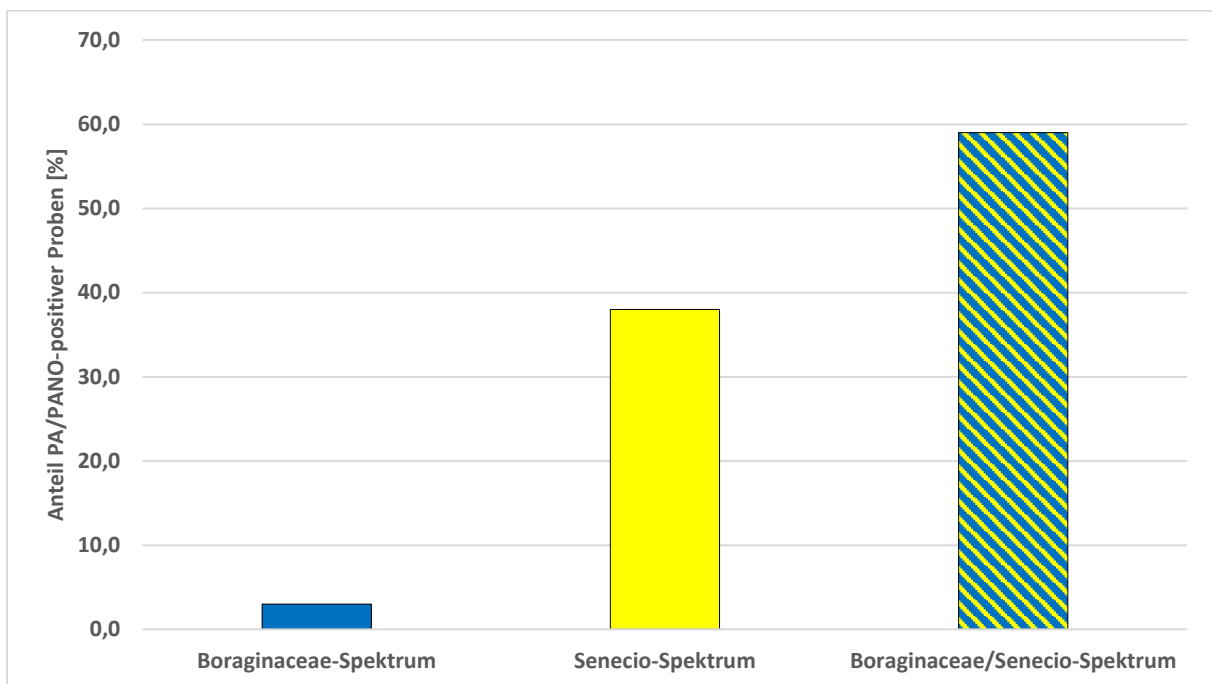


Abbildung 28: Verteilung der PA/PANO-Spektren in den 123 positiven Honigproben des Sommers 2016 (n = 133)  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.3.3 Einzelanalyten

Insgesamt konnten in den Honigen der Sommertracht 2016 17 der 25 als Standards zur Verfügung stehenden PA/PANO nachgewiesen werden.

Das am häufigsten nachgewiesene PA war Seneciphyllin (97 % der positiven Proben) gefolgt von Senecionin (96 % der positiven Proben). Seneciphyllin-N-Oxid und Senecionin-N-Oxid wurden in 84 % bzw. 87 % der positiven Proben nachgewiesen. Jacobin und Jacobin-N-Oxid traten in 67 % bzw. 59 % des positiven Probenmaterials auf, Retrorsin und Retrorsin-N-Oxid in 54 % bzw. 42 %.

Weniger häufig wurden Lycopsamin (23 % der positiven Proben), Lycopsamin-N-Oxid (33 % der positiven Proben), Erucifolin, Erucifolin-N-Oxid (32 % bzw. 23 % der positiven Proben), Echimidin, Echimidin-N-Oxid (33 % bzw. 11 % der positiven Proben), Intermedin, Intermedin-N-Oxid (7 % bzw. 13 % der positiven Proben) und Senkirkin (13 % der positiven Proben) nachgewiesen.

Die Analyten Monocrotalin, Monocrotalin-N-Oxid, Lasiocarpin, Lasiocarpin-N-Oxid, Heliotrin und Heliotrin-N-Oxid sowie Europin, Europin-N-Oxid wurden in keiner Probe detektiert.

Abbildung 29 zeigt die Häufigkeit positiver Untersuchungsergebnisse der Sommerernte 2016 für die 17 nachgewiesenen PA/PANO.

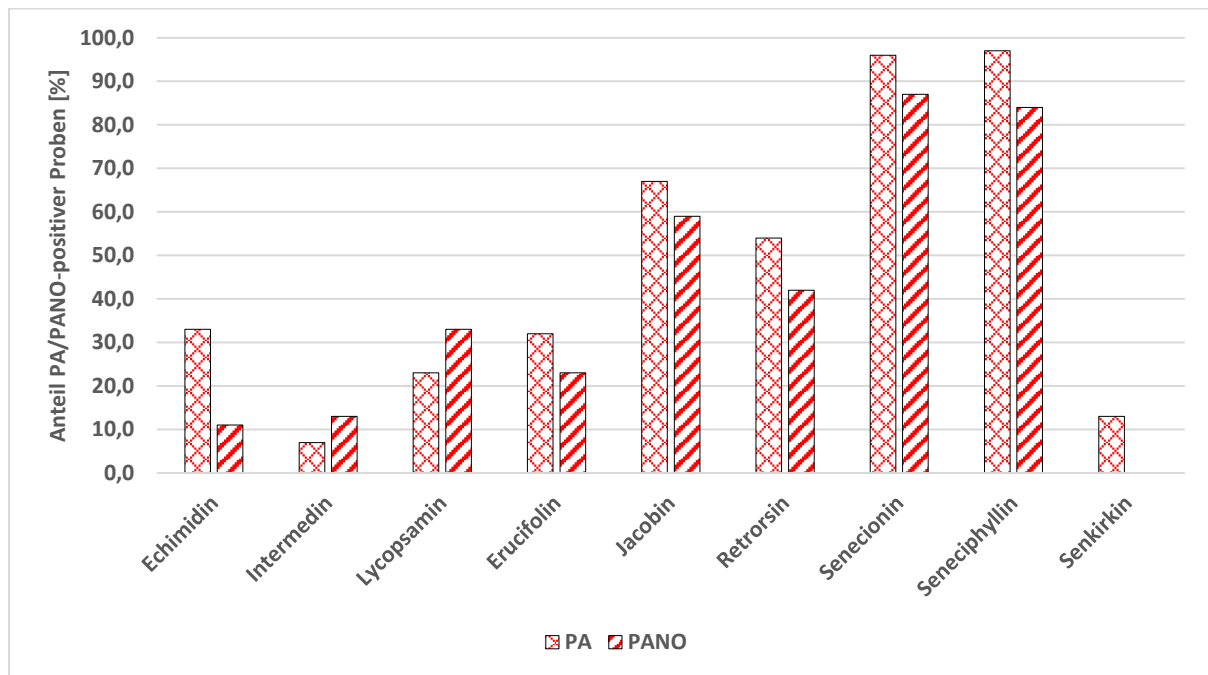


Abbildung 29: Häufigkeit der insgesamt 17 nachgewiesenen PA/PANO in den 123 positiven Honigproben des Sommers 2016 (n = 133)  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

Die PA/PANO des *Senecio*-Spektrums wurden in größeren Mengen im Probenhonig des Sommers 2016 nachgewiesen als die Vertreter aus dem Spektrum der *Boraginaceae* und *Eupatorium* spp.. Ihr Anteil (mittlere Belastung mit PA/PANO des *Senecio*-Spektrums: 71,9 µg/kg) betrug über 99 % der PA/PANO-Gesamtbelastung, die im Mittel 72,6 µg/kg betrug. Für die Vertreter des *Boraginaceae*-Spektrums wurden hingegen ausschließlich sehr geringe Gehalte gemessen. Die Werte für Echimidin, dem hauptsächlich nachgewiesenen Lycopsamin-Typ-PA (*Boraginaceae*-Spektrum), lagen in 75 % der Echimidin-positiven Proben < LOQ. Abbildung 30 zeigt anhand der Mittelwerte der nachgewiesenen PA/PANO die Konzentrationsunterschiede und den jeweilig mengenmäßigen Anteil an der Gesamtbelastung. Die hohen relativen Standardabweichungen (RSD) zeigen Gehaltsschwankungen von durchschnittlich 490 % innerhalb des Probenumfangs.

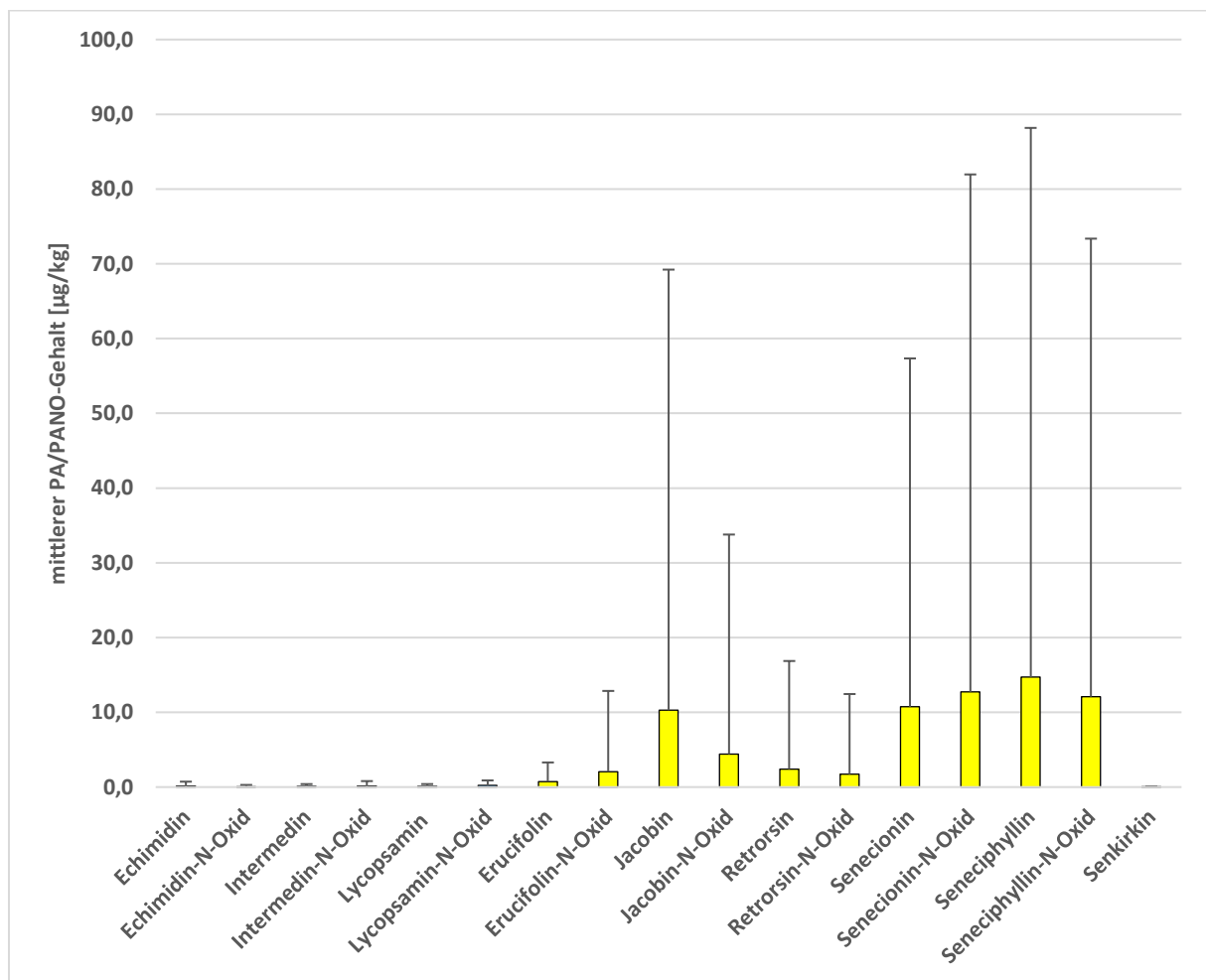


Abbildung 30: Mittlere PA/PANO-Gehalte der Proben des Sommers 2016 (n = 133) mit Standardabweichungen  
 gelb: *Senecio*-Spektrum-PA/PANO;  
 blau: *Boraginaceae*-Spektrum-PA/PANO  
 PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.3.4 Pyrrolizidinalkaloid-Gehalte an einzelnen Standorten

Insgesamt wurden im Sommer 2016 30 Standorte positiv auf PA/PANO getestet. Wie in den vorherigen Saisons wurden an einem Standort, wenn möglich, 3 Völker beprobt. Die sich ergebenden mittleren PA/PANO-Gehalte der Standorte sind in Abbildung 31 bis Abbildung 33 dargestellt. Die Bezeichnung der Standorte setzt sich aus der Listennummer des Imkers und dem Kennbuchstaben des jeweiligen Standortes zusammen.

In den Honigproben von 22 der insgesamt 30 positiven Standorte wurden PA/PANO-Gehalte bis zu  $\leq 10,0$  µg/kg gemessen (Abbildung 31). Werte zwischen  $> 10,0$  und  $\leq 100,0$  µg/kg

wurden in Honigen von 12 Standorten detektiert (Abbildung 32). An 6 Standorten wurden Werte  $> 100,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  gemessen (Abbildung 33).

Der Minimalwert, der an einem Standort als Durchschnittswert aus drei beprobten Völkern ermittelt wurde, betrug  $0,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ , der Maximalwert  $2.911,9 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Der Median aller Standortmittel betrug  $6,9 \mu\text{g}/\text{kg}$ .

Wie bei Proben des Sommers 2015 und des Frühjahrs 2016 schwankten auch bei den Honigen der Sommerernte 2016 PA/PANO-Gehalte zwischen den Völkern desselben Standorts. RSD-Werte bewegten sich zwischen 13 % und 126 % und lagen bei einem Median von 62 %.

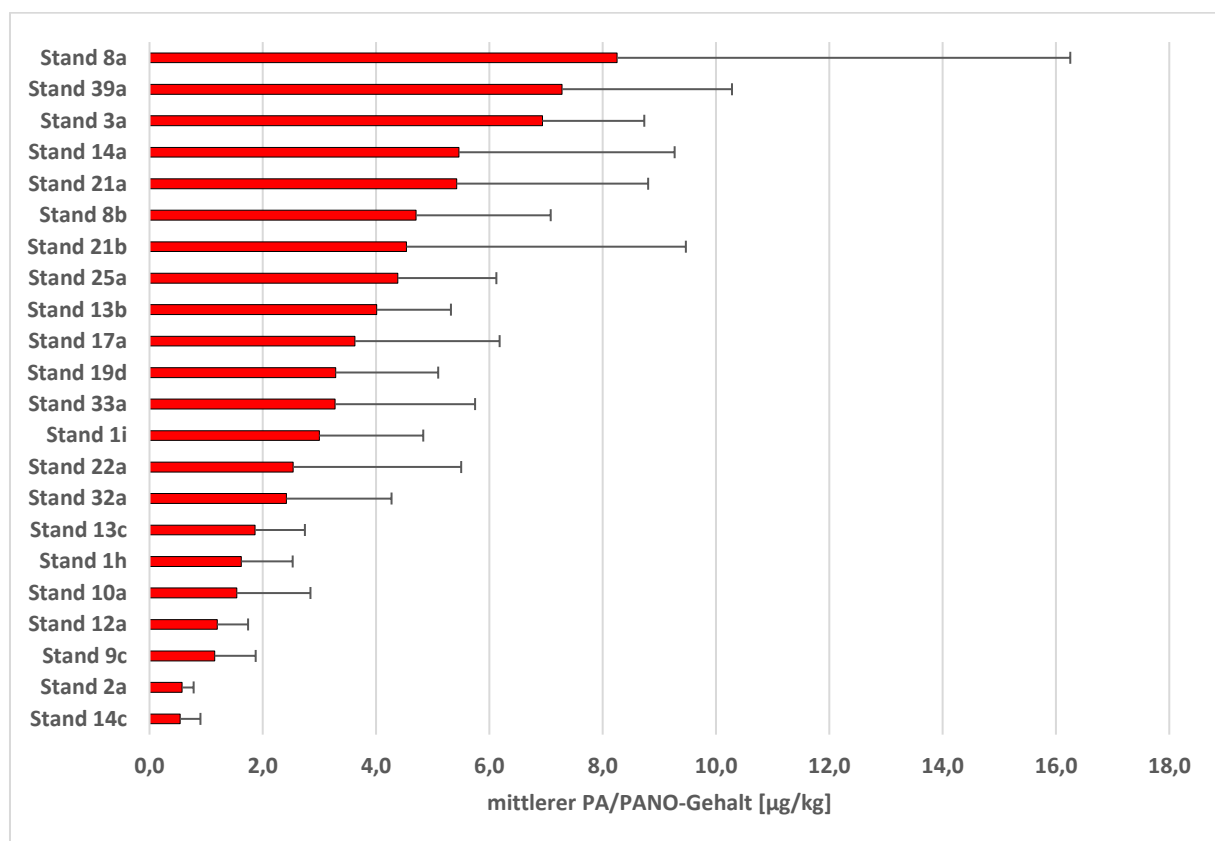


Abbildung 31: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2016; (Gruppe  $> \text{LOD}$  bis  $\leq 10,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) mit Standardabweichungen  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid



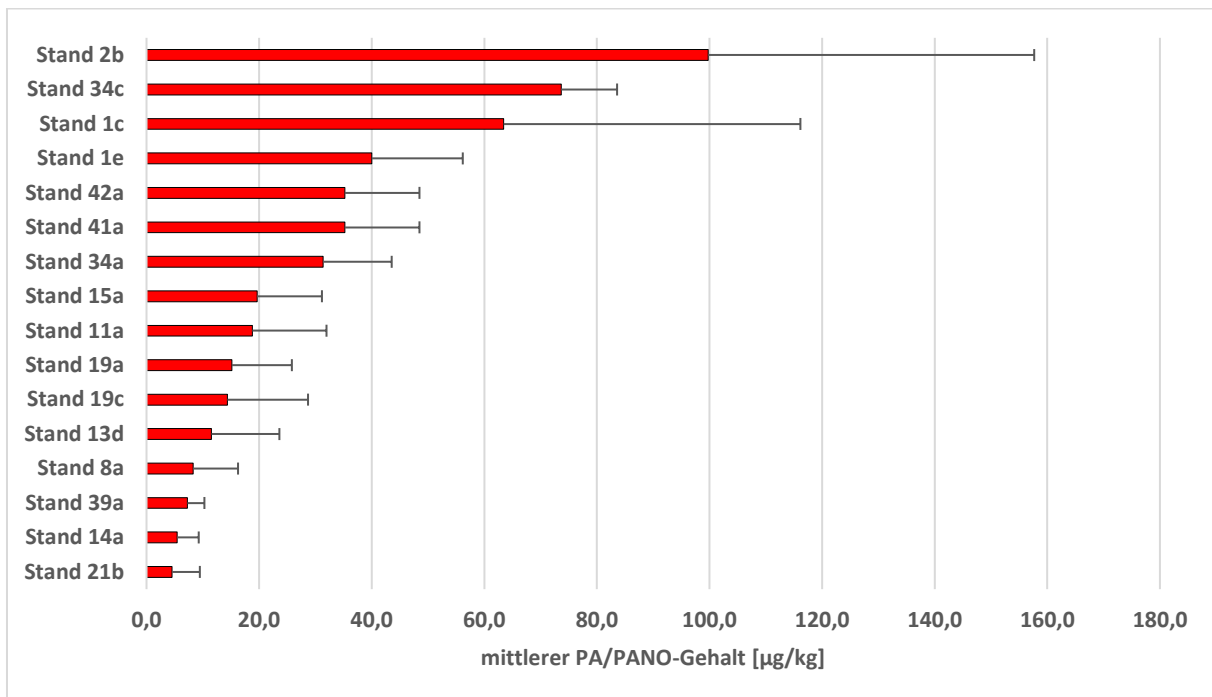


Abbildung 32: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2016; (Gruppe > 10 bis ≤ 100 µg/kg) mit Standardabweichungen  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

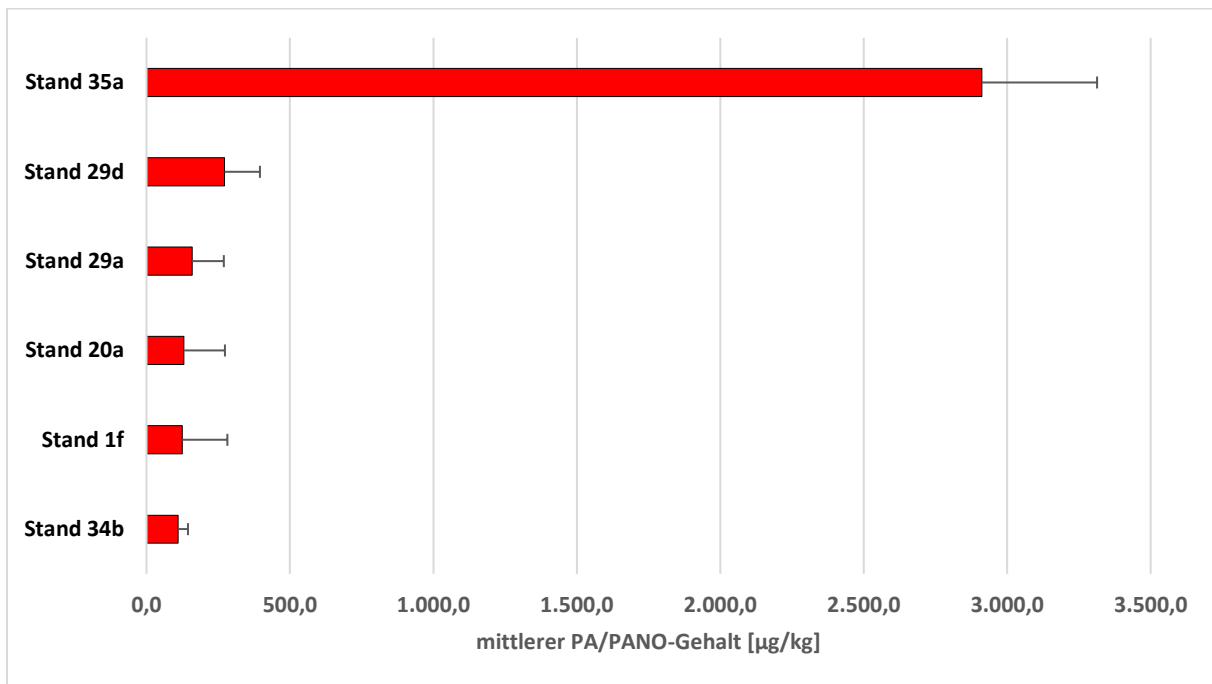


Abbildung 33: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2016; (Gruppe >100 µg/kg) mit Standardabweichungen  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

#### 4.2.4 Vergleich der Ergebnisse

Insgesamt wurden 436 Rohhonige direkt aus der Wabe beprobt und auf ihren Gehalt an 13 PA und 12 PANO untersucht. Die Untersuchung solcher Rohhonige lieferte Erkenntnisse über den Ursprung eines PA/PANO-Eintrags in Honig. Der Nachweis von Einzelsubstanzen ermöglichte neben der Erfassung des PA/PANO-Gesamtgehalts auch eine Beurteilung der unterschiedlichen PA/PANO-Spektren.

Nachfolgend werden jahreszeitliche Einflüsse auf die PA/PANO-Kontamination, sowie durch den Standort der Bienenvölker bedingte Gehaltsunterschiede dargestellt.

##### 4.2.4.1 Jahreszeitlicher Einfluss

Tabelle 17 vergleicht Parameter und Ergebnisse der beprobten Honige des Sommers 2015, des Frühjahrs 2016, sowie des Sommers 2016 miteinander. Der Probenumfang der einzelnen Saisons unterschied sich nur geringfügig, sodass eine gute Vergleichbarkeit gegeben war. Insgesamt wurden von den 436 untersuchten Honigen 89 % (389 Honige) positiv auf PA/PANO getestet. In allen drei Saisons gab es Proben, deren Gesamt-PA/PANO-Gehalt < LOD lag. Mit einem Anteil von 15 % des gesamten Probenumfangs (23 von 152 Proben) war diese Gruppe im Frühjahrshonig 2016 am größten, mit nur 7 % (10 Proben von 133) im Sommer 2016 am kleinsten.

Tabelle 17: Vergleich der drei beprobten Saisons (Sommer 2015, Frühjahr und Sommer 2016)

	n	PA/PANO- pos. [%]	Min [µg/kg]	Max [µg/kg]	Median [µg/kg]	Mittelwert [µg/kg]	95%- Perzentil [µg/kg]
<b>Sommer 2015</b>	151	91	< LOD	110,5	2,4	8,4	35,4
<b>Frühjahr 2016</b>	152	85	< LOD	59,4	0,2	1,7	6,1
<b>Sommer 2016</b>	133	93	< LOD	3313,3	3,9	72,6	181,4

LOD: Limit of detection, Nachweisgrenze

PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

Die Gesamt-PA/PANO-Gehalte verteilten sich über einen Kontaminationsbereich von 0,1 µg/kg bis zu 3.313,3 µg/kg

Verglichen mit den Proben der Frühjahrstracht wiesen beide Sommersaisons eine größere Anzahl belasteter Proben auf (91 % bzw. 93 %), die im Durchschnitt in höheren Kontaminationsbereichen belastet waren.

Der Hauptanteil der Frühjahrsproben 2016 wurde in einem Kontaminationsbereich  $\leq 10,0$  µg/kg PA/PANO-Gesamtbelastung (82 % aller Proben) gemessen. Nur 3 % aller Frühjahrsproben erbrachten Werte  $> 10,0$  µg/kg.

In den Honigen der Sommer 2015 und 2016 wurde eine größere Anzahl an Werten in höheren Gehaltsbereichen gemessen (Sommer 2015: 21 %  $> 10,0$  µg/kg; Sommer 2016: 33 %  $> 10,0$  µg/kg). Der Maximalwert des Sommers 2016 (3.313,3 µg/kg) war 30-fach höher als der des vorausgegangenen Sommers 2015 (110,5 µg/kg) und 56-fach höher als der Maximalwert des Frühjahrs 2016 (59,4 µg/kg).

Die PA/PANO des *Senecio*-Spektrums Senecionin, Senecionin-N-Oxid, Seneciphyllin, Seneciphyllin-N-Oxid, Jacobin, Jacobin-N-Oxid, Erucifolin, Erucifolin-N-Oxid sowie Retrorsin und Retrorsin-N-Oxid waren in den Honigen beider Sommersaisons die am häufigsten nachgewiesenen PA/PANO mit den höchsten Gehalten.

Im Sommer 2015 betrug PA/PANO aus dem *Senecio*-Spektrum mit einem mittleren Gehalt von 8,0 µg/kg 96 % an der Gesamtbelastung, im Sommer 2016 mit einem mittleren Gehalt von 71,9 µg/kg 99 %.

Verglichen mit beiden Sommersaisons traten Lycopsamin-Typ-PA/PANO aus dem Spektrum der *Boraginaceae* und *Eupatorium* spp. (Echimidin, Intermedin, Lycopsamin) in den Honigen des Frühjahrs 2016 häufiger auf (Frühjahr 2016: 46 % *Boraginaceae*-Spektrum) als in den Honigen der beiden Sommersaisons (Sommer 2015: 6,5 % *Boraginaceae*-Spektrum; Sommer 2016: 3 % *Boraginaceae*-Spektrum) (Abbildung 34).

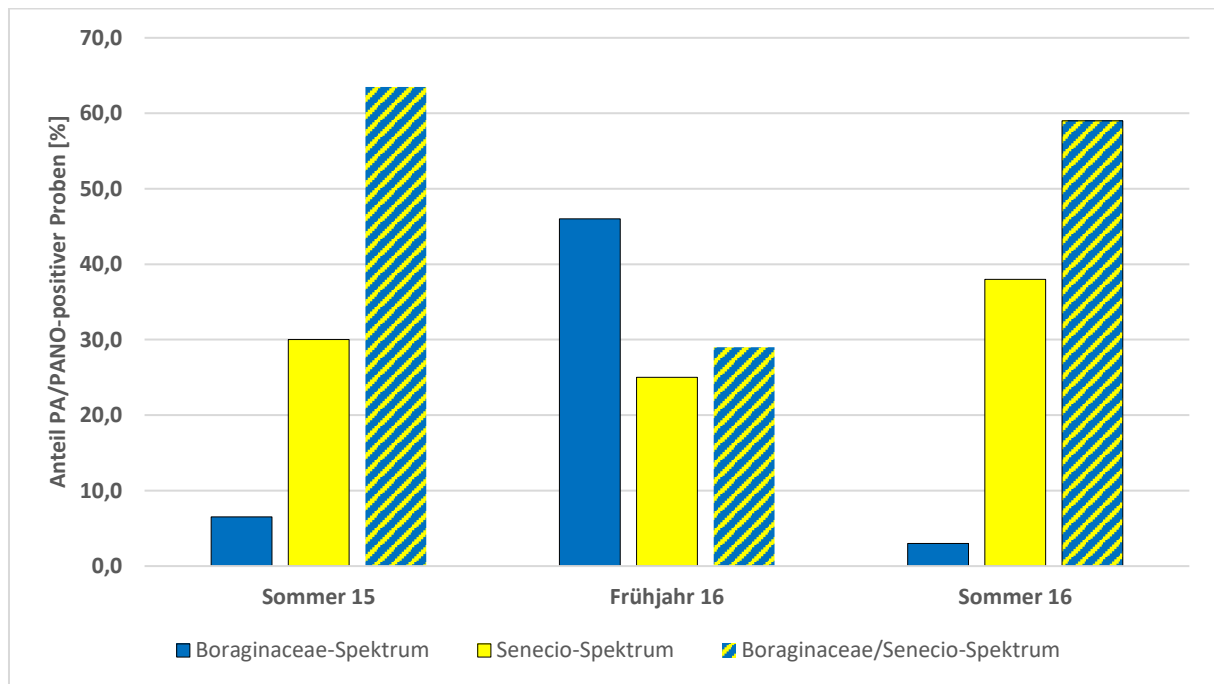


Abbildung 34: Verteilung der PA/PANO-Spektren in den Honigproben (Sommer 2015, Frühjahr 2016, Sommer 2016)  
PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

Obwohl sie im Vergleich zu Proben beider Sommersaisons seltener nachgewiesen wurden, wurden auch in den Honigen des Frühjahrs 2016 die PA/PANO des *Senecio*-Spektrums, v.a. Senecionin, Senecionin-N-Oxid, Seneciphyllin, Seneciphyllin-N-Oxid und Jacobin, Jacobin-N-Oxid, in höheren Kontaminationsbereichen im beprobten Honig gemessen als die Vertreter des *Boraginaceae*-Spektrums. 85 % der PA/PANO-Kontamination, die im Mittel 1,7 µg/kg betrug, wurden auch im Frühjahr durch PA/PANO des *Senecio*-Spektrums verursacht.

Abbildung 35 stellt den Anteil beider PA/PANO-Spektren an der Gesamtbelastung im Vergleich für die drei beprobten Saisons (Sommer 2015, Frühjahr 2016 und Sommer 2016) dar.

Neben Senecionin, Seneciphyllin, Jacobin und ihren N-Oxiden, die in Proben aus Frühjahr und auch Sommer den Hauptanteil an der Gesamtbelastung ausmachten, waren zusätzlich in den Proben der beiden Sommersaisons Retrorsin, Retrorsin-N-Oxid und Erucifolin, Erucifolin-N-Oxid vergleichsweise stark vertreten. Der Gehalt an PA/PANO des *Boraginaceae*-Spektrums schwankte im saisonalen Vergleich im Gegensatz zu den Werten für die *Senecio*-Spektrum-PA/PANO nur wenig. Der Gehalt der Vertreter des Lycopsamin-Typs lag im Mittel für Honige

des Sommers 2015 bei 0,4 µg/kg, für Honige des Frühjahrs 2016 bei 0,2 µg/kg und im Fall der Sommerhonige 2016 bei 0,7 µg/kg.

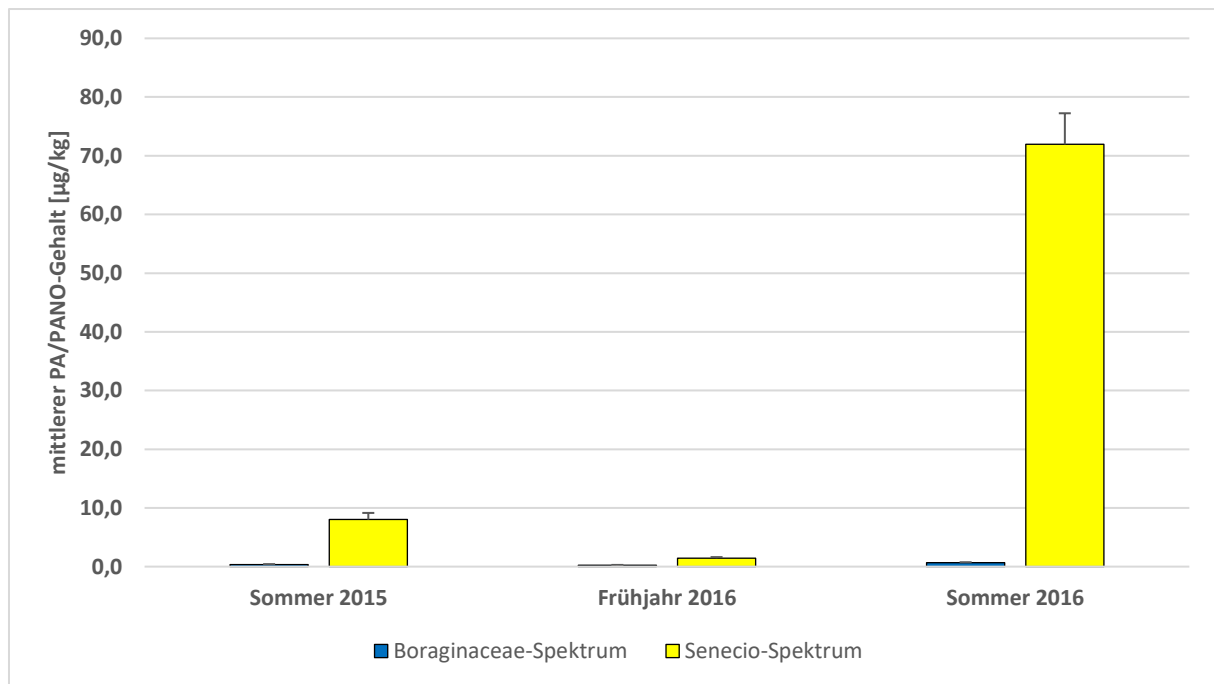


Abbildung 35: Vergleich aller drei Saisons (Sommer 2015, Frühjahr und Sommer 2016) anhand der mittleren Gehalte der PA/PANO vom Lycopsamin- und Senecionin-Typ

#### 4.2.4.2 Standorteinfluss

##### 4.2.4.2.1 „Inter“-Standort Unterschiede

Im Folgenden wird der Einfluss, den die geographische Lage eines Bienen-Standortes auf den PA/PANO-Gehalt des Honigs hat, dargestellt.

Abbildung 36, Abbildung 37 und Abbildung 38 zeigen separat nach beprobter Saison alle untersuchten Standorte mit positiven Ergebnissen und ihre Lage im Beprobungsgebiet Eutin und Umgebung.

Die jeweils höchstbelasteten Standorte sind in der Farbe der entsprechenden Saison hervorgehoben (Sommer 2015 (violett), Frühjahr 2016 (grün), Sommer 2016 (rot)).

In den Abbildungen sind zusätzlich Lage und Ausdehnung großer, monokulturartiger

Jakobskreuzkraut-Bestände gelb hervorgehoben. Informationen darüber stammen aus persönlichen Mitteilungen durch die Kreisverwaltung Ostholstein und geben den Stand zur Zeit des Sommers 2015 wieder (vgl. Kap. 3.1.1).

Die Nähe der betreffenden Standorte zu den kartierten Jakobskreuzkrautflächen ist in den Abbildungen durch rote Kreise mit drei Kilometer Durchmesser angegeben. Drei Kilometer ist die Entfernung, die Bienen auf Nektarsammelflügen zurücklegen (Liebig, 2011).

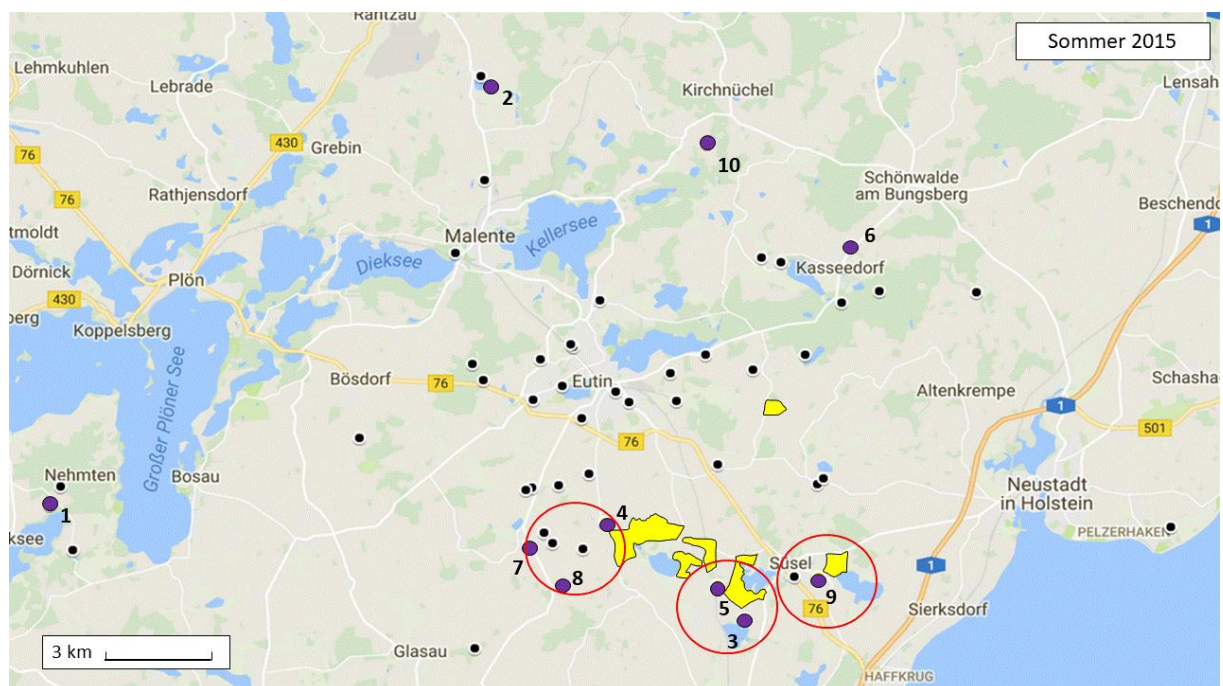


Abbildung 36: Lage der zehn am höchsten mit PA/PANO belasteten Standorte (violett gekennzeichnet) im Sommer 2015

gelb gekennzeichnet: kartierte JKK-Flächen

rote Kreise markieren den Sammelradius (3 km)

- 1) Stand 22d (45,7 µg/kg),
- 2) Stand 16a (41,7 µg/kg),
- 3) Stand 29b (39,9 µg/kg),
- 4) Stand 33a (26,3 µg/kg),
- 5) Stand 20a (24,6 µg/kg),
- 6) Stand 10a (24,6 µg/kg),
- 7) Stand 2b (22,7 µg/kg),
- 8) Stand 9b (21,9 µg/kg),
- 9) Stand 29a (18,8 µg/kg),
- 10) Stand 18a (17,0 µg/kg)



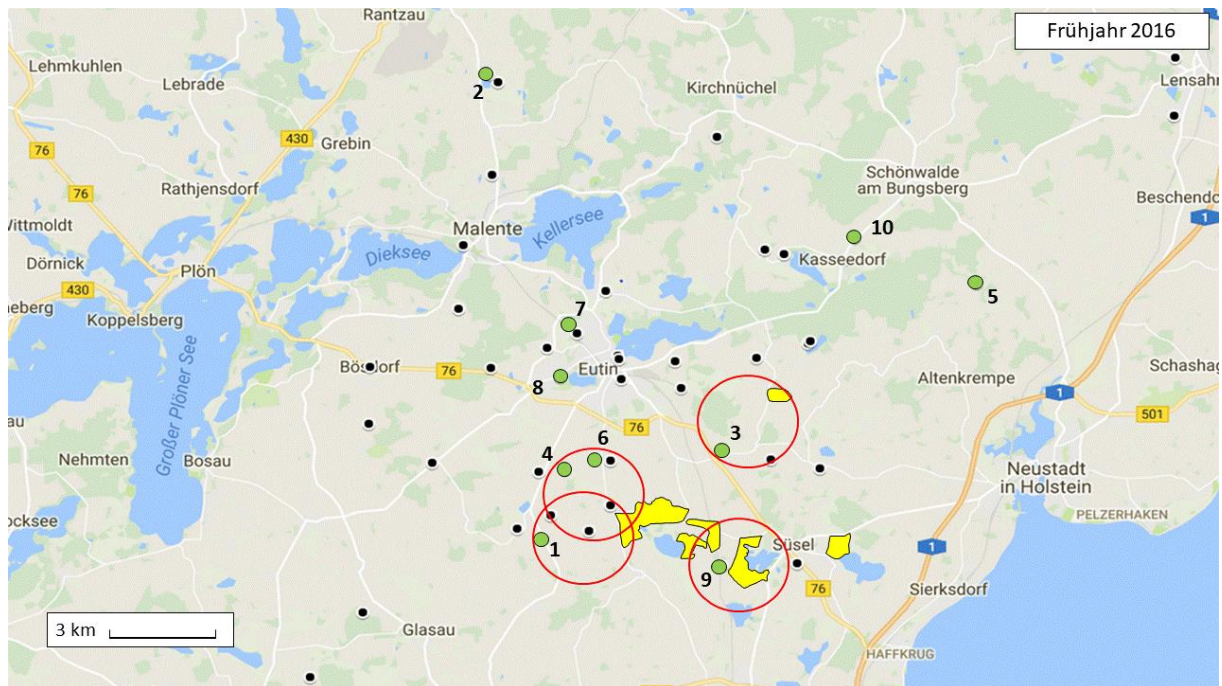


Abbildung 37: Lage der zehn am höchsten mit PA/PANO belasteten Standorte (grün gekennzeichnet) im Frühjahr 2016

gelb gekennzeichnet: kartierte JKK-Flächen

rote Kreise markieren den Sammelradius (3 km)

- 1) Stand 2b (27,6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 2) Stand 32a (16,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 3) Stand 13a (11,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 4) Stand 34b (4,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 5) Stand 36a (3,9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 6) Stand 15a (3,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 7) Stand 21a (2,6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 8) Stand 8a (1,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 9) Stand 22a (1,6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
- 10) Stand 10a (1,3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )



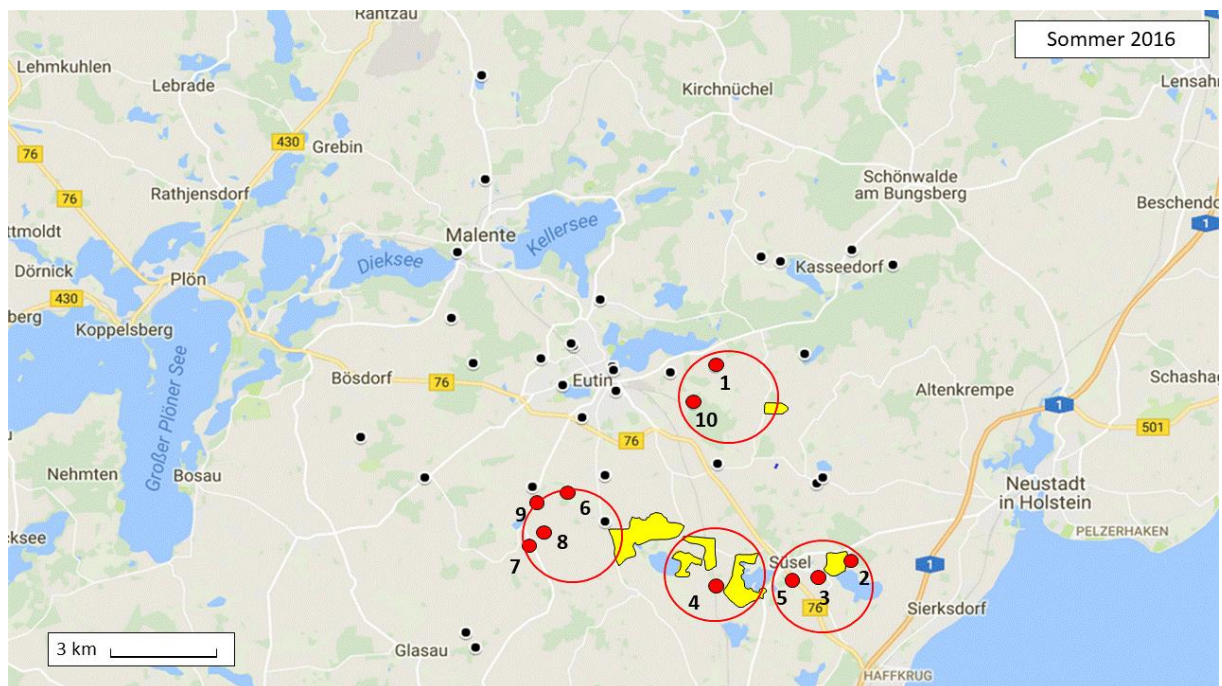


Abbildung 38: Lage der zehn am höchsten mit PA/PANO belasteten Standorte (rot gekennzeichnet) im Sommer 2016

gelb gekennzeichnet: kartierte JKK-Flächen

rote Kreise markieren den Sammelradius (3 km)

**1)** Stand 35a (2911,9 µg/kg)

**2)** Stand 29b (272,0 µg/kg)

**3)** Stand 29a (159,6 µg/kg)

**4)** Stand 22a (130,6 µg/kg)

**5)** Stand 1f (124,7 µg/kg)

**6)** Stand 34b (110,3 µg/kg)

**7)** Stand 2b (99,8 µg/kg)

**8)** Stand 1c (63,5 µg/kg)

**9)** Stand 3c (73,7 µg/kg)

**10)** Stand 1c (40,0 µg/kg)

Im Sommer 2015 lagen sechs der zehn Standorte mit PA/PANO-Höchstwerten in einem Umkreis von drei Kilometern um die gekennzeichneten Jakobskreuzkraut-Flächen. Die restlichen vier (u.a. die beiden Standorte mit den höchsten gemessenen PA/PANO-Werten > 40,0 µg/kg) lagen außerhalb einer für Bienen erreichbaren Flugdistanz zu den eingezeichneten Flächen.

Im Sommer 2016 wurden alle zehn Standort-Höchstwerte (40,0 µg/kg bis 2.911,9 µg/kg) an Standorten gemessen, die in erreichbarer Flugentfernung zu einem großen Jakobskreuzkraut-Bestand lagen.

Die Ernte des Frühjahrshonig 2016 fand zu einem Zeitpunkt statt, zu dem die kartierten Flächen noch nicht vollständig, einzelne Jakobskreuzkraut-Pflanzen aber bereits frühzeitig in Blüte standen. Fünf der zehn im Frühjahr 2016 untersuchten Standorte mit PA/PANO-Höchstgehalten wurden in erreichbarer Flugentfernung für Honigbienen zu einem großen Jakobskreuzkraut-Bestand gemessen. Allerdings lagen die Werte des Frühjahrs, wie bereits erwähnt (vgl. Kap. 4.2.2.1), in einem niedrigen Kontaminationsbereich (nur zwei Proben  $> 10,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ).

In allen Saisons lagen auch Standorte in Jakobskreuzkraut-Nähe, deren PA/PANO-Werte in niedrigen Kontaminationsbereichen lagen ( $\leq 1,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ).

Ebenso gab es auch in großer Entfernung zu Jakobskreuzkraut-Beständen Standorte, in deren Honigen Höchstgehalte der jeweiligen Saison gemessen wurden. Im Sommer 2015 lagen vier, im Frühjahr 2016 fünf der höchstbelasteten Standorte außerhalb der Reichweite zu den eingezeichneten Jakobskreuzkraut-Flächen.

#### **4.2.4.2.2 „Intra“-Standort Unterschiede**

Ein Vergleich aller Einzelproben (unterschiedliche Völker) eines Standortes zeigte zum Teil erheblich voneinander abweichende PA/PANO-Gehalte mit hohen relativen Standardabweichungen (RSD) bezogen auf den Mittelwert.

Die beprobten Völker eines Standortes waren in der Regel nur im Abstand weniger Meter voneinander positioniert. Dennoch ergaben sich RSD, die im Durchschnitt bei 66 % lagen. Die Schwankungen reichten von 10 % bis 141 % RSD, wobei unter 5 % der beprobten Standorte RSD  $< 32 \%$  aufwiesen. Unter den höher belasteten Honigen, insbesondere des Sommers 2016, traten dadurch Gehaltsschwankungen von  $> 400 \mu\text{g}/\text{kg}$  zwischen Honigen vom selben Standort auf.

Abbildung 39 zeigt die zehn Standorte mit den größten Gehaltsschwankungen zwischen den Völkern desselben Standorts beider Sommerernten (2015: violett und 2016: rot).

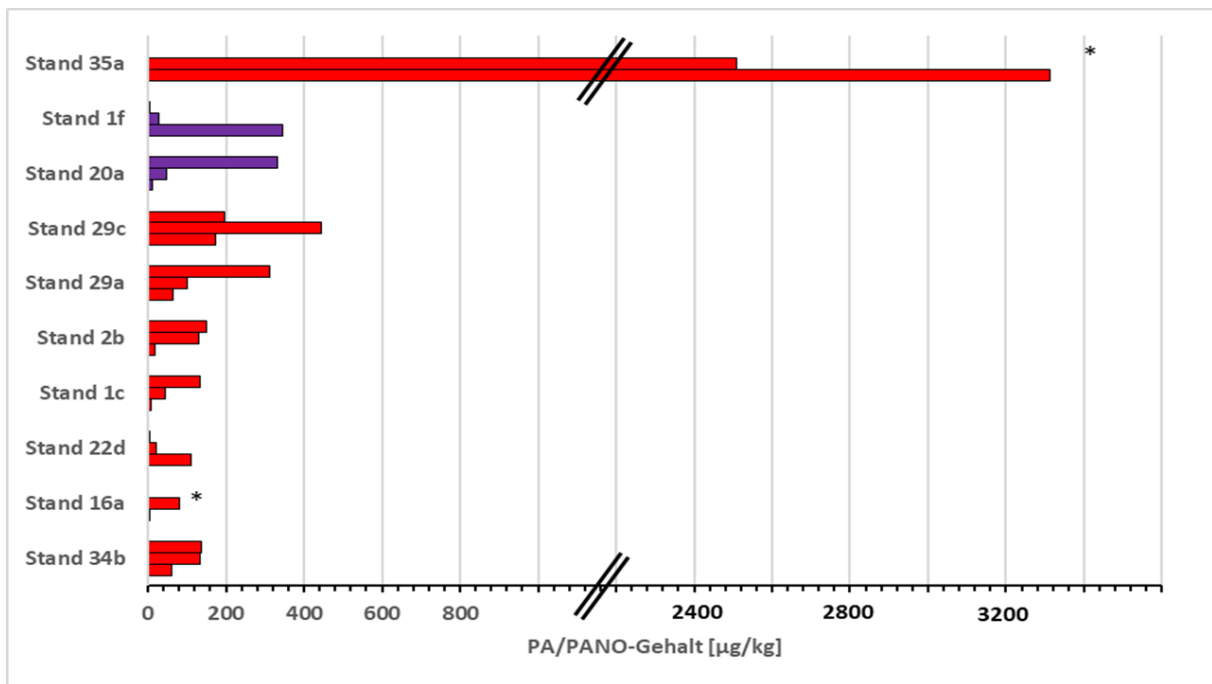


Abbildung 39: mittlere PA/PANO-Gehalte der jeweils beprobten Einzelvölker (n = 3) von den zehn Standorten mit den höchsten „Intra“-Standort Unterschieden  
Achsenunterbrechung bei 1200 µg/kg

\*: nur 2 Völker beprobt

violett: Sommer 2015

rot: Sommer 2016

PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

## 5 Risikobewertung

Die Gesamtexposition des Verbrauchers gegenüber PA/PANO ist grundsätzlich so gering wie möglich zu halten. Dabei gilt auf Basis nationaler Empfehlungen ein Richtwert (MOE 10.000) für eine maximale Tageszufuhr von 0,007 µg/kg KG/Tag (BfR, 2011). Für eine 60 kg schwere Person ergibt sich daraus eine maximale Tageszufuhr von 0,42 µg/Tag. Dabei werden alle PA/PANO als Summe zusammengefasst (vgl. Kap. 2.1.6).

Auf Grundlage des 2017 publizierten Referenzwertes der EFSA von 237 µg/kg KG/Tag (EFSA, 2017), ergäbe sich unter Anwendung eines MOE 10.000 ein Richtwert von 0,024 µg/kg KG/Tag, der damit ca. um den Faktor vier oberhalb des bisherigen Richtwertes liegt.

Abweichend von Mischhonigen können sich durch den Verzehr regional erzeugter Rohhonige andere PA/PANO-Expositionen ergeben (BfR, 2011), da der PA/PANO-Gehalt bei diesen Produkten nicht durch Mischung mit anderen Honigen nivelliert wird.

Solche Honige lokaler Anbieter, die nur von einem kleineren Teil der Bevölkerung verzehrt werden, dafür aber oft mit großer Markentreue und in hohen Mengen, können bei regionaler Dominanz PA/PANO-bildender Pflanzen zur Gefährdung der Verbraucher führen.

Der Verzehr von stark PA/PANO-belastetem Honig über einen langen Zeitraum ist im Fall üblicher Mischware eher unwahrscheinlich. Gerade aber für markentreue Kunden, die Imker selbst und deren Familien besteht ein höheres Risiko, wenn die entsprechenden Völker in PA/PANO-reichem Gelände Nektar und Pollen sammeln.

Gerade unter den Konsumenten regionaler Honige finden sich verstärkt ausgesprochen starke Honigesser. Sie wählen bewusst und oft mit großer Markentreue den Honig ihres „Hausimkers“ vor Ort und nehmen diesen abweichend von den Durchschnittswerten der Gesamtbevölkerung in größeren Mengen zu sich.

In Anbetracht der Ausrichtung dieser Studie auf regionalen Honig und seine Verbraucher (Erwachsene und Kinder) erschien es daher notwendig, neben den drei Gruppen Normalverzehrer, Vielverzehrer und erhöhter Kurzzeitverzehr (vgl. Kap. 2.3.2) eine vierte Gruppe „Honigextremverzehrer“ zu etablieren.

In der Gruppe der Honigextremverzehrer wird unabhängig davon, ob Kind oder Erwachsener

von einem absoluten Tagesverzehr von insgesamt 40 g Honig ausgegangen. Diese Menge entspricht etwa drei gut bestrichenen Honigbrotten täglich.

Tabelle 18 bis Tabelle 21 geben für verschiedene Verbrauchergruppen (Normalverzehr, Vielverzehr, erhöhter Kurzzeitverzehr und Honigextremverzehr) die täglich aufgenommenen PA/PANO-Mengen bei hoher Markentreue (worst case-Szenario, berechnet mit dem 95 %-Perzentil-Wert des PA/PANO-Gehalts der jeweiligen Saison) und geringer Markentreue (mean case-Szenario, berechnet mit dem mittleren PA/PANO-Gehalt der jeweiligen Saison) an. Kinder und Erwachsene werden getrennt voneinander betrachtet.

In den Tabellen finden sich ausgehend von der täglichen Gesamtaufnahme in den verschiedenen Szenarien die aufgenommene PA/PANO-Menge/kg KG/Tag und die davon abgeleiteten MOE-Werte. MOE-Werte < 10.000 in den Tabellen und gewählten Szenarien rot gekennzeichnet.

Zusätzlich sind in den Tabellen prozentuale Ausschöpfungen des TDI-Werts 0,1 µg/kg KG/Tag angegeben, bei dessen Überschreitung mit nicht-neoplastischen, akuten Schäden zu rechnen ist (COT, 2008; RIVM, 2005) (vgl. Tabelle 2 und Tabelle 3). Überschreitungen des TDI-Werts sind in den Tabellen ebenfalls rot gekennzeichnet.

Tabelle 18 und Tabelle 19 stellen die unterschiedlichen Verzehrsszenarien für Kinder dar. Es wird ersichtlich, dass für Kinder und Kleinkinder bei Verzehr von Honig aller beprobten Saisons ein Risiko chronischer neoplastischer Schäden in Abhängigkeit von Honigverbrauch und unterschiedlicher Markentreue (mean case/worst case) bestehen kann.

Tabelle 18: Expositionsszenarien für Kinder (durchschnittliches Körpergewicht 16,15 kg)

	Verbraucher	Verzehrsszenario	tägl. PA/PANO- Aufnahme [ng]	tägl. PA/PANO- Aufnahme [ng/kg KG]	TDI <sup>a</sup> [%]	MOE <sup>b</sup>
<b>Sommer 2015</b>	Normalverzehr*	mean case	13,6	0,8	0,8	83.433
		worst case	57,2	3,5	3,5	19.763
	Vielverzehr**	mean case	54,2	3,4	3,4	20.858
		worst case	228,8	14,2	14,2	<b>4.941</b>
	Kurzzeitverzehr***	mean case	184,3	11,4	11,4	<b>6.135</b>
		worst case	777,9	48,2	48,2	<b>1.453</b>
<b>Frühjahr 2016</b>	Normalverzehr*	mean case	2,8	0,2	0,2	404.624
		worst case	9,8	0,6	0,6	114.943
	Vielverzehr**	mean case	11,2	0,7	0,7	101.156
		worst case	39,3	2,4	2,4	28.736
	Kurzzeitverzehr***	mean case	38,0	2,4	2,4	29.752
		worst case	133,8	8,3	8,3	<b>8.452</b>
<b>Sommer 2016</b>	Normalverzehr*	mean case	117,3	7,3	7,3	<b>9.637</b>
		worst case	292,9	18,1	18,1	<b>3.860</b>
	Vielverzehr**	mean case	469,3	29,1	29,1	<b>2.409</b>
		worst case	1.171,7	72,6	72,6	<b>965</b>
	Kurzzeitverzehr***	mean case	1.595,5	98,8	98,8	<b>709</b>
		worst case	3.983,6	246,7	<b>246,7</b>	<b>284</b>

\*Normalverzehr: 0,1 g/kg KG/Tag (BfR, 2011)

\*\*Vielverzehr: 0,4 g/kg KG/Tag (BfR, 2011)

\*\*\*erhöhter Kurzzeitverzehr: 1,36 g/kg KG/Tag (BfR, 2011)

<sup>a</sup>TDI 0,1 µg/kg KG/Tag (COT, 2008; RIVM, 2005)

<sup>b</sup>MOE 10.000 (0,007 µg/kg KG/Tag) (EFSA, 2011; BfR, 2011)

mean case: geringe Markentreue (Mittelwert des PA/PANO-Gehalts)

worst case: hohe Markentreue (95%-Perzentil-Wert des PA/PANO-Gehalts)

(rot): Überschreitung TDI bzw. Unterschreitung MOE 10.000

Wie aus Tabelle 18 zu entnehmen, erhöht ein regelmäßiger Verzehr von Honig des Sommers 2016 in allen Verbrauchsszenarien, auch im Falle des Normalverzehrs ohne besondere Markentreue (mean case), das Krebsrisiko für Kinder und Kleinkinder. Der MOE im mean case lag für Normalverzehrer im Kindesalter mit 9.637 nur knapp, aber noch unterhalb des MOE 10.000. Vielverzehrer unterschreiten den MOE 10.000 bereits um das 4- bis 10-fache. Am stärksten betroffen sind „Honigextremverzehrer“ (Tabelle 19), die mit großer Markentreue (worst case) stark belasteten Honig der Sommersaison 2016 zu sich nehmen (über 60-fache Unterschreitung des MOE 10.000). Der für den mean case ohne besondere Markentreue für Honigextremverzehrer errechnete MOE lag um das 25-fache unterhalb des MOE 10.000.

Tabelle 19: Expositionsszenario für Kinder, Sonderfall „Honigextremverzehr“  
(durchschnittliches Körpergewicht 16,15 kg)

	„Honigextremverzehr“*	tägl. PA/PANO- Aufnahme [ng]	tägl. PA/PANO- Aufnahme [ng/kg KG]	TDI <sup>a</sup> [%]	MOE <sup>b</sup>
<b>Sommer 2015</b>	mean case	335,6	20,8	20,8	<b>3.369</b>
	worst case	1.416,8	87,7	87,7	<b>798</b>
<b>Frühjahr 2016</b>	mean case	69,2	4,3	4,3	16.337
	worst case	243,6	15,1	15,1	<b>4.641</b>
<b>Sommer 2016</b>	mean case	2.905,6	179,9	<b>179,9</b>	<b>389</b>
	worst case	7.254,8	449,2	<b>449,2</b>	<b>156</b>

\*„Honigextremverzehr“: 40 g/Tag

<sup>a</sup>TDI 0,1 µg/kg KG/Tag (COT, 2008; RIVM, 2005)

<sup>b</sup>MOE 10.000 (0,007 µg/kg KG/Tag) (EFSA, 2011; BfR, 2011)

mean case: geringe Markentreue (Mittelwert des PA/PANO-Gehalts)

worst case: hohe Markentreue (95%-Perzentil-Wert des PA/PANO-Gehalts)

(rot): Überschreitung TDI bzw. Unterschreitung MOE 10.000

In den Verbrauchsszenarien für Honigextremverzehrer sowie bei einer erhöhten Kurzeitaufnahme stark belasteten Honigs der Sommersaison 2016 mit großer Markentreue (worst case, Kurzzeitverzehr) kann für Kinder durch die Überschreitung des TDI (0,1 µg/kg KG/Tag) (vgl. Kap. 2.1.4.2) auch das Risiko einer akuten Vergiftung bestehen. Die TDI-Werte waren in diesen Fällen zwischen 1,8- bis 4,5-fach überschritten (Tabelle 18 und Tabelle 19)

Auch Honig der Sommersaison 2015 kann im Fall des Honigextremverzehrs (mean case: dreifache Unterschreitung des MOE 10.000; worst case: 12-fache Unterschreitung des MOE 10.000) und Vielverzehrs mit hoher Markentreue (worst case: zweifache Unterschreitung des MOE 10.000) zur Erhöhung des Krebsrisikos (vgl. Kap. 2.1.4.3) bei Kindern und Kleinkindern beitragen.

Die Gefahr akuter Vergiftungen besteht in keinem Szenario mit Honig des Sommers 2015, da es zu keiner Unterschreitung des TDI kam. Bei erhöhtem Kurzzeitverzehr führen die aufgenommenen PA/PANO-Mengen durch Honig der Sommersaison 2015 zu einer Unterschreitung des MOE 10.000. Die Tagesdosis, der Kinder in diesem Szenario in mean und worst case ausgesetzt sind, liegt jedoch im Hinblick auf akute Schäden unterhalb des TDI von 0,1 µg/kg KG/Tag.

Für Honig des vergleichsweise schwach belasteten Frühjahrs 2016 wurde, abgesehen vom Szenario Honigextremverzehr mit besonderer Markentreue (2,2-fache Unterschreitung des MOE 10.000) (Tabelle 19), der MOE 10.000 in keinem Szenario unterschritten.

Tabelle 20 und Tabelle 21 stellen entsprechend der Vorgehensweise bei Kindern die Expositionsszenarien für die unterschiedlichen Verbrauchergruppen innerhalb der erwachsenen Bevölkerung dar.

In fast allen Szenarien für den Verzehr von Sommerhonig 2016 führt die aufgenommene PA/PANO-Menge zu einer Unterschreitung des MOE 10.000. Selbst bei Normalverzehr ist im Fall besonderer Markentreue zu hochbelastetem Sommerhonig 2016 (worst case) von einem erhöhten Risiko auszugehen (MOE 7.719). Im Szenario Vielverzehr von Sommerhonig 2016 wird der MOE 10.000 um das 2,9- bis 7-fache unterschritten (Tabelle 20).



Tabelle 20: Expositionsszenarien für erwachsene Verbraucher (durchschnittliches Körpergewicht 60 kg)

	Verbraucher	Verzehrsszenario	tägl. PA/PANO-Aufnahme [ng]	tägl. PA/PANO-Aufnahme [ng/kg KG]	TDI <sup>a</sup> [%]	MOE <sup>b</sup>
Sommer 2015	Normalverzehr*	mean case	25,2	0,4	0,4	166.865
		worst case	106,3	1,8	1,8	39.526
	Vielverzehr**	mean case	140,9	2,4	2,4	29.797
		worst case	595,1	9,9	9,9	<b>7.058</b>
	Kurzzeitverzehr***	mean case	442,9	7,4	7,4	<b>9.481</b>
		worst case	1.870,2	31,2	31,2	<b>2.246</b>
Frühjahr 2016	Normalverzehr*	mean case	5,2	0,1	0,1	809.249
		worst case	18,3	0,3	0,3	229.885
	Vielverzehr**	mean case	29,1	0,5	0,5	44.509
		worst case	102,3	1,7	1,7	41.051
	Kurzzeitverzehr***	mean case	91,3	1,5	1,5	45.980
		worst case	1.870,2	31,2	31,2	13.062
Sommer 2016	Normalverzehr*	mean case	217,9	3,6	3,6	19.273
		worst case	544,1	9,1	9,1	<b>7.719</b>
	Vielverzehr**	mean case	1.220,4	20,3	20,3	<b>3.442</b>
		worst case	3.047,0	50,8	50,8	<b>1.378</b>
	Kurzzeitverzehr***	mean case	3.835,4	63,9	63,9	<b>1.095</b>
		worst case	9.576,3	159,6	<b>159,6</b>	<b>439</b>

\*Normalverzehr: 0,05 g/kg KG/Tag

\*\*Vielverzehr: 0,28 g/kg KG/Tag

\*\*\*Kurzeitaufnahme: 0,88 g/kg KG/Tag (BMEL, 2008)

<sup>a</sup>TDI 0,1 µg/kg KG/Tag (COT, 2008; RIVM, 2005)

<sup>b</sup>MOE 10.000 (0,007 µg/kg KG/Tag) (EFSA, 2011; BfR, 2011)

mean case: geringe Markentreue (Mittelwert des PA/PANO-Gehalts)

worst case: hohe Markentreue (95%-Perzentil-Wert des PA/PANO-Gehalts)

(rot): Überschreitung TDI bzw. MOE 10.000

Im Fall der erhöhten Kurzeitaufnahme stark belasteten Sommerhonigs 2016 (worst case Kurzzeitverzehr: 0,16 µg/kg KG/Tag) ist zusätzlich mit akuten Vergiftungsschäden zu rechnen (1,6-fache Überschreitung des TDI von 0,1 µg/kg KG/Tag (Tabelle 20).

Besonders für die Gruppe der Honigextremverzehrer erhöht sich bei Verzehr von Sommerhonig 2016 das Risiko möglicher Langzeitschäden, insbesondere wenn mit hoher Markentreue stark belasteter Honig konsumiert wird. In diesem „worst case“ liegt der MOE mit einem Wert von 579 um das 17-fache unter dem MOE 10.000 (Tabelle 21).

Tabelle 21: Expositionsszenario für erwachsene Verbraucher, Sonderfall  
„Honigextremverzehr“ (durchschnittliches Körpergewicht 60 kg)

	„Honigextremverzehr“*	tägl. PA/PANO- Aufnahme [ng]	tägl. PA/PANO- Aufnahme [ng/kg KG]	TDI <sup>a</sup> [%]	MOE <sup>b</sup>
<b>Sommer 2015</b>	mean case	335,6	5,6	5,6	12.515
	worst case	1.416,8	23,6	23,6	<b>2.964</b>
<b>Frühjahr 2016</b>	mean case	69,2	1,2	1,2	60.694
	worst case	243,6	4,1	4,1	17.241
<b>Sommer 2016</b>	mean case	2.905,6	48,4	48,4	<b>1.445</b>
	worst case	7.254,8	<b>120,9</b>	<b>120,9</b>	<b>579</b>

\*Verzehr „Honigextremverzehr“: 40 g/Tag

<sup>a</sup>TDI 0,1 µg/kg KG/Tag (COT, 2008; RIVM, 2005)

<sup>b</sup>MOE 10.000 (0,007 µg/kg KG/Tag) (EFSA, 2011; BfR, 2011)

mean case: geringe Markentreue (Mittelwert des PA/PANO-Gehalts)

worst case: hohe Markentreue (95%-Perzentil-Wert des PA/PANO-Gehalts)

(rot): Überschreitung TDI bzw. MOE 10.000

Bei Honigextremverzehr (Sommer 2016) ergibt sich im mean case eine siebenfache Unterschreitung des MOE 10.000. Für die Verbrauchergruppe der Honigextremverzehrer wurde zusätzlich bei hoher Markentreue (worst case) der TDI-Wert (0,1 µg/kg KG/Tag) 1,2-fach überschritten (0,12 µg/kg KG/Tag) (Tabelle 21).

Auch durch Honig des Sommers 2015 kommt es in einigen Szenarien durch die aufgenommene PA/PANO-Menge zu einer Unterschreitung des MOE 10.000. Für Honigextremverzehrer und Vielverzehrer mit besonderer Markentreue zu stark PA/PANO-belasteten Honigen (worst case) besteht laut EFSA (2011) ein erhöhtes Risiko neoplastischer Schäden (worst case Vielverzehrer: 1,4-fache Unterschreitung des MOE 10.000; worst case Honigextremverzehrer dreifache Unterschreitung des MOE 10.000).

Ein Risiko akuter Schäden besteht für erwachsene Verbraucher in keinem der dargestellten Expositionsszenarien mit Sommerhonig 2015. Auch bei erhöhter Kurzeitaufnahme wird der TDI-Wert (0,1 µg/kg KG/Tag) nicht überschritten (Tabelle 20).

Der Verzehr von Frühjahrshonig 2016 stellt in keinem abgebildeten Szenario ein erhöhtes Risiko für Erwachsene dar.

Auch Honigextremverzehr führt zu keiner Unterschreitung des MOE 10.000 (Tabelle 21).

Auch im Fall erhöhter Kurzzeltaufnahme wird der MOE 10.000 weder im mean case noch im worst case unterschritten (Tabelle 20). Somit besteht für Erwachsene bei Verzehr von Frühjahrshonig weder ein Risiko akuter nicht-neoplastischer Schäden noch chronischer neoplastischer Langzeitfolgen.

## 6 Diskussion

### 6.1 Methodik

Sämtliche 436 in der vorliegenden Studie untersuchten Honige stammten aus einem auf wenige Kilometer begrenzten Einzugsgebiet (Radius um Eutin, Ostholstein, ca. 16 km) (vgl. Abbildung 9). Die Proben wurden direkt „ab Beute“ aus einzelnen Bienenvölkern entnommen und auf ihren Gehalt an 25 PA/PANO untersucht.

Ziel dieser Studie war es, ein detailliertes Bild zu Ursprung und Ausmaß der PA/PANO-Belastung in Honigen eines regional begrenzten Gebiets zu erhalten und daran anschließend eine Risikobewertung für den erzeugten Honig durchzuführen.

Untersucht wurde das Vorkommen von PA/PANO aus dem Spektrum der *Senecio* spp., *Borago* spp., *Echium* spp., *Eupatorium* spp. und *Symphytum* spp. Speziell das Jakobskreuzkraut hat im Beprobungsgebiet Eutin, Ostholstein, in den letzten Jahren eine massive Ausbreitung erfahren.

Tabelle 22 zeigt eine Auswahl an Studien zum Vorkommen von PA/PANO in Honigen verschiedener Herkunft ab dem Jahr 2004.

Tabelle 22: Daten ausgewählter Studien zu PA/PANO-Vorkommen in Honig

Studie	Probenart und -umfang [n]	positiv [n]	Herkunft	mittlerer PA/PANO-Gehalt [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Max.-Gehalt [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Methode	Anzahl untersuchte PA/PANO
Beales et al. (2004)	Handelsware (63)	44	Australien	k.A.	2.200	LC-MS/MS (Target)	9
Betteridge et al. (2005)	Handelsware (9)	7	Neuseeland	790	2.850	LC-MS/MS (Target)	7
Kempf et al. (2008)	Handelsware (216)	19	EU/nicht EU	56	120	GC-MS (Summe)	Summe**
Dübecke et al. (2011)	Handelsware (696)	654	EU/nicht EU	26	267	LC-MS/MS (Target)	10
	Rohware (2.839)	1.9310	Südamerika	67	1.087		
	Rohware (381)	248	EU	26	225		
BfR (2011)	Handelsware (1.324)	1.205	EU/nicht EU	21,4	267	LC-MS/MS (Target)	24
	Rohware (13.280)	9.827		55	3.298		
Kast et al. (2014)	Rohware (71)	38	Schweiz	3,6	55	LC-MS/MS (Target)	18
Neumann und Huckauf (2016)	Rohware (86)	46	Schleswig-Holstein	34	604	LC-MS/MS (Target)	28

PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid

\*\*Summe von PA/PANO des Heliotridin- und Retronecinstyps

Von den in Tabelle 22 aufgeführten Studien bezog sich lediglich die Untersuchung durch Neumann und Huckauf (2016) auf ein ähnlich begrenztes Gebiet, die ebenso wie die vorliegende Studie durch die massive Ausbreitung von Jakobskreuzkraut angeregt wurde. Die Proben stammten ebenso aus dem Raum Schleswig-Holstein, umfassten jedoch mit 86

Honigen deutlich weniger Proben.

Die Herkunft der Proben war bei den übrigen in Tabelle 22 aufgeführten Arbeiten über ein größeres Einzugsgebiet verteilt. Die Honigproben umfassten neben Honigen aus Australien, Neuseeland, Südamerika und der Schweiz vor allem nicht weiter spezifizierte Ursprungsländer (EU und Nicht-EU Länder).

Bis auf die Untersuchungen von Dübecke et al. (2011) und den vom BfR bewerteten Handels- und Rohhonigen wurden in den übrigen in Tabelle 22 aufgeführten Studien deutlich weniger Proben analysiert als in der vorliegenden Studie. Eine Spezifizierung der Herkunft der beprobten Honige über die Benennung des Ursprungslands hinaus war in keiner Studie mit einer vergleichbaren Anzahl Proben gegeben.

Durch die hohe Probenanzahl ( $n = 436$ ) aus einem eng begrenzten Gebiet liefert die vorliegende Studie sehr detaillierte Informationen über das Ausmaß und die Verteilung der PA/PANO-Belastung der beprobten Honige.

Durch Anwendung der LC-MS/MS-Target-Methode zum Nachweis von Einzel-PA/PANO konnten in der vorliegenden Studie über die verschiedenen PA/PANO-Spektren auf die an der Kontamination beteiligten Pflanzen Rückschlüsse gezogen werden.

Ein Vorteil der Target-Methode gegenüber der PA/PANO-Summenbestimmung, wie sie beispielsweise Kempf et al. (2008) zur Erfassung aller PA/PANO vom Heliotridin- und Retronecintyp in Honigen nutzten, ist ihre hohe Spezifität und der Informationsgewinn über die Identität einzelner PA/PANO (Merz und Schrenk, 2016). Allerdings kann es durch den Mangel an kommerziell verfügbaren Standardsubstanzen prinzipiell zu einer Unterschätzung des Gehalts an PA/PANO kommen.

Aufgrund der Verfügbarkeit war auch die Zahl der in dieser Studie eingeschlossenen PA/PANO auf 25 Analyten beschränkt. So wurden weitere *Senecio*-typische PA wie z.B. Jacolin oder Integerrimin (Teuscher und Lindequist, 2010) nicht erfasst. Lediglich die Untersuchung durch Neumann umfasste mit 28 PA/PANO drei Analyten mehr (Trichodesmin, Senecivernin, Senecivernin-N-Oxid). Alle anderen genannten Studien (Tabelle 22) ermittelten PA/PANO-Summengehalte aus weniger Einzelanalyten (sieben bis 24).

In der vorliegenden Studie wurde eine Zuordnung der Honige zu Frühjahrs- oder Sommertracht vorgenommen. In keiner der Vergleichsstudien (Tabelle 22) war eine entsprechende Unterscheidung nach Erntezeitpunkt gegeben.

Neumann und Huckauf (2016) untersuchten zwar explizit Sommerhonige auf deren Gehalt an PA/PANO, eine Gegenüberstellung mit Analysedaten aus Frühjahrshonigen fand jedoch nicht statt. Daher konnten in der vorliegenden Studie mittels Informationen über Einzelanalyten und PA/PANO-Spektren aus der Target-Methodik und der Unterscheidung der Proben nach Erntetermin beispielgebende saisonale Vergleiche zwischen Honigen der Frühjahrs- und Sommertracht gezogen werden (vgl. Kap. 6.2).

Ein weiterer Unterschied zu Neumann und Huckauf (2016) und den übrigen in Tabelle 22 aufgeführten Untersuchungen besteht darin, dass in der vorliegenden Studie der Probenhonig direkt aus der Bienenwabe gewonnen wurde. Die Honige anderer Studien waren entweder bereits gemischte Handelsware oder Rohhonige. Dabei handelte es sich aber, auch im Fall der Rohhonige, immer um mehr oder weniger starke Mischungen aus Honig verschiedener Völker und Standorte.

Die Probengewinnung „direkt ab Beute“ ermöglichte es, die Herkunft des Honigs und damit der PA/PANO-Kontamination bis auf die Ebene einzelner Bienenvölker zurückzuverfolgen. Die erhaltenen Daten konnten so mit Informationen über die botanische Umgebung an den Standorten der Bienen abgeglichen werden und insbesondere hinsichtlich Schwankungen des PA/PANO-Gehalts je Standort beurteilt werden.

Im Vergleich zu den mittleren PA/PANO-Gehalten (21,4 µg/kg bis 67,0 µg/kg) aus Studien von Kempf et al. (2008), Dübecke et al. (2011), BfR (2011) und Neumann und Huckauf (2016) lagen insbesondere mittlere PA/PANO-Gehalte des Sommerhonigs 2016 der vorliegenden Studie (72,7 µg/kg) in einem ähnlichen Bereich. Die Untersuchung Schweizer Rohhonige (Kast et al., 2014) ergab mit 3,6 µg/kg deutlich niedrigere Mittelwerte, ähnlich den Gehalten des Sommerhonigs 2015 (8,4 µg/kg) und des Frühjahrshonigs 2016 (1,7 µg/kg) dieser Studie. Besonders hoch hingegen waren PA/PANO-Gehalte neuseeländischer Honige (Betteridge et al., 2005), wobei dieser Untersuchung sehr wenige Proben zugrunde lagen (Tabelle 22).

Hohe maximale PA/PANO-Gehalte im dreistelligen µg/kg-Bereich ergaben sich neben dem Maximalwert des Sommerhonigs 2016 der vorliegenden Studie (3.313 µg/kg) in den angeführten Studien vor allem für Honige aus Australien, Neuseeland und Südamerika (Beales et al., 2004; Betteridge et al., 2005; Dübecke et al., 2011), oder waren geographisch nicht

weiter spezifiziert (EU/nicht-EU) (Tabelle 22). Ein ebenfalls relativ hoher Maximalwert ergab sich aus den Analysen schleswig-holsteinischen Honigs (Neumann und Huckauf, 2016). Dieser ergab mit 604,0 µg/kg einen Gehalt, der zwischen den PA/PANO-Maximalwerten beider Sommersaisons der vorliegenden Studie lag. Dies zeigt, wie stark PA/PANO-Belastungen von Honigen saisonal beeinflusst werden können.

## 6.2 Saisonal bedingte Schwankungen

In der vorliegenden Studie wiesen 89 % der getesteten Honige PA/PANO-Gehalte von 0,1 µg/kg bis 3313 µg/kg auf (vgl. Kap. 4.1).

In den Proben wurden charakteristische PA/PANO nachgewiesen, die als Marker für verschiedene PA/PANO-bildende Pflanzen dienen können. Die Einteilung erfolgte in der vorliegenden Studie wie beschrieben in PA/PANO des Lycopsamin-Typs aus dem Spektrum der *Boraginaceae* und der Gattung *Eupatorium* und PA/PANO aus dem Spektrum der *Senecio* spp.

Hauptsächliche Verursacher der PA/PANO-Kontamination waren in allen drei Saisons PA/PANO aus dem *Senecio*-Spektrum (Sommer 2015 86 % der Gesamtbelastung, Frühjahr 2016 85 % der Gesamtbelastung, Sommer 2016 99 % der Gesamtbelastung) (vgl. Kap. 4.2.4).

Die Honige beider Sommersaisons waren mit höheren Gehalten belastet als Proben des Frühjahrs (vgl. Kap. 4.2.4.1, Tabelle 17). Im beprobten Gebiet kommt wegen der starken Ausbreitung (Krauskopf, 2012) insbesondere Jakobskreuzkraut als Verursacher der Kontamination in Frage. Honigproben der Frühjahrstracht waren verglichen mit Sommerhonig häufiger mit PA/PANO vom Lycopsamin-Typ belastet (vgl. Abbildung 34)

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten, dass Sommer und Frühjahrshonige von einem PA/PANO-Carry-Over aus Jakobskreuzkraut betroffen sind. Der Meinung, Bienen würden Jakobskreuzkraut prinzipiell meiden, muss aufgrund der Ergebnisse dieser Studie zweifellos widersprochen werden.

Durch den Termin der Hauptblütezeit von Jakobskreuzkraut um den 25. Juli ist der PA/PANO-Eintrag aus dieser Pflanze besonders für Sommerhonige von Bedeutung (Haeupler et al., 2000). Zum Produktionszeitpunkt des Frühjahrshonigs im Mai und Juni stehen die Jakobskreuzkraut-Bestände noch nicht in voller Blüte. Allerdings blühen bereits zu dieser Zeit



einzelne Pflanzen, wie eigenen Beobachtungen zur Zeit der Probennahme im Frühjahr 2016 in Ostholstein zeigten.

Die Bienen verfügen zu dieser Zeit noch über ein breites Angebot alternativer Trachtpflanzen, wodurch die Gesamtbelastung der Frühtracht mit PA/PANO aus dem *Senecio*-Spektrum im Vergleich zur Sommertracht niedrig ist. Die Jakobskreuzkraut-Bestände gewinnen Ende Juli zum Höhepunkt ihrer Blühphase an Bedeutung und bieten den Bienen eine Ausweichmöglichkeit, wenn das Nektarangebot anderer Pflanzen zunehmend knapper wird (Rosenkranz et al., 2012).

Der frühere Blütezeitpunkt einiger Pflanzen aus der Familie der *Boraginaceae* kann für das häufigere Vorkommen PA/PANO des Lycopsamin-Typs in Honigen der Frühtracht im Vergleich zu Honigen der Sommertracht verantwortlich sein. Der Nachweis von Echimidin, Lycopsamin und Intermedin deutet darauf hin, dass Nektar und Pollen aus *Echium* spp. wie beispielsweise *Echium vulgare* (Natternkopf), *Borago officinalis* (Borretsch) oder *Symphytum officinale* (Beinwell), aber auch von *Eupatorium cannabinum* (Gewöhnlicher Wasserdost) in den Frühjahrshonig eingetragen wurde.

Möglicherweise wäre Natternkopf, der vielerorts noch immer als gute Bienenweide gilt (Dübecke et al., 2011), oder Borretsch in Betracht zu ziehen. Natternkopf ist eine bienenanlockende Pflanze und blüht noch vor den *Senecio* spp. von Anfang Mai bis in den August, ebenso wie Borretsch, der durchgehend von Mai bis September blüht.

Wasserdost, dessen PA/PANO Spektrum ebenfalls Analyten vom Lycopsamin-Typ umfasst (Echimidin, Intermedin und Lycopsamin), blüht gemeinsam mit Jakobskreuzkraut erst von Juli bis September (Teuscher und Lindequist, 2010). Ein Eintrag von PA/PANO aus Wasserdost in Honig der Frühjahrstracht ist somit durch den Zeitpunkt der Blühphase weitgehend ausgeschlossen.

Der saisonale Vergleich ergab zudem Unterschiede im Verhältnis zwischen PA und ihren korrespondierenden PANO. Generell lagen die nachgewiesenen PANO-Gehalte in der vorliegenden Studie unterhalb der PA-Gehalte. Auffällig war, dass direkt nach Probeneingang untersuchte Honige (Sommerhonige 2016) PANO in relativ zu PA höheren Gehalten enthielten als andere Honige.

Laut Betteridge et al. (2005) verfügt Honig über eine natürliche Kapazität, PANO zu PA zu reduzieren. Dübecke et al. (2011) zogen Lagerungseffekte auf das PA/PANO-Verhältnis in

Pollen und Honig in Betracht, die den Gehalt an PANO reduzierten. In Honig waren die beobachteten Effekte stärker als in Pollen, sodass die Menge an PA diejenige an PANO um bis das 17-fache überschritt. Gottschalk et al. untersuchten in einer Studie den Einfluss von Lagerungseffekten auf den Gehalt an PA/PANO in frisch geerntetem Honig. Der Gehalt an PANO sank im Honig in den ersten Wochen nach Ernte rapide ab und lag 16 Wochen nach der Ernte im Bereich der Nachweisgrenze. Im Gegensatz dazu blieb der PA-Gehalt im Honig stabil (Gottschalk et al., 2018).

### **6.3 Geographisch bedingte Schwankungen**

#### **6.3.1 „Inter“-Standort Unterschiede**

Vergleiche der mittleren PA/PANO-Gehalte verschiedener Standorte ließen für die Honige der beiden Sommersaisons 2015 und 2016 einen Zusammenhang zwischen der Entfernung des jeweiligen Standorts zu großen Jakobskreuzkraut-Beständen und dem PA/PANO-Belastungsgrad der dort geernteten Honige erkennen (Abbildungen 36 – 38).

Die zehn Standorte, deren Honige die Höchstgehalte der beiden beprobten Sommersaisons ergaben, lagen zum überwiegenden Teil in für Bienen erreichbarer Nähe zu stark bewachsenen Jakobskreuzkraut-Flächen. Diese Ergebnisse bestätigen, dass Honigbienen Nektar und Pollen von Jakobskreuzkraut sammeln, wenn es sich in erreichbarer Entfernung von nicht mehr als drei Kilometern vom Stock befindet (Casaulta et al., 1985; Liebig, 2011).

Die Nähe eines Standortes zu Jakobskreuzkraut-Beständen bedeutet jedoch nicht zwangsläufig höhere PA/PANO-Gehalte im untersuchten Honig. In allen Saisons lagen auch Standorte in Jakobskreuzkraut-Nähe, deren PA/PANO-Summengehalte in einem Bereich  $\leq 10 \mu\text{g}/\text{kg}$  lagen.

Ebenso wenig sind hohe Belastungswerte durch eine große Entfernung zu Jakobskreuzkraut-Beständen auszuschließen. Im Sommer 2015 lagen vier, im Frühjahr 2016 fünf der höchstbelasteten Standorte außerhalb der Reichweite zu den kartierten Jakobskreuzkraut-Flächen (Abbildungen 36 – 38).

Allerdings ist die Verbreitung von Jakobskreuzkraut auch nicht allein auf die kartierten Monokulturen beschränkt. Vereinzelt und mit geringerer Besatzdichte kommt die Pflanze im gesamten Probengebiet vor.

Eine PA/PANO-Kontamination des Sommerhonigs könnte durch Aufstellung der Völker in ausreichender Entfernung (> 3 km) eingedämmt, jedoch nicht garantiert werden. Einen absolut PA/PANO-freien Honig ohne Untersuchung zu garantieren, ist den Ergebnissen zufolge auch bei entsprechender Entfernung zu großen Jakobskreuzkraut-Beständen nicht möglich.

### 6.3.2 „Intra“-Standort Unterschiede

Im „Intra“-Standortvergleich wurden in der vorliegenden Studie PA/PANO-Gesamtgehalte der Proben verschiedener Bienenvölker am selben Standort miteinander verglichen. Derartige Untersuchungen von Nachbarvölkern wurden in der vorliegenden Studie erstmalig durchgeführt und ergaben starke PA/PANO-Gehaltschwankungen zwischen den Völkern eines Standorts (vgl. Kap. 4.2.4.2.2). Selbst Völker, deren Flugöffnungen nur weniger als einen Meter voneinander entfernt lagen, zeigten ein individuell stark unterschiedliches Sammelverhalten in Bezug auf PA/PANO-bildende Pflanzen, wodurch es zu den teils enormen Schwankungen des PA/PANO-Gehalts kommen konnte (Abbildung 39).

Bienen sind, nachdem sie eine Nektarquelle ausgewählt haben, nahezu blütentreu (Casaulta et al., 1985). Dies bedeutet, dass sie die ausgesuchte Nektarquelle immer wieder anfliegen und Informationen darüber auch an die übrigen Bienen ihres Volkes weitergeben. Daher hängt es neben der Verfügbarkeit alternativer Blütenpflanzen offensichtlich auch vom individuellen „Geschmack“ eines Bienenvolkes ab, ob PA/PANO-haltiger Nektar und Pollen verstärkt in den Honig eingetragen wird.

Das „Verursachervolk“ einer PA/PANO-Kontamination aus der Honigproduktion auszuschließen, ist kaum möglich. Die im Sammelumfeld der Völker vorherrschenden Pflanzen und die Wahl oder Ansaat einer geeigneten Bienenweide bestimmen über die Qualität des geernteten Honigs. Jedoch sind, was die Standortunterschiede deutlich machen, PA/PANO-Eintragungen durch Einzelvölker nie auszuschließen (vgl. Kap. 4.2.4.2).

Eine selektivere Auswahl von Rohhonigen, die direkt in den Verkauf gelangen oder zur Herstellung von Mischhonigen vorgesehen sind, bietet zurzeit die einzige Möglichkeit zur Prävention einer PA/PANO-Exposition des Verbrauchers. Vor Ort einsetzbare Schnelltests könnten ein frühzeitiges Eingreifen in die Produktionskette ermöglichen und Kontaminationen

durch einzelne stark PA/PANO-belastete Honige zu vermeiden (vgl. Kap. 2.1.7.3). Solche Verfahren, z.B. auf Basis von Enzymimmunoassays (Oplatowska et al. 2014), stehen gegenwärtig nicht für eine Routineanwendung zur Verfügung.

Eine Senkung des PA/PANO-Gehalts in hochbelasteten Rohhonigen durch Mischung mit weniger belasteten Honigen erreichen zu wollen, muss kritisch gesehen werden. Durch eine solche Verdünnung werden die PA/PANO nicht eliminiert, sondern nur breiter auf eine größere Zahl an Konsumenten verteilt. Das widerspricht dem Grundsatz, die Exposition des Verbrauchers gegenüber potentiell kanzerogenen Substanzen so gering wie möglich zu halten (Verordnung (EWG) Nr. 315/93).

Für die meisten Imker bietet die von Neumann und Huckauf (2016) vorgeschlagene Möglichkeit zur Minimierung des PA/PANO-Risikos, den Honig bereits vor der Jakobskreuzkrautblüte abzuschleudern, keine befriedigende Lösung, da dieses Vorgehen für viele Imker eine nahezu komplette Einbuße des Sommerhonigs zur Folge hätte (Morris, 2015). Außerdem zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie auch in Proben des Frühjahrshonigs, der noch vor der Hauptblütezeit von *J. vulgaris* geerntet wurde, in Einzelfällen relevante Gehalte an PA/PANO (vgl. Kap. 4.2.2). Als Maßnahme zur Risikominimierung sollte Honig in Verdachtsfällen auf PA/PANO-Belastung untersucht werden.

Für Imker besteht die Möglichkeit, durch die Standortwahl größere Jakobskreuzkraut-Bestände zu umgehen, oder mit den Völkern zu wandern. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen jedoch, dass diese Maßnahmen keine Gewährleistung für unbelasteten Honige darstellen.

## 6.4 Risikobewertung

Die Risikobewertung für ostholsteinische Honige der vorliegenden Studie wurde auf Basis von Mittelwerten der PA/PANO-Gehalte (mean case) und 95 %-Perzentil-Werten (worst case) für die einzelnen Saisons durchgeführt (vgl. Kap. 2.3.2).

Der worst case ist dabei für einzelne Imker/Imkerfamilien und Konsumenten mit hoher Markentreue als realistisches Szenario anzusehen, da Honige mit ggf. sehr hohen PA/PANO-

Gehalten vor allem bei Imkern mit wenigen Völkern durchaus unvermischt und über einen längeren Zeitraum verzehrt werden.

Die Risikobewertung zeigte, dass durch den Verzehr der untersuchten PA/PANO-belasteten Honige ein erhöhtes Risiko neoplastischer sowie nicht neoplastischer Schäden bestehen kann. Dies ist abhängig von Erntezeitpunkt und den unterschiedlichen Verzehrsgewohnheiten der Verbraucher.

Sommerhonige waren höher und häufiger mit PA/PANO belastet als Honige der Frühjahrssaison (vgl. Kap. 4.2.4) und bedeuten daher ein höheres Risiko. Zum Teil wurden in den Verzehrsszenarien mit Sommerhonig beider Jahrgänge PA/PANO-Gehalte erreicht, die auch bei durchschnittlichen Verzehrsgewohnheiten gesundheitsschädlich wirken können (Tabellen 18 – 21).

Jedoch kann auch durch den Verzehr von geringer belasteten Honigen des Frühjahrs 2016 im worst case Szenario für Kinder mit einem täglichen Verzehr von 40 g Honig (Honigextremverzehr) ein Risiko neoplastischer Langzeitschäden entstehen. Dieses Szenario wurde auf Basis eines Verzehrs von drei Honigbroten pro Tag ermittelt, der bei Honigliebhabern keine Seltenheit ist (Morris, 2015).

Bei der Interpretation der aus den vorliegenden Daten abgeleiteten Risikobewertung muss beachtet werden, dass es sich beim beprobten Honig um Stichproben einzelner Völker direkt aus der Wabe handelte. Die PA/PANO-Belastung der fertig abgefüllten Mischungen aller Völker unterscheidet sich vermutlich nur gering von den Mittelwerten der gemessenen PA/PANO-Gehalte. Die 95 %-Perzentil-Werte könnten jedoch höher liegen als in fertig abgefüllten Mischhonigen, da anzunehmen ist, dass es bei Mischhonig im Vergleich zu den untersuchten Stichproben zur Nivellierung der PA/PANO-Werte kommt.

Einerseits sind Verdünnungseffekte in Betracht zu ziehen, wenn Honig höher belasteter Standorte mit nicht belastetem Honig vermischt wird. Andererseits können auch einzelne hoch belastete Honige zu einer Steigerung des PA/PANO-Gehalts in der Mischung beitragen. Nachdem nicht alle Völker eines Standorts untersucht wurden, ist nicht auszuschließen, dass auch noch höher belastete Proben vorkamen. Das breite Spektrum der gesammelten Proben verschafft einen guten Überblick über die im Beprobungsgebiet möglichen PA/PANO-Gehalte und deutet in der Tendenz auf die Gehalte hin, die auch in fertiger Handelsware zu erwarten sind.

---

Darüber hinaus haben die Ergebnisse der vorliegenden Risikobewertung eine beispielhafte Bedeutung für Honige aus dem gesamten mitteleuropäischen Raum, da Ostholstein eine große botanische Vielfalt sowohl an Acker- und Kulturflächen als auch Wald und Naturflächen bietet. Zudem besteht die Problematik der heftigen und weiter voranschreitenden Ausbreitung von Jakobskreuzkraut, wie sie exemplarisch in Ostholstein gesehen wird (Krauskopf, 2012), in ganz Mitteleuropa (Wiedenfeld, 2011; Mulder, 2009).



## 7 Zusammenfassung

Pyrrrolizidinalkaloide (PA) und deren N-Oxide (PANO) sind sekundäre Pflanzenmetabolite, deren 660 derzeit bekannte Vertreter u.a. von Pflanzen der Familien der *Asteraceae*, *Boraginaceae* und *Fabaceae* produziert werden. Sie besitzen nach Metabolisierung in der Leber hepatotoxische sowie mutagene und kanzerogene Eigenschaften und gelangen durch Kontamination pflanzlicher Lebensmittel oder durch Carry-Over in Lebensmittel tierischer Herkunft in die menschliche Ernährung. Neben (Kräuter-) Tee gilt Honig als Haupteintragsquelle von PA/PANO.

In der Region Ostholstein kommt es seit einigen Jahren zu einer teils flächendeckenden Ausbreitung von PA/PANO produzierendem Jakobskreuzkraut. In Zusammenarbeit mit der dortigen Interessensgemeinschaft „Jakobskreuzkraut - Naturschutz ohne Verlierer“ wurden in dieser Studie 436 Honigproben verschiedener Saisons und Standorte im Großraum Eutin, Ostholstein, direkt ab Beute gezogen und mittels LC-MS/MS auf 25 PA/PANO untersucht.

Sommerhonig war stärker mit PA/PANO belastet als Frühjahrshonig. Während in der Frühjahrstracht 2016 der mittlere PA/PANO-Gehalt der Proben 1,7 µg/kg betrug, lagen die mittleren PA/PANO-Gehalte für den Honig des Sommers 2015 bei 8,4 µg/kg, für den Sommer 2016 bei 72,6 µg/kg. Das Analyt-Spektrum dieser Honige weist auf charakteristische PA/PANO von Jakobskreuzkraut hin.

Vergleiche der mittleren PA/PANO-Belastung verschiedener Standorte im Beprobungsgebiet („Inter“-Standortvergleich) zeigten für Sommerhonig einen Zusammenhang zwischen der PA/PANO-Belastung des Honigs am jeweiligen Standort und dessen Entfernung zu großen Jakobskreuzkraut-Beständen. Im Sommer 2015 und 2016 lagen sechs bzw. zehn der insgesamt zehn Standorte mit den höchsten PA/PANO-Gehalten in einer für Bienen erreichbaren Entfernung von bis zu drei Kilometern zu einem Jakobskreuzkraut-Bestand.

Die Untersuchungen verschiedener Völker am selben Standort („Intra“-Standortvergleich) ergaben erhebliche PA/PANO-Gehaltsschwankungen zwischen den Nachbarvölkern eines einzelnen Standorts. Dies zeigt, dass das Sammelverhalten von Bienenvölkern eines Standorts sehr stark variieren kann.



Für den Verzehr der Honige aus dieser Studie wurde ein erhöhtes Risiko für chronische, neoplastische und akute, nicht-neoplastische Gesundheitsschäden festgestellt. Die Risikobewertung zeigte, dass insbesondere Kinder sowie Vielverzehrer und Honigextremverzehrer dabei einem erhöhten Risiko ausgesetzt sind. In den Szenarien für zwei- bis fünfjährige Kinder wurden bei mean- und worst-case Betrachtungen MOE-Werte zwischen 404.624 (Normalverzehr, Frühjahr 2016) und 9.637 (Normalverzehr, Sommer 2016) bzw. 8.452 (erhöhter Kurzzeitverzehr, Frühjahr 2016) und 284 (erhöhter Kurzzeitverzehr, Sommer 2016) auf Basis einer BMDL10 von 0,073 mg/kg Körpergewicht errechnet.

Bei erhöhtem Kurzzeitverzehr wurde im worst-case-Szenario für Sommerhonig 2016 auch der TDI für nicht-neoplastische Effekte 1,6-fach für Erwachsene und 2,5-fach für Kinder überschritten.

Honige aus Regionen mit hohem Vorkommen PA/PANO-haltiger Pflanzen stellen demzufolge ein höheres Risiko für eine PA/PANO-Exposition dar, weshalb insbesondere für Imkerfamilien und Verbraucher regional erzeugter Honige Maßnahmen zur Risikominimierung ergriffen werden sollten.

## 8 Summary

Pyrrrolizidine alkaloids (PA) and their corresponding N-oxides (PANO) represent a group of toxic secondary plant metabolites. The 660 known chemical compounds are produced by representatives of the *Asteraceae*, *Boraginaceae* and *Leguminosae* families. After metabolism taking place in the liver they exhibit hepatotoxic, genotoxic and tumorigenic properties. Their occurrence in the food chain is caused by direct contamination of plant derived food and carry-over in animal products. In addition to tea honey is regarded as the main source of PA/PANO in human food.

In the region of Ostholstein (Germany) an immense spread of PA/PANO producing tansy ragwort (*Jacobaea vulgaris*) was observed over the last few years. In collaboration with the local interest group “Jakobskreuzkraut- Naturschutz ohne Verlierer” 436 honey samples from different seasons and locations were taken directly from the hives and were examined by LC-MS/MS to determine their content of 25 PA/PANO.

Summer honey was contaminated with PA/PANO at a remarkable higher level than springtime honey. Honey harvested in spring 2016 showed a mean PA/PANO-content of 1.7 µg/kg while the mean PA/PANO-content in summer honey 2015 and 2016 was 8.4 µg/kg and 72.7 µg/kg, respectively. The analyte-spectrum of these samples showed PA/PANO which are typical for ragwort.

Comparison of the mean PA/PANO-contents of different locations in the examined area (“inter”-location comparison) indicated a relation between the PA/PANO amount in honey of a particular location and its distance to big ragworts fields. In summer 2015 and 2016 six and ten of the ten locations with maximum PA/PANO-amounts were located in a reachable distance of up to three kilometres to a ragwort field, respectively.

The examinations of different beehives at the same location (“intra”-location comparison) revealed remarkably different PA/PANO-contents at neighbouring bee colonies in one location. This indicated that the collecting behaviour of honey bees can vary widely.

The risk assessment revealed that especially children and members of the consumer groups “high honey consumption” and “extremely high honey consumption” have an increased risk of chronic neoplastic and acute non-neoplastic health effects when consuming honey of this

study. MOE values based on a BMDL10 of 0.073 mg/kg body weight were calculated for a mean- and worst-case-scenario for two to five year-old children. In the mean case, the values ranged between 404,624 (normal consumption, honey of spring 2016) and 9,637 (normal consumption, honey of summer 2016). In the worst case, MOE-values of 8,452 (increased short-time consumption, spring 2016) and 284 (increased short-time consumption, summer 2016) were calculated. In case of an increased short-time consumption the TDI for non-neoplastic effects was exceeded 1.6-fold for adults and 2.5-fold for children based on a worst-case scenario with PA/PANO-amounts of summer honey 2016.

Honey from regions with a high incidence of PA/PANO containing plants may represent an increased risk of a PA/PANO-exposition. Therefore, it seems to be necessary to take action in minimizing the risk especially with regard to beekeeper families and consumers of regionally produced honey.

## 9 Literaturverzeichnis

Allgaier, C., Franz, S. (2015) Risk assessment on the use of herbal medicinal products containing pyrrolizidine alkaloids. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 73, 494-500

Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., Schenck, F. J. (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International* 86, 412-431

Beales, K. A., Betteridge, K., Colegate, S. M., Edgar, J. A. (2004) Solid-phase extraction and LC-MS analysis of pyrrolizidine alkaloids in honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 6664-6672

Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. (2007) *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 6. Auflage. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg

Betteridge, K., Cao, Y., Colegate, S. M. (2005) Improved method for extraction and LC-MS analysis of pyrrolizidine alkaloids and their N-oxides in honey: Application to *Echium vulgare* honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1894-1902

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2005) BfR entwickelt neues Verzehrsmodell für Kinder. Information Nr. 016/2005 des BfR vom 02.05.2005, Berlin, Deutschland.  
[http://www.bfr.bund.de/cm/343/bfr\\_entwickelt\\_neues\\_verzehrsmodell\\_fuer\\_kinder.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/bfr_entwickelt_neues_verzehrsmodell_fuer_kinder.pdf)  
(Zugriff, 07.03.2018)

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2007) Salatmischung mit Pyrrolizidinalkaloidhaltigem Greiskraut verunreinigt. Stellungnahme Nr.028/2007 des BfR vom 10.01.2007, Berlin.  
[http://www.bfr.bund.de/cm/208/salatmischung\\_mit\\_pyrrolizidinalkaloid\\_haltigem\\_geiskraut\\_verunreinigt.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/208/salatmischung_mit_pyrrolizidinalkaloid_haltigem_geiskraut_verunreinigt.pdf), (Zugriff, 28.08.2017)

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2010) Leitfaden für gesundheitliche Bewertungen, Berlin.  
<http://www.bfr.bund.de/cm/350/leitfaden-fuer-gesundheitliche-bewertungen.pdf>, (Zugriff, 06.12.2017)

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2011) Analytik und Toxizität von Pyrrolizidinalkaloiden sowie eine Einschätzung des gesundheitlichen Risikos durch deren Vorkommen in Honig.  
Stellungnahme Nr. 038/2011 des BfR vom 11.08.2011, Berlin.  
<http://www.bfr.bund.de/cm/343/analytik-und-toxizitaet-von-pyrrolizidinalkaloiden.pdf>  
(Zugriff, 08.01.2016)

BLE, Bundesanstalt für Ernährung und Landwirtschaft (2016) Erzeugung von Honig in Deutschland in den Jahren 2008 bis 2015.  
<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/206835/umfrage/erzeugung-und-verbrauch-von-honig-in-deutschland>. (Zugriff, 23.03.2017)

BMEL, Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2008) Nationale Verzehrsstudie II. Ergebnisbericht Teil 2. Die bundesweite Befragung zur Ernährung von Jugendlichen und Erwachsenen.

[https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Ernaehrung/NVS\\_ErgebnisberichtTeil2.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Ernaehrung/NVS_ErgebnisberichtTeil2.pdf?__blob=publicationFile), (Zugriff, 10.11.2017)

Bober, M. A., Milco, L. A., Miller, R. B., Mount, M., Wicks, B., Kurth, M. J. (1989) A competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect retronecine and monocrotaline in vitro. *Toxicon* 27, 1059-1064

Bodi, D., Ronczka, S., Gottschalk, C., Behr, N., Skibba, A., Wagner, M., Lahrssen-Wiederholt, M., Preiss-Weigert, A., These, A. (2014) Determination of pyrrolizidine alkaloids in tea, herbal drugs and honey. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 31, 1886-1895

Boppré, M. (1986) Insects pharmacophagously utilizing defensive plant chemicals (pyrrolizidine alkaloids). *Naturwissenschaften* 73, 17-26

Boppré, M., Colegate, S. M., Edgar, J. A. (2005) Pyrrolizidine alkaloids of *Echium vulgare* honey found in pure pollen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 594-600

Böttcher, F., Ober, D., Hartmann, T. (1994) Biosynthesis of pyrrolizidine alkaloids: putrescine and spermidine are essential substrates of enzymatic homospermidine formation. *Canadian Journal of Chemistry* 72, 80-85

Bundesgesundheitsamt (1992) Abwehr von Arzneimittelrisiken. Bekanntmachung über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln vom 5. Juni 1992. *Bundesanzeiger* 111, 4805

Cameron, E. (1935) A study of the natural control of ragwort (*Senecio jacobaea*). *The Journal of Ecology* 23, 265-322

Casaulta, G., Krieg, J. & Spiess, W. (1985) *Der schweizerische Bienenvater*. Fachbuch für Imker. 16. Auflage. Verlag Sauerländer, Aarau

COT, UK Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment (2008) Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food. Stellungnahme 2008/06 des COT, Oktober 2008

<https://cot.food.gov.uk/committee/committee-on-toxicity/cotstatements/cotstatementsyrs/cotstatements2008/cotstatement200806> (Zugriff, 03.05.2017)

Cramer, L., Schiebel, H. M., Ernst, L., Beuerle, T. (2013) Pyrrolizidine alkaloids in the food chain: Development, validation, and application of a new HPLC-ESI-MS/MS sum parameter method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 11382-11391

Crews, C., Berthiller, F., Krska, R. (2010) Update on analytical methods for toxic pyrrolizidine alkaloids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396, 327-338

Crews, C., Startin, J. R., Clarke, P. A. (1997) Determination of pyrrolizidine alkaloids in honey from selected sites by solid phase extraction and HPLC-MS. *Food Additives & Contaminants* 14, 419-428

Davis, J. A., Gift, J.S., Zhao, Q.J. (2011) Introduction to benchmark dose methods and U.S. EPA's benchmark dose software (BMDS) version 2.1.1. *Toxicology and Applied Pharmacology* 252, 181-191

Deinzer, M. L., Thomson, P. A., Burgett, D. M., Isaacson, D.L. (1977) Pyrrolizidine alkaloids: their occurrence in honey from tansy ragwort (*Senecio jacobaea* L.). *Science* 195, 497-499

D.I.B, Deutscher Imkerbund e.V. (2017). <http://deutscherimkerbund.de>. (Zugriff, 14.06.2017)

DIN ISO 32645:2008:11 (2008) Chemische Analytik; Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze; Ermittlung unter Wiederholbedingungen; Begriffe, Verfahren, Auswertung. DIN, Deutsches Institut für Normung

Dübecke, A., Beckh, G., Lüllmann, C. (2011) Pyrrolizidine alkaloids in honey and bee pollen. *Food Additives & Contaminants: Part A* 28, 348-358

Edgar, J. A., Röder, E., Molyneux, R. J. (2002) Honey from plants containing pyrrolizidine alkaloids: a potential threat to health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 2719-2730

Edgar, J. A., Colegate, S. M., Boppré, M., Molyneux, R. J. (2011) Pyrrolizidine alkaloids in food: a spectrum of potential health consequences. *Food Additives & Contaminants: Part A* 28, 308-324

EFSA, European Food Safety Authority (2007) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission related to pyrrolizidine alkaloids as undesirable substances in animal feed. *EFSA Journal* 447, 51

EFSA, European Food Safety Authority (2011) Scientific opinion on pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *EFSA Journal* 9, 2406, 2134

EFSA, European Food Safety Authority (2017) Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements. *EFSA Journal* 15, 4908-4934

Eisenbrand, G. & Schreier, P. (2006.) RÖMPP-Lexikon der Lebensmittelchemie. 2. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart

FAO, Food and Agriculture Organization (2010) Pyrrolizidine alkaloids in foods and animal feeds. *Consumer Protection Fact Sheets* Nr. 2, 1-6

Fu, P. P., Xia, Q., Lin, G., Chou, M. W. (2004) Pyrrolizidine alkaloids-genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metabolism Reviews* 36, 1-55

Gottschalk, C., Ronczka, S., Preiss-Weigert, A., Ostertag, J., Klaffke, H., Schafft, H., Lahrssen-Wiederholt, M. (2015) Pyrrolizidine alkaloids in natural and experimental grass silages and implications for feed safety. *Animal Feed Science Technology* 207, 253-261

Gottschalk, C. (2016) LC-MS Analytik zur PA/PANO-Bestimmung. Persönliche Mitteilung

Gottschalk, C., Huckauf, A., Dübecke, A., Kaltner, F., Zimmermann, M., Rahaus, I., Beuerle, T. (2018) Uncertainties in the determination of pyrrolizidine alkaloid levels in naturally contaminated honeys and comparison of results obtained by different analytical approaches. *Food Additives and Contaminants*, submitted.

Haeupler, H., Muer, T., Dahmen, R., Frebel, T. (2000) Bildatlas der Farn-und Blütenpflanzen Deutschlands. 2. Auflage. Ulmer Verlag, Stuttgart

Hartmann, T., Ehmke, A., Eilert, U., Borstel, K., Theuring, C. (1989) Sites of synthesis, translocation and accumulation of pyrrolizidine alkaloid N-oxides in *Senecio vulgaris* L. *Planta* 177, 98-107

Hartmann, T., Toppel, G. (1987) Senecionine N-oxide, the primary product of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis in root cultures of *Senecio vulgaris*. *Phytochemistry* 26, 1639-1643

Hartmann, T., Witte, L. (1995) Chemistry, biology and chemoecology of the pyrrolizidine alkaloids. In: *Alkaloids: Chemical Biological Perspectives*. Elsevier, Amsterdam, 155-233.

Hartmann, T., Zimmer, M. (1986) Organ-specific distribution and accumulation of pyrrolizidine alkaloids during the life history of two annual *Senecio* species. *Journal of plant physiology* 122, 67-80

Honigverordnung (HonigV) vom 16. Januar 2004 (BGBl. I S. 92), zuletzt geändert durch Art. 10 Verordnung zur Anpassung nationaler Rechtsvorschriften an die Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 betreffend die Informationen der Verbraucher über Lebensmittel vom 05.07.2017 (BGBl. I S. 2272)

Hoogenboom, L. A. P., Mulder, P. P. J., Zeilmaker, M. J., Van den Top, H. J., Rimmelink, G. J., Brandon, E. F. A., Klijnstra, M., Meijer, G. A. L., Schothorst, R., Van Egmond, H. P. (2011) Carry-over of pyrrolizidine alkaloids from feed to milk in dairy cows. *Food Additives & Contaminants: Part A* 28, 359-372

Horn, H. & Lüllmann, C. (2002) Das große Honigbuch. Kosmos Verlags-GmbH & Co, Stuttgart

Huxtable, R. J. (1980a) Herbal teas and toxins: novel aspects of pyrrolizidine poisoning in the United States. *Perspectives in Biology and Medicine* 24, 1-14.

Huxtable, R. J. (1980b) Problems with pyrrolizidines. *Trends in Pharmacological Sciences* 1, 299-303

Kakar, F., Akbarian, Z., Leslie, T., Mustafa, M. L., Watson, J., Van Egmond, H. P., Omar, M. F., Mofleh, J. (2010) An outbreak of hepatic veno-occlusive disease in Western Afghanistan

associated with exposure to wheat flour contaminated with pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Toxicology* 2010, 2010

Kast, C., Dübecke, A., Kilchenmann, V., Bieri, K., Böhlen, M., Zoller, O., Beckh, G., Lüllmann, C. (2014) Analysis of Swiss honeys for pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Apicultural Research* 53, 75-83

Kempf, M., Beuerle, T., Bühringer, M., Denner, M., Trost, D., Von der Ohe, K., Bhavanam, V. B. R., Schreier, P. (2008) Pyrrolizidine alkaloids in honey: Risk analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Molecular Nutrition and Food Research* 52, 1193-1200

Kempf, M. (2009) Entwicklung und Anwendung von Methoden zur Erfassung von Pyrrolizidinalkaloiden in Honig und Pollen. Fakultät für Chemie und Pharmazie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Kempf, M., Schreier, P., Reinhard, A., Beuerle, T. (2010) Pyrrolizidine alkaloids in honey and pollen. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 5, 393-406

Kowalczyk, E., Patyra, E., Kwiatek, K. (2015) Pyrrolizidine alkaloids as a threat to human and animal health. *Medycyna Weterynaryjna* 71, 602-607

Krauskopf, A. (2012) Giftpflanzen sind Problem für Imker. Wachsende Verbreitung des Jakobskreuzkrauts lässt sich im Honig nachweisen. In: SHZ, Ostholsteiner Anzeiger, 03.08.2012 <https://www.shz.de/nachrichten/seite-1/giftpflanzen-sind-problem-fuer-imker-id205781.html>. (Zugriff, 07.03.2018)

Lampeitl, F. (1982) Bienen halten. Eine Einführung in die Imkerei. 6. Auflage. Ulmer Verlag, Stuttgart

Langel, D., Ober, D., Pelsler, P. B. (2011) The evolution of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis and diversity in the *Senecioneae*. *Phytochemistry Reviews* 10, 3-74

Lee, S. T., Schoch, T. K., Stegelmeier, B. L., Gardner, D. R., Than, K. A., Molyneux, R. J. (2001) Development of enzyme-linked immunosorbent assays for the hepatotoxic alkaloids riddelliine and riddelliine N-oxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 4144-4151

Liebig, D. G. (2011) Einfach imkern. 1. Auflage. Gerhard Liebig, Aichtal

Lipp, J. (1994) Der Honig. 3. Auflage. Ulmer Verlag, Stuttgart

Lottspeich, F., Engels, J. W., Lay, S. Z. (1998) Bioanalytik 3. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

LZ, Lebensmittelzeitung (2017) Umsatz mit Bienenhonig im Lebensmitteleinzelhandel in Deutschland in den Jahren 2009 bis 2016.

<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/386960/umfrage/umsatz-mit-bienenhonig-im-lebensmitteleinzelhandel-in-deutschland/>. (Zugriff, 23.03.2017)



- Mattocks, A. R. (1972) Acute hepatotoxicity and pyrrolic metabolites in rats dosed with pyrrolizidine alkaloids. *Chemico-Biological Interactions* 5, 227-242
- Mattocks, A. R. (1986) *Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids*. Academic Press, London
- Merz, K.-H., Schrenk, D. (2016) Interim relative potency factors for the toxicological risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food and herbal medicines. *Toxicology Letters* 263, 44-57
- Morris, O., (2015) Honigverzehr bei Imkern und Honigliebhabern. Persönliche Mitteilung
- Mulder, P. P., Beumer, B., Oosterink, E., De Jong, J. (2009) Dutch survey pyrrolizidine alkaloids in animal forage. <http://edepot.wur.nl/135952> (Zugang 18.12.2017)
- Mulder, P. P., Sánchez, P. L., These, A., Preiss-Weigert, A., Castellari, M. (2015) Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in food. EFSA supporting publication 858, 116 pp.
- Neuman, M. G., Cohen, L., Opris, M., Nanau, R. M., Hyunjin, J. (2015) Hepatotoxicity of Pyrrolizidine Alkaloids. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 18, 825-843
- Neumann, H., Huckauf, A. (2016) Tansy ragwort (*Senecio jacobaea*): a source of pyrrolizidine alkaloids in summer honey? *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 11, 105-115
- NCI, National Cancer Institute (1978) Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity. NCI Technical Report 39, 1-66
- NTP, National Toxicology Program (2003) Toxicity and carcinogenicity of riddelliine in rats and mice. NTP Technical Report 508
- Ober, D., Hartmann, T. (1999) Homospermidine synthase, the first pathway-specific enzyme of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis, evolved from deoxyhypusine synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96, 14777-14782
- Oplatowska, M., Elliott, C. T., Huet, A. C., Mc Carthy, M., Mulder, P. P. J., Von Holst, C., Delahaut, P., Van Egmond, H. P., Campbell, K. (2014) Development and validation of a rapid multiplex ELISA for pyrrolizidine alkaloids and their N-oxides in honey and feed. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406, 757-770
- Petzinger, E. (2011) Pyrrolizidine alkaloids and seneciosis in farm animals. Part 2: Clinical signs, species-specific sensitivity, food residues, feed contamination, limit values. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G, Großtiere Nutztiere* 39, 363–372
- Pitzer, A. (2016) *Handbuch der Risikobewertung*. 1. Auflage. dfv Mediengruppe, Frankfurt am Main
- Richtlinie 2002/32/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 7. Mai 2002 über unerwünschte Stoffe in der Tierernährung – Erklärung des Rates (ABl. L 140 vom 30.05.2002)

S. 10 – 22), zuletzt geändert durch Verordnung (EU) 2017/2229 vom 04. Dezember 2017 (ABl. L 319 vom 05.12.2017, S. 6 – 9)

Ridker, P. M., Ohkuma, S., Mc Dermott, W. V., Trey, C., Huxtable, R. J. (1985) Hepatic venoocclusive disease associated with the consumption of pyrrolizidine containing dietary supplements. *Gastroenterology* 88, 1050-1054

RIVM (2005) Advisory report on pyrrolizidine alkaloids in herb preparations. RIVM Briefrapport 090437001/2014

<https://www.rivm.nl/dsresource?objectid=7a7c998d-bdd3-4266-80ef-8b79d944d7a2&type=org&disposition=inline> (Zugang, 05.07.2017)

Röder, E. (1984) Wie verbreitet und wie gefährlich sind Pyrrolizidinalkaloide? *Pharmazie in unserer Zeit* 13, 33-38

Röder, E. (1992) Pyrrolizidinalkaloidhaltige Arzneipflanzen. *Deutsche Apotheker Zeitung, Stuttgart* 132, 2427-2427

Rosenkranz, P. (2012) Eintönige Agrarlandschaften schaden der Honigbiene. *Ökologie Landbau* 161, 54-56

Ruttner, F. (1992) *Naturgeschichte der Honigbienen*. Kosmos Verlag, Stuttgart

Schulz, M., Meins, J., Diemert, S., Zagermann-Muncke, P., Goebel, R., Schrenk, D., Schubert-Zsilavec, M., Abdel-Tawab, M. (2015) Detection of pyrrolizidine alkaloids in German licensed herbal medicinal teas. *Phytomedicine* 22, 648-656

Shimshoni, J. A., Mulder, P. P., Bouznach, A., Edery, N., Pasval, I., Barel, S., Abd-El Khaliq, M., Perl, S. (2015) *Heliotropium europaeum* poisoning in cattle and analysis of its pyrrolizidine alkaloid profile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, 1664-1672

Smith, L., Culvenor, C. (1981) Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Natural Products* 44, 129-152

Steenkamp, V., Stewart, M., Van der Merwe, S., Zuckerman, M., Crowther, N. (2001) The effect of *Senecio latifolius* a plant used as a South African traditional medicine, on a human hepatoma cell line. *Journal of Ethnopharmacology* 78, 51-58

Steffens, S. (2015) Durch Kreisverwaltung Ostholstein kartierte Jakobskreuzkraut-Bestände. Persönliche Mitteilung

Stegelmeier, B. L. (2004) Pyrrolizidine alkaloids. In: *Clinical Veterinary Toxicology*. Mosby, St. Louis, 370-377

Stelljes, M. E., Kelley, R. B., Molyneux, R. J., Seiber, J. N. (1991) GC-MS determination of pyrrolizidine alkaloids in four *Senecio* species. *Journal of Natural Products* 54, 759-773

Steyn, D. G., (1933) Poisoning of human beings by weeds contained in cereals (bread poisoning). *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry* 1, 219-266.

Stillman A. S., Huxtable, R., Consroe, P., Kohnen, P., Smith, S. (1977) Hepatic veno-occlusive disease due to pyrrolizidine poisoning in Arizona. *Gastroenterology* 73, 349-352.

Suttner, G., Weisser, W. W., Kollmann, J. (2016) Hat die Problemart *Senecio aquaticus* (Wasser-Greiskraut) im Grünland zugenommen? Auswertung der Biotopkartierungen 1984-1995 und 1999-2013 in Bayern. *Natur und Landschaft* 91, 544-552

Ternes, W., Täufel, A., Tunger, L., Zobel, M. (2005) *Lebensmittel-Lexikon* 4. Auflage. Behr's Verlag, Hamburg

Teuscher, E. & Lindequist, U. (2010) *Biogene Gifte: Biologie-Chemie-Pharmakologie-Toxikologie*. 3. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.

Thomé, O. W. (1885) *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*. 2. Auflage. Verlag Friedrich von Zetzschwitz, Gera

Tokarnia, C. H., Döbereiner, J., Peixoto, P. V. (2002) Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon* 40, 1635-1660

Verordnung (EWG) Nr. 315/93 des Rates vom 8. Februar 1993 zur Festlegung von gemeinschaftlichen Verfahren zur Kontrolle von Kontaminanten in Lebensmitteln (*ABl. L 037 vom 13.02.1993, S. 1 – 3*)

Verordnung (EG) Nr. 401/2006 der Kommission vom 23. Februar 2006 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln (*ABl. L 70 vom 09.03.2006, S. 12 – 34*), zuletzt geändert durch Verordnung (EU) Nr. 519/2014 vom 16. Mai 2014 (*ABl. L 147 vom 17.05.2014, S. 29 – 43*)

Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln (*ABl. L 364 vom 20.12.2006, S. 5 – 24*), zuletzt geändert durch Verordnung (EU) Nr. 2017/1237 der Kommission vom 07. Juli 2017 (*ABl. L 177 vom 08.07.2017, S. 36 – 38*)

Wang, Y.-P., Yan, J., Fu, P. P., Chou, M. W. (2005) Human liver microsomal reduction of pyrrolizidine alkaloid N-oxides to form the corresponding carcinogenic parent alkaloid. *Toxicology Letters* 155, 411-420

WHO, World Health Organization (1988) *IPCS - International Programme on Chemical Safety. Pyrrolizidine Alkaloids. Environmental Health Criteria 80*. World Health Organization (WHO), Genf

WHO, World Health Organization (2016) *Evaluation of certain food additives and contaminants. Eightieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization Technical Report Series No. 995*

Wiedenfeld, H. (2011) *Plants containing pyrrolizidine alkaloids: toxicity and problems. Food Additives & Contaminants: Part A* 28, 282-292

- Willmot, F. & Robertson, G. (1920) *Senecio* disease, or cirrhosis of the liver due to senecio poisoning. *The Lancet* 196, 848-849
- Witte, L., Rubiolo, P., Bicchi, C., Hartmann, T. (1993) Comparative analysis of pyrrolizidine alkaloids from natural sources by gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochemistry* 32, 187-196
- Xia, Q., Chou, M. W., Kadlubar, F. F., Chan, P.-C., Fu, P. P. (2003) Human liver microsomal metabolism and DNA adduct formation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, riddelliine. *Chemical Research in Toxicology* 16, 66-73
- Xia, Q., Yan, J., Chou, M. W., Fu, P. P. (2008) Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrolizidine alkaloid, heliotrine. *Toxicology Letters* 178, 77-82
- Xia, Q., Zhao, Y., Lin, G., Beland, F. A., Cai, L., Fu, P. P. (2016) Pyrrolizidine alkaloid-protein adducts: potential non-invasive biomarkers of pyrrolizidine alkaloid-induced liver toxicity and exposure. *Chemical Research in Toxicology* 29, 1282-1292
- Yang, Y.-C., Yan, J., Doerge, D. R., Chan, P.-C., Fu, P. P., Chou, M. W. (2001) Metabolic activation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, riddelliine, leading to DNA adduct formation in vivo. *Chemical Research in Toxicology* 14, 101-109
- Zhang, F., Wang, C.-H., Xiong, A.-Z., Wang, W., Yang, L., Branford-White, C. J., Wang, Z.-T., Bligh, S. W. A. (2007) Quantitative analysis of total retronecine esters-type pyrrolizidine alkaloids in plant by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 605, 94-101



## 10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformeln der vier am häufigsten auftretenden Necinbasen für den Pyrrolizidinalkaloid-Aufbau .....	17
Abbildung 2: Differenzierung von Pyrrolizidinalkaloiden in Monoester, Diester und zyklische Diester .....	18
Abbildung 3: Charakteristische botanische Merkmale von <i>Jacobaea vulgaris</i> (Thomé, 1885)22	
Abbildung 4: Jakobskreuzkraut auf einer Ostholsteiner Brachfläche, Sommer 2015 (Quelle: Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit, LMU München).....	23
Abbildung 5: Schritte der PA/PANO-Synthese am Beispiel Senecionin-N-Oxid und Homospermidin-Synthase (HSS) als Bindeglied zwischen primärem und sekundärem Metabolismus nach Langel et al. (2011) .....	25
Abbildung 6: Giftungsweg 1,2-ungesättigter PA und Bildung von Addukten nach Fu et al. (2004) .....	28
Abbildung 7: Grundsätze der Risikobewertung .....	49
Abbildung 8: Typischer Standort mit Oberbehandlungsbeuten mit drei beprobten Völkern, aufgenommen im Rahmen der Beprobung im Sommer 2015 in Ostholstein (Quelle: Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit, LMU München).....	55
Abbildung 9: Lage der von Sommer 2015 bis Sommer 2016 beprobten Standorte im Großraum Eutin mit Jakobskreuzkraut-Beständen (Karten-Quelle: Google LLC) .....	57
Abbildung 10: Lage der von Sommer 2015 bis Sommer 2016 beprobten Standorte im Großraum Eutin mit Jakobskreuzkraut-Beständen (vergrößerter Ausschnitt aus Abbildung 9) (Karten-Quelle: Google LLC).....	58
Abbildung 11: Beprobung von frisch verdeckeltem, erntereifem Honig direkt ab Beute, aufgenommen im Rahmen der Beprobung im Sommer 2015 in Ostholstein (Quelle: Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit, LMU München) .....	59
Abbildung 12: Auskratzen von 200 g Proben-Honig (ca. 200 g) aus der Bienenwabe, aufgenommen im Rahmen der Beprobung im Sommer 2015 in Ostholstein (Quelle: Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit, LMU München) .....	60
Abbildung 13: Arbeitsschritte der präanalytischen Probenbehandlung mit Extraktion und Probenaufreinigung und -aufkonzentration über SCX-SPE-Kartuschen.....	65

Abbildung 14: LC-MS/MS Chromatogramm (PA-Standard-Mix 25) .....	72
Abbildung 15: Vorkommen von PA/PANO in den Honigproben (n = 151) der Sommertracht 2015.....	77
Abbildung 16: Verteilung der PA/PANO-Spektren in den 137 positiven Honigproben des Sommers 2015 (n = 151).....	78
Abbildung 17: Häufigkeit der insgesamt 16 nachgewiesenen PA/PANO in den 137 positiven Honigproben des Sommers 2015 (n = 151).....	79
Abbildung 18: Mittlere PA/PANO-Gehalte der Proben des Sommers 2015 (n = 151) mit Standardabweichungen.....	80
Abbildung 19: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2015; (Gruppe > LOD bis ≤ 10 µg/kg) mit Standardabweichungen.....	82
Abbildung 20: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2015; (Gruppe > 10 µg/kg) mit Standardabweichungen.....	83
Abbildung 21: Vorkommen von PA/PANO in den Honigproben (n = 152) der Frühjahrstracht 2016.....	84
Abbildung 22: Verteilung der PA/PANO-Spektren in den 129 positiven Honigproben des Frühjahrs 2016 (n = 152).....	85
Abbildung 23: Häufigkeit der insgesamt 16 nachgewiesenen PA/PANO in den 129 positiven Honigproben des Frühjahrs 2016 (n = 152).....	86
Abbildung 24: Mittlere PA/PANO-Gehalte der Proben des Frühjahrs 2016 (n = 152) mit Standardabweichungen.....	87
Abbildung 25: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Frühjahr 2016; (Gruppe > LOD bis ≤ 1,0 µg/kg) mit Standardabweichungen.....	89
Abbildung 26: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Frühjahr 2016; (Gruppe >1,0 µg/kg) mit Standardabweichungen.....	90
Abbildung 27: Vorkommen von PA/PANO in den Honigproben (n = 133) der Sommertracht 2016.....	91
Abbildung 28: Verteilung der PA/PANO-Spektren in den 123 positiven Honigproben des Sommers 2016 (n = 133).....	92

Abbildung 29: Häufigkeit der insgesamt 17 nachgewiesenen PA/PANO in den 123 positiven Honigproben des Sommers 2016 (n = 133) PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid .....	94
Abbildung 30: Mittlere PA/PANO-Gehalte der Proben des Sommers 2016 (n = 133) mit Standardabweichungen .....	95
Abbildung 31: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2016 (Gruppe > LOD bis $\leq 10,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) mit Standardabweichungen PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid.....	96
Abbildung 32: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2016 (Gruppe > 10 bis $\leq 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) mit Standardabweichungen PA/PANO: Pyrrolizidinalkaloid/ Pyrrolizidinalkaloid-N-Oxid .....	97
Abbildung 33: Mittelwert der PA/PANO-Gehalte positiver Standorte, Sommer 2016 (Gruppe > 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) mit Standardabweichungen .....	98
Abbildung 34: Verteilung der PA/PANO-Spektren in den Honigproben (Sommer 2015, Frühjahr 2016, Sommer 2016) .....	101
Abbildung 35: Vergleich aller drei Saisons (Sommer 2015, Frühjahr und Sommer 2016) anhand der mittleren Gehalte der PA/PANO vom Lycopsamin- und Senecionin-Typ	102
Abbildung 36: Lage der zehn am höchsten mit PA/PANO belasteten Standorte (violett gekennzeichnet) im Sommer 2015 .....	103
Abbildung 37: Lage der zehn am höchsten mit PA/PANO belasteten Standorte (grün gekennzeichnet) im Frühjahr 2016.....	104
Abbildung 38: Lage der zehn am höchsten mit PA/PANO belasteten Standorte (rot gekennzeichnet) im Sommer 2016.....	105
Abbildung 39: PA/PANO-Gehalte der jeweils beprobten Einzelvölker (n = 3) von den zehn Standorten mit den höchsten „Intra“-Standort Unterschieden.....	107





## 11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Typische PA/PANO-haltige Pflanzen und ihre PA (Teuscher und Lindequist, 2010) .....	19
Tabelle 2: Karzinogenitäts-Studien von Pyrrolizidinalkaloiden im Nagetier-Modell .....	26
Tabelle 3: Richtwerte verschiedener Institutionen für neoplastische und nicht neoplastische Schäden durch PA/PANO-Aufnahme und zugrundeliegende Studien .....	37
Tabelle 4: Prozentualer Anteil verschiedener Honiginhaltsstoffe nach Belitz et al. (2007) ....	43
Tabelle 5: Verkehrsbezeichnungen und dazu gehörige Begriffsbestimmungen der in der Honigverordnung (2004) aufgeführten Honigarten.....	44
Tabelle 6: Beprobte Saisons mit jeweiliger Anzahl beteiligter Imker, Standorte und Honige.	54
Tabelle 7: Im Rahmen der Probenaufarbeitung und zur Herstellung der HPLC-Fließmittel verwendete Chemikalien .....	61
Tabelle 8: Für den PA/PANO-Nachweis mittels LC/MS-MS-Target-Methode verwendete Standardsubstanzen .....	62
Tabelle 9: Zur präanalytischen Probenaufarbeitung verwendetes Labormaterial .....	63
Tabelle 10: LC-MS/MS-Gerätekomponenten und Bezugsquelle .....	66
Tabelle 11: HPLC- und MS-Quellenparameter .....	66
Tabelle 12: Zusammensetzung des linearen Fließmittelgradienten der mobilen Phasen A und B .....	67
Tabelle 13: Pipettierschema für die Herstellung einer Matrixkalibrationsgeraden .....	68
Tabelle 14: Massenübergänge und Substanz spezifische LC-MS/MS-Parameter.....	70
Tabelle 15: Verfahrenskennndaten der LC-MS/MS Messung von 25 PA/PANO in Honigmatrix .....	73
Tabelle 16: Wiederfindungsraten (WFR) ± RSD (%) für 5,0 µg/kg; 25,0 µg/kg; 50,0 µg/kg (bestimmt im Dreifachansatz) .....	75
Tabelle 17: Vergleich der drei beprobten Saisons (Sommer 2015, Frühjahr und Sommer 2016) .....	99
Tabelle 18: Expositionsszenario für Kinder (durchschnittliches Körpergewicht 16,15 kg)....	110
Tabelle 19: Expositionsszenario für Kinder, Sonderfall „Honigextremverzehr“ (durchschnittliches Körpergewicht 16,15 kg).....	111

---

Tabelle 20: Expositionsszenario für erwachsene Verbraucher (durchschnittliches Körpergewicht 60 kg) .....	113
Tabelle 21: Expositionsszenario für erwachsene Verbraucher, Sonderfall „Honigextremverzehr“ (durchschnittliches Körpergewicht 60 kg) .....	114
Tabelle 22: Daten vergleichbarer Studien zu PA/PANO-Vorkommen in Honig .....	117
Tabelle 23: Gehalte der nachgewiesenen Einzelanalyten und daraus resultierender PA/PANO-Summengehalt in den Proben der Sommersaison 2015.....	149
Tabelle 24: Gehalte der nachgewiesenen Einzelanalyten und daraus resultierender PA/PANO-Summengehalt in den Proben der Frühjahrssaison 2016 .....	157
Tabelle 25: Gehalte der nachgewiesenen Einzelanalyten und daraus resultierender PA/PANO-Summengehalt in den Proben der Sommersaison 2016.....	165

## 12 Anhang

Tabelle 23 bis Tabelle 25 zeigen für alle untersuchten 436 Honigproben der drei beprobten Saisons die jeweiligen Gehalte der nachgewiesenen Einzelanalyten, sowie den sich daraus ergebenden Summengehalt aus allen in der Probe quantitativ nachweisbaren PA/PANO.

Da in keiner Probe die Analyten Europin, Europin-N-Oxid, Heliotrin, Heliotrin-N-Oxid, Lasiocarpin, Lasiocarpin-N-Oxid, Monocrotalin und Monocrotalin-N-Oxid nachgewiesen wurden, sind diese Analyten in den Tabellen nicht aufgeführt.

Die beprobten Saisons sind mit den dazugehörigen Standorten und Völkern getrennt voneinander dargestellt.

Standorte, die in mehreren der drei Saisons untersucht wurden, tragen in den Tabellen die gleiche Bezeichnung aus Imker und Standort (Nummer, Zahl). Die an den Standorten untersuchten Völker (Volk 1, Volk 2, Volk 3...) sind jedoch nicht zwangsläufig dieselben wie in anderen Saisons.



Tabelle 23: Fortsetzung (Sommersaison 2015)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	Summe [µg/kg]	
2b	Volk 1	0,0	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	2,6	0,2	0,4	0,0	0,5	0,0	4,7	0,2	8,0	0,3	0,0	17,5
	Volk 2	0,0	0,0	1,1	0,3	0,4	0,0	9,9	0,3	0,3	0,0	2,1	0,0	9,9	0,3	17,0	0,3	0,1	42,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,3	0,0	0,5	0,2	0,3	0,0	0,3	0,0	2,8	0,0	3,8	0,2	0,0	8,6
3a	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	1,4	0,2	0,0	0,0	1,1	0,0	9,1	0,2	6,2	0,3	0,1	18,7
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,0	0,0	0,3	0,0	2,3	0,0	1,6	0,0	0,0	5,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,5	0,0	0,2	0,0	0,0	1,1
5a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8a	Volk 1	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7
	Volk 2	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	1,4
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3
8b	Volk 1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,8	0,0	3,6	0,0	0,0	5,2
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,7	0,0	1,1	0,0	0,0	2,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	1,2	0,0	0,0	1,9
9a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	2,6	0,0	4,3	0,0	0,0	8,6
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,5	0,0	0,6	0,3	0,0	1,5
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,2	0,0	0,3	0,0	2,2	0,0	3,7	0,0	0,0	8,0
9b	Volk 1	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0	0,2	3,9	0,3	0,2	0,4	1,0	0,0	8,6	0,9	13,0	1,7	0,0	30,9
	Volk 2	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0	0,0	4,0	0,3	0,2	0,0	1,1	0,0	8,3	0,6	13,9	1,1	0,0	30,1
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,3	0,0	0,2	0,0	1,8	0,0	2,2	0,0	0,0	4,7

Tabelle 23: Fortsetzung (Sommersaison 2015)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	Summe [µg/kg]	
10a	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,2	0,0	0,3	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3
	Volk 2	0,0	0,0	0,4	0,0	0,5	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	18,2	0,1	13,1	0,1	0,0	37,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,0	5,6	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0	15,9	0,3	8,5	0,2	0,0	33,3
10b	Volk 1	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	15,4	0,1	12,7	0,1	0,0	33,8
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	2,9	0,0	2,2	0,0	0,0	6,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,5
11a	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	6,6	0,1	5,5	0,1	0,0	14,3
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	2,1	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	4,7	0,0	3,2	0,0	0,0	10,7
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,2	0,0	1,0	0,0	0,0	3,1
11b	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,5
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
12a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	5,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,8
13a	Volk 1	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,7	0,0	1,8
	Volk 2	0,2	0,0	0,2	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	1,0	0,0	3,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,9
13b	Volk 1	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,8	0,2	0,0	0,0	1,7	0,4	0,0	0,3	0,0	0,4	0,0	4,1
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,2	0,2	0,5	0,0	1,7

Tabelle 23: Fortsetzung (Sommersaison 2015)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	Summe [µg/kg]	
13c	Volk 1	0,2	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,8	0,0	0,0	0,1	0,0	0,8	0,0	0,6	0,0	2,9
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	1,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,4	0,0	0,4	0,0	2,3
14a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,4	0,0	0,2	0,0	0,0	1,1
14b	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
15a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	1,7	0,0	1,4	0,0	0,0	4,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	3,8	0,0	3,8	0,0	0,2	9,8
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,1	0,0	1,1	0,0	0,0	2,9
16a	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,5	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	1,3	0,0	1,5	0,0	0,0	3,9
	Volk 2	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	14,5	0,2	0,0	0,0	1,9	0,0	22,5	0,7	38,1	1,0	0,0	79,5
17a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,2	0,0	0,0	0,8
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,5
18a	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	2,5	0,0	3,2	0,0	0,0	7,1
	Volk 2	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	5,6	0,0	1,0	0,0	1,3	0,0	14,7	0,2	18,1	0,2	0,0	41,8
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,8	0,0	2,0	0,0	0,0	5,3
19a	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	1,0
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,5



Tabelle 23: Fortsetzung (Sommersaison 2015)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	Summe [µg/kg]		
19b	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,9
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
19c	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	1,3	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	2,9
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	2,5	0,0	2,2	0,0	0,0	0,0	6,2
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	2,6	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	7,4
19d	Volk 1	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	2,1
	Volk 2	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,6	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	2,1
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,8
20a	Volk 1	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	5,5	0,1	0,0	0,0	0,9	0,0	7,3	0,8	8,8	0,6	0,0	0,0	24,3
	Volk 2	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	6,1	0,1	0,2	0,0	1,3	0,0	9,7	0,2	9,4	0,2	0,1	0,0	27,8
	Volk 3	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	5,5	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	6,5	0,1	8,0	0,1	0,0	0,0	21,6
21a	Volk 1	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	1,5	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	3,9
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,7
21b	Volk 1	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2
	Volk 2	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	2,1
	Volk 3	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
22a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,9	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	2,4
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	2,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	4,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	2,4	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	6,1

Tabelle 23: Fortsetzung (Sommersaison 2015)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	Summe [µg/kg]		
22b	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
22c	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
	Volk 2	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	5,1	0,0	0,1	0,0	2,2	0,0	20,5	0,0	18,5	0,0	0,1	47,6	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,1	0,0	0,3	0,0	1,5	0,0	1,6	0,0	0,0	3,9	
22d	Volk 1	0,0	0,0	1,9	0,0	0,0	0,2	16,2	0,2	1,0	0,2	4,6	0,3	40,4	2,0	40,7	2,6	0,1	110,5	
	Volk 2	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	7,2	0,0	8,3	0,0	0,0	21,2	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,1	0,0	0,3	0,0	2,0	0,0	2,2	0,0	0,0	5,5	
25a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0	0,7	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	2,3
26a	Volk 1	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	4,0	0,0	0,2	0,0	1,3	0,0	7,0	0,0	9,6	0,0	0,0	22,5	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,3	0,0	0,2	0,0	1,8	0,0	1,7	0,0	0,0	4,4	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,3	0,0	0,4	0,0	1,8	0,0	2,3	0,0	0,0	5,7	
27a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
28a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
29a	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0	13,4	0,0	9,9	0,0	0,6	27,2	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	5,2	0,0	3,4	0,0	0,0	10,4	

Tabelle 23: Fortsetzung (Sommersaison 2015)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	Summe [µg/kg]
29b	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,2	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	10,0	0,0	12,2	0,0	0,0	29,5
	Volk 2	0,2	0,0	1,2	0,0	0,1	12,5	0,0	0,2	0,0	1,5	0,0	16,2	0,1	25,9	0,2	0,0	58,1
	Volk 3	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	4,1	0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	10,4	0,0	15,7	0,1	0,0	32,2
30a	Volk 1	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
	Volk 2	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3
	Volk 3	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,1	1,6
32a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
33a	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	1,8	0,0	0,4	0,0	0,9	0,0	3,3	0,0	5,3	0,0	0,0	12,0
	Volk 2	0,2	0,0	1,5	0,0	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0	2,7	0,0	16,2	0,3	19,9	0,3	0,0	44,9
	Volk 3	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	7,0	0,0	9,5	0,3	0,2	22,0
34a	Volk 1	0,5	0,0	0,3	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	1,7	0,0	3,5	0,0	0,0	7,2
	Volk 2	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	1,2	0,0	0,0	2,6
	Volk 3	0,5	0,0	0,3	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	4,7	0,0	0,0	7,9
34b	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,3	0,6	0,2	0,3	0,0	0,4	0,0	2,3	0,0	2,2	0,0	0,0	6,3
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,3	0,1	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0	0,5	0,0	0,8	0,0	0,0	2,5
	Volk 3	0,2	0,0	0,3	0,0	0,5	1,2	0,2	0,5	0,0	0,4	0,0	3,2	0,2	4,6	0,0	0,0	11,3
34c	Volk 1	0,2	0,0	0,3	0,0	0,1	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	3,9	0,0	0,0	6,5
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,9	0,0	0,0	2,4
	Volk 3	0,2	0,0	0,7	0,0	0,1	4,2	0,2	0,2	0,0	1,0	0,0	7,0	0,3	14,9	0,4	0,0	29,3













Tabelle 24: Fortsetzung (Frühjahrssaison 2016)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe	
17a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
18b	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,2
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,5
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
19a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,2
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,4	0,0	0,0	0,2	0,3	0,2	0,5	0,1	1,8
19c	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
19d	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,6
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
20a	Volk 1	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,8	0,1	0,9	0,1	0,0	2,2
	Volk 3	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,6	0,2	0,6	0,2	0,0	2,1
21a	Volk 1	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	1,4	0,5	1,4	0,6	0,0	5,2
	Volk 2	0,6	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,9
	Volk 3	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,5	0,1	0,0	1,7

Tabelle 24: Fortsetzung (Frühjahrssaison 2016)

Standorte		Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe	
21b	Volk 1	0,5	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2
	Volk 2	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3
	Volk 3	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
22a	Volk 1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
	Volk 2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
	Volk 3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
25a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
26a	Volk 1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,1	0,0	0,6
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,2
27a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
28a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
32a	Volk 1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	1,0	0,3	0,0	0,0	0,5	0,2	2,3	0,8	2,7	1,0	0,0	0,0	9,1
	Volk 2	0,0	0,0	0,7	0,3	0,0	0,0	4,0	1,4	0,0	0,3	1,9	0,7	9,6	3,8	11,6	4,9	0,0	0,0	39,3
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,7



Tabelle 24: Fortsetzung (Frühjahrssaison 2016)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe		
40a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
	Volk 2	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7
	Volk 3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
41a	Volk 1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,3
	Volk 2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
	Volk 3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
42a	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,5
	Volk 2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,2	0,2	1,9
42b	Volk 1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,1	0,5	0,1	0,0	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	1,7
	Volk 2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7
	Volk 3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5

Tabelle 25: Gehalte der nachgewiesenen Einzelanalyten und daraus resultierender PA/PANO-Summengehalt in den Proben der Sommersaison 2016

Standorte		Em	Em-N	Ec	Ec-N	Im	Im-N	Jb	Jb-N	La	La-N	Re	Re-N	Sc	Sc-N	Sp	Sp-N	Sk	PA-Summe
		[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	[µg/kg]	
1c	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,4	0,0	0,0	0,0	0,1	1,7	1,4	2,0	3,6	0,0	9,5
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,6	0,0	0,0	1,8	3,0	0,0	0,0	0,2	1,0	5,4	8,3	5,9	19,5	0,0	45,9
	Volk 3	0,0	0,0	0,4	1,6	0,0	0,0	8,0	6,1	0,0	0,0	1,6	3,0	22,5	23,1	25,8	42,9	0,0	134,9
1f	Volk 1	0,0	0,0	0,8	7,4	0,0	0,0	10,6	34,5	0,0	0,0	2,8	12,0	30,1	92,7	30,6	124,9	0,0	346,4
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,6	1,3	0,0	0,0	0,1	0,6	3,3	7,4	2,2	10,8	0,0	26,5
	Volk 3	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3
1e	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	1,6	2,4	0,0	0,0	0,2	0,8	4,2	9,2	4,6	15,6	0,0	38,8
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,8	0,0	0,0	1,5	4,9	0,0	0,0	0,2	1,1	5,3	13,5	4,8	28,2	0,0	60,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,8	1,3	0,0	0,0	0,0	0,3	1,7	4,5	2,0	9,9	0,0	20,9
1h	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0	0,4	0,0	1,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,2	0,6	0,2	1,5	0,0	2,9
	Volk 3	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,2	0,0	1,0
1i	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,1	0,2	0,0	0,0	0,8	1,0	0,8	1,9	0,0	5,3
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,9
	Volk 3	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,2	0,5	0,5	0,0	2,8
2a	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,9
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4
2b	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,7	1,0	0,0	0,0	0,1	0,2	2,8	2,4	3,9	6,7	0,0	18,8
	Volk 2	0,0	0,0	0,5	1,3	0,0	0,0	9,5	10,7	0,0	0,0	0,9	2,8	14,8	23,6	19,5	46,1	0,0	129,8
	Volk 3	0,0	0,0	0,4	3,5	0,0	0,0	5,6	13,2	0,0	0,1	0,4	3,5	7,3	30,7	12,5	73,5	0,0	150,8

Tabelle 25: Fortsetzung (Sommersaison 2016)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe			
3a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	2,0	0,4	1,4	0,6	0,0	5,0	
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,7	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	3,2	1,1	2,3	1,6	0,0	9,3	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	2,6	0,6	1,7	1,1	0,0	6,5	
6a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6b	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8a	Volk 1	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,9	0,2	0,6	0,0	3,7	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,7	2,6	0,0	0,2	0,2	1,1	1,0	9,8	0,8	2,8	0,0	19,5		
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,2	0,5	0,3	0,0	1,6		
8b	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,3	0,0	0,0	0,5	0,1	0,7	0,2	0,0	0,0	3,5	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	0,1	0,0	2,7	1,4	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	8,0	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,1	0,4	0,2	0,0	0,0	0,2	0,3	0,2	0,5	0,0	0,0	2,6	
9c	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,2	0,2	0,0	0,9	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,1	0,9	0,2	0,0	2,1	
10a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,8	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,4	0,4	1,0	0,4	0,0	0,0	3,4	

Tabelle 25: Fortsetzung (Sommersaison 2016)

Standorte		Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe
<b>10c</b>	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,9	0,1	0,7	0,1	0,0	2,1
<b>11a</b>	Volk 1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,9	1,3	2,5	0,4	0,0	1,1	0,6	0,4	10,8	3,7	7,3	4,1	0,0	33,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,3	0,5	1,6	0,2	0,0	0,5	0,4	0,1	8,2	2,4	5,0	2,8	0,0	22,1
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,1	0,2	0,3	0,0	1,3
<b>12a</b>	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,2	0,0	0,0	0,2	0,3	0,2	0,4	0,0	1,5
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,4	0,0	0,0	0,4	0,0	0,6	0,0	0,0	1,7
<b>13a</b>	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>13b</b>	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,8	0,8	0,8	0,4	0,0	3,6
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	2,0	0,4	2,3	0,2	0,0	5,8
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,0	0,1	1,1	0,0	0,0	2,7
<b>13c</b>	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,8	0,0	1,1	0,0	0,0	2,9
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,8
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,5	0,0	0,5	0,1	0,0	1,9
<b>13d</b>	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,4	0,0	0,5	0,0	0,0	1,1
	Volk 2	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	5,4	0,2	0,0	0,0	1,4	0,1	7,5	0,9	11,3	0,9	0,0	28,4
	Volk 3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	1,5	0,2	2,0	0,2	0,0	5,1

Tabelle 25: Fortsetzung (Sommersaison 2016)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe			
14a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,4	0,2	0,2	0,0	1,2	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,1	1,2	1,3	0,7	0,8	0,0	0,0	4,8	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,4	1,3	4,1	0,7	2,2	0,0	0,0	10,4	
14c	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
	Volk 3	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,0
15a	Volk 1	0,2	0,0	0,1	0,0	0,8	0,0	0,7	0,0	0,7	0,3	0,2	0,0	1,8	0,4	1,7	0,5	0,0	0,0	0,0	7,7
	Volk 2	0,2	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0	1,5	0,0	0,2	0,0	0,9	0,0	5,8	0,1	6,8	0,1	0,0	0,0	0,0	16,2
	Volk 3	0,0	0,0	0,4	0,3	0,5	0,0	3,1	1,3	0,4	0,7	0,8	0,7	6,8	6,3	6,8	7,1	0,0	0,0	0,0	35,2
17a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,4	0,1	0,1	0,2	1,9	0,0	0,1	0,5	1,6	0,2	1,2	0,0	0,0	0,0	6,7
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,7	1,2	0,5	1,0	0,0	0,0	0,0	3,8
19a	Volk 1	0,0	0,0	0,1	1,1	0,0	0,0	1,1	1,9	0,0	0,0	0,3	0,8	1,6	7,9	2,8	7,6	0,0	0,0	0,0	25,1
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,9	1,7	0,0	0,0	0,3	0,5	1,3	6,0	1,9	6,7	0,0	0,0	0,0	19,9
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,4
19c	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,4	0,9	0,2	0,8	0,0	0,0	0,0	2,5
	Volk 2	0,0	0,0	0,6	0,3	0,0	0,0	2,9	0,9	0,0	0,0	1,3	0,6	8,3	5,6	7,9	6,1	0,0	0,0	0,0	34,5
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0	0,0	0,2	0,1	1,0	1,8	0,8	1,8	0,0	0,0	0,0	6,1
19d	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,2	1,0	0,2	0,4	0,0	0,0	0,0	2,1
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,1	0,0	0,4	0,1	0,1	0,9	2,0	0,8	1,1	0,0	0,0	0,0	5,8
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,5	0,4	0,2	0,3	0,0	0,0	0,0	1,9



Tabelle 25: Fortsetzung (Sommersaison 2016)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe		
20a	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	0,1	0,0	0,0	0,7	0,0	4,7	0,7	4,2	0,8	0,0	12,7
	Volk 2	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	9,9	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	18,0	0,1	16,8	0,1	0,1	47,8
	Volk 3	0,0	0,0	5,0	0,3	0,0	0,0	0,0	61,2	0,6	0,0	0,0	12,5	1,6	122,2	5,7	115,8	6,1	0,3	331,3
21a	Volk 1	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,2	0,0	0,0	0,2	0,1	1,8	1,2	1,3	1,5	0,0	7,4
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,7
	Volk 3	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	3,5	0,3	2,2	0,4	0,0	8,2
21b	Volk 1	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,1	0,0	0,0	0,3	0,1	4,2	1,2	2,5	1,1	0,0	11,5
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,3	0,0	1,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,2	0,2	0,3	0,0	1,2
22a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,2	0,0	0,0	0,3	0,1	1,7	0,9	1,6	1,1	0,0	6,7
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,7
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
25a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,5	0,2	0,4	0,0	0,0	2,2
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,4	0,1	0,1	0,2	1,9	0,0	0,1	0,5	1,6	0,2	1,2	0,0	0,0	6,7
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,7	1,2	0,5	1,0	0,0	0,0	4,0
29a	Volk 1	0,2	0,2	2,2	3,8	0,5	4,2	5,3	2,9	1,0	4,1	1,6	1,7	11,6	10,4	7,9	6,4	0,2	0,2	64,2
	Volk 2	0,2	0,2	6,0	7,3	0,4	1,4	8,0	2,1	0,7	1,4	3,6	2,6	29,8	11,4	18,9	6,8	0,2	0,2	101,2
	Volk 3	0,2	0,2	16,4	25,6	0,6	6,1	24,9	9,9	1,7	5,8	8,1	9,1	65,3	56,3	47,0	36,4	0,0	0,0	313,5
29b	Volk 1	0,2	0,0	5,1	18,9	0,3	0,5	11,2	10,5	0,3	0,5	2,3	5,9	15,9	46,7	16,1	38,2	0,2	0,2	173,0
	Volk 2	0,2	0,0	15,5	39,1	0,0	0,4	34,7	24,5	0,3	0,4	7,4	13,0	63,2	110,0	58,6	78,5	0,0	0,0	445,7
	Volk 3	0,2	0,2	5,1	21,6	0,0	0,3	11,1	15,2	0,3	0,4	2,3	8,0	16,4	60,6	15,8	39,2	0,2	0,2	196,7

Tabelle 25: Fortsetzung (Sommersaison 2016)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe	
30a	Volk 1	6,4	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	9,7	
	Volk 2	0,5	0,2	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	2,3	
32a	Volk 1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,2	0,0	0,9	
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	1,3	
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,4	0,5	0,3	0,0	0,4	0,0	0,3	0,6	0,7	0,6	0,8	0,3	5,0
33a	Volk 1	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,3	0,2	0,3	0,2	2,3	
	Volk 2	0,2	0,2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,6	0,3	0,0	0,0	0,4	0,3	1,1	1,0	1,0	1,0	0,2	6,7
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,9	
34a	Volk 1	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	8,6	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	14,2	0,1	22,3	0,1	0,2	48,3
	Volk 2	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	5,1	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	8,1	0,1	10,8	0,0	0,1	25,7
	Volk 3	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	3,9	0,1	0,1	0,0	0,7	0,0	5,7	1,0	7,6	0,7	0,1	20,2
34b	Volk 1	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	14,6	0,0	0,0	0,0	2,8	0,0	18,0	0,2	25,1	0,2	0,0	61,9
	Volk 2	0,0	0,0	2,6	0,0	0,0	0,0	32,5	0,3	0,0	0,0	5,8	0,0	38,9	0,6	51,4	0,6	0,0	132,8
	Volk 3	0,2	0,0	2,3	0,0	0,0	0,0	35,1	0,5	0,0	0,0	4,7	0,1	38,6	1,6	51,3	1,6	0,0	136,1
34c	Volk 1	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	20,5	0,3	0,0	0,0	3,0	0,1	21,8	1,8	28,9	1,8	0,0	79,5
	Volk 2	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	19,1	0,0	0,0	0,0	3,1	0,0	24,1	0,2	33,6	0,2	0,0	81,8
	Volk 3	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	20,5	0,2	0,0	0,0	2,3	0,0	14,2	0,3	20,7	0,3	0,0	59,7
35a	Volk 1	0,0	0,0	14,2	111,3	0,4	1,1	503,9	324,8	0,4	1,4	99,5	119,6	205,2	710,5	591,1	629,9	0,0	3313,3
	Volk 2	0,0	0,0	10,1	26,0	0,4	0,4	464,1	100,2	0,4	0,5	136,0	30,4	481,5	354,2	609,0	296,9	0,0	2510,1

Tabelle 25: Fortsetzung (Sommersaison 2016)

Standorte	Em [µg/kg]	Em-N [µg/kg]	Ec [µg/kg]	Ec-N [µg/kg]	Im [µg/kg]	Im-N [µg/kg]	Jb [µg/kg]	Jb-N [µg/kg]	La [µg/kg]	La-N [µg/kg]	Re [µg/kg]	Re-N [µg/kg]	Sc [µg/kg]	Sc-N [µg/kg]	Sp [µg/kg]	Sp-N [µg/kg]	Sk [µg/kg]	PA-Summe		
37b	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
38a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	1,2
39a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,1	0,0	0,0	0,6	0,1	4,2	1,6	2,0	0,7	0,0	0,0	10,4
	Volk 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	1,4	0,3	0,8	0,1	0,0	0,0	3,2
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,2	0,0	0,0	0,3	0,1	2,0	2,2	1,3	1,3	0,0	0,0	8,2
41a	Volk 1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,4
	Volk 2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,5
	Volk 3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
42a	Volk 1	0,0	0,1	0,1	1,4	0,0	0,3	1,0	4,0	0,1	0,4	0,7	4,4	3,5	23,1	2,1	11,8	0,0	0,0	53,0
	Volk 2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,4	2,9	0,5	0,1	0,6	1,1	0,3	6,4	2,6	4,7	1,4	0,0	0,0	21,2
	Volk 3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	1,1	2,2	0,0	0,0	0,6	1,9	3,7	12,1	2,4	7,1	0,0	0,0	31,5

## 13 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. habil. Manfred Gareis, Inhaber des Lehrstuhls für Lebensmittelsicherheit des Veterinärwissenschaftlichen Departments der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, für das Überlassen dieses Themas und meinem Betreuer Dr. Christoph Gottschalk. Er stand mir während der Zeit meiner Dissertation stets mit fachlicher Kompetenz und großer Verlässlichkeit zur Seite. Mein Dank gilt des Weiteren dem gesamten Team Bioanalytik des Lehrstuhls für Lebensmittelsicherheit des Veterinärwissenschaftlichen Departments der Tierärztlichen Fakultät der LMU München. Namentlich besonders erwähnt seien an dieser Stelle Frau Carmen Piller, Frau Michaela Freitag, Herr Helmut Ziemann und Herr Florian Kaltner, die mich bei meiner Arbeit im Labor und der Bewältigung des Probenumfangs mit enormer Hilfsbereitschaft und Tatkraft unterstützten.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei den Lehrstuhlmitarbeiterinnen Frau Dr. Barbara Biermaier und Frau Dr. Brigitte Sperner. Beide standen mir während des Schreibprozesses mit fachlichen Ratschlägen und viel Erfahrung zur Seite.

Ohne die große Kooperationsbereitschaft und finanzielle Unterstützung der Ostholsteiner Interessengemeinschaft „Jakobskreuzkraut- Naturschutz ohne Verlierer“, die dieses Projekt durch Crowd-Funding zu wesentlichen Teilen mittrug, wäre die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen.

Allen Mitgliedern und Imkern des Verbandes gilt mein ganz besonderer Dank für die freundliche Bereitstellung von Probenhonig und die Gastfreundschaft, die mir auf meinen Probennahmefahrten in den Norden zu Teil wurde. Ganz besonders bedanken möchte ich mich in diesem Zusammenhang bei Frau Dr. Angela Schulenburg, Herrn Rainer Korten und Herrn Oliver Morris mit Familie. Besonders Herr Morris opferte in hohem Maße Freizeit und Energie und brachte mir auch abseits der reinen Probennahme Ostholstein und die Imkerei näher.

Zu guter Letzt bedanke ich mich bei meiner Familie, die mich auf dem bisweilen nervenzehrenden Weg bis zur Fertigstellung dieser Arbeit immer nach Kräften seelisch und moralisch unterstützt hat.