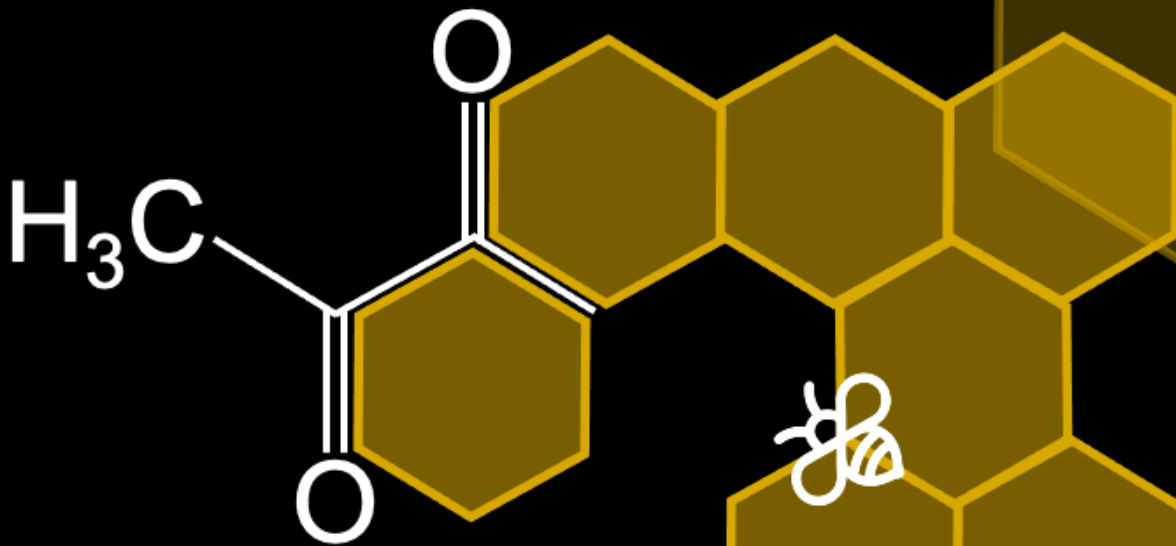


# Analyse antibakterieller Wirkmechanismen verschiedener Honigsorten

Ein experimenteller Ansatz zur Herstellung  
eines medizinischen Schweizer Honigs



Sofia I. De Vito, 6e  
Kantonsschule Hohe Promenade, Gymnasium Zürich  
2025/2026  
Dr. Siamak Semsary  
Simona Studer

## Vorwort

Den Anstoss zur Auseinandersetzung mit dem Thema Honig gab mir die Dokumentation „More than Honey“ (Markus Imhoof, 2012), die ich während der Phase der Themenfindung gesehen habe. Darin werden verschiedene ökologische sowie ökonomische Aspekte der Bienenhaltung und Honigproduktion beleuchtet. Dies weckte mein Interesse an den Eigenschaften von Honig, die über dessen Funktion als Nahrungsmittel hinausgehen. In der anschliessenden Recherche bin ich auf die antibakterielle Wirkung dieses Naturproduktes gestossen, die in letzter Zeit in der Forschung vermehrt an Bedeutung gewonnen hat. Im Hinblick auf meinen Studienwunsch im Bereich der Pharmazie, erschien mir dieser Aspekt besonders interessant. Um die Arbeit möglichst abwechslungsreich zu gestalten, entschied ich mich dazu, die antibakteriellen Eigenschaften von Honig experimentell zu untersuchen und so Theorie und Praxis sinnvoll zu kombinieren.

### **Selbstständigkeitserklärung**

«Ich, Sofia De Vito, erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Maturitätsarbeit selbstständig und ohne unerlaubte Hilfsmittel verfasst habe.»

Ort, Datum: \_\_\_\_\_

Unterschrift: \_\_\_\_\_

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Abstract.....	1
1.2	Disclaimer .....	2
<b>2</b>	<b>Theorie</b> .....	<b>3</b>
2.1	Geschichte und Zusammensetzung von Honig .....	3
2.2	Antibakterielle Wirkung von Honig .....	4
2.2.1	Entstehung und Wirkung von MGO .....	6
2.2.2	Entstehung und Wirkung von Wasserstoffperoxid .....	9
2.2.3	Antibakterielle Wirkung durch weitere Faktoren.....	11
2.3	Manuka Honig: Ökonomische Aspekte.....	13
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>14</b>
3.1	Material .....	14
3.2	Methoden .....	15
3.2.1	Präparation Probelösungen und Agarplatten .....	15
3.2.2	Agardiffusionstests .....	16
3.2.3	Präparation Probenlösungen HPLC-Chromatografie .....	17
3.2.4	Durchführung HPLC-Chromatografie.....	18
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>20</b>
4.1	Ergebnisse Agarplatten .....	20
4.1.1	Agardiffusionstests: Nachweis der antibakteriellen Aktivität von Honig .....	20
4.1.2	Katalaseaktivität Assays: Wirkungsmechanismus ausgesuchter Honigsorten.....	22
4.1.3	Synergismus Untersuchung verschiedener Wirkungsmechanismen .....	22
4.2	Ergebnisse HPLC-Chromatografie.....	24
4.2.1	Qualitativer und Quantitativer Nachweis von DHA .....	24
4.2.2	Qualitativer und Quantitativer Nachweis von MGO .....	27
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>30</b>
<b>6</b>	<b>Schlussfolgerung und Ausblick</b> .....	<b>35</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>37</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>40</b>
<b>9</b>	<b>Danksagungen</b> .....	<b>41</b>
<b>10</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>42</b>
10.1	Ergebnisse aller durchgeführten Experimente.....	42
10.2	Eindrücke aus dem Labor.....	57

# 1 Einleitung

## 1.1 Abstract

Aufgrund des starken Anstiegs an antibiotikaresistenten Bakterienarten werden natürliche Stoffe zur Behandlung von Infektionen immer wichtiger. Medizinischer Honig, insbesondere Manuka Honig, wird aufgrund seiner natürlichen antibakteriellen Wirkung, ausgehend vom Molekül Methylglyoxal (MGO), bereits als Arzneimittel verwendet. Bisher wurde die antiseptische Wirkung herkömmlicher (Schweizer) Honige nur wenig erforscht, weshalb nicht bekannt ist, ob inländische Produkte mit Manuka Honig vergleichbare Eigenschaften aufweisen. Ziel dieser Arbeit ist es, die Ursachen für eine allfällige antibakterielle Wirkung von ausgewählten, lokalen Honigsorten zu identifizieren und ferner experimentell zu prüfen, ob in einem Schweizer Honig die von MGO ausgehende Wirkung und die in den meisten Honigen vorkommende peroxidische Aktivität kombiniert werden können. Um die Mechanismen hinter der antibakteriellen Wirkung einzelner Honigsorten zu ermitteln, wurden mit verschiedenen lokalen Honigen Agardiffusionstests durchgeführt. Ausserdem wurde in einem Langzeitexperiment versucht, die MGO-Produktion in Schweizer Honig künstlich anzuregen. Sortenreiner Rapshonig sowie ein Blütenhonig, dessen Pollen von verschiedenen Pflanzenarten stammen (Hard Honig), erwiesen sich als effizient gegen das Testbakterium. Die vom Hard Honig ausgehende Wirkung basiert auf dem im Honig enthaltenen Wasserstoffperoxid. Die Ursache für die Wirkung von Rapshonig konnte nicht identifiziert werden. Innerhalb einer Zeitspanne von sechs Wochen konnte in Raps- sowie Hard Honig die Herstellung von MGO künstlich angeregt werden. Während die Konzentration von MGO im Hard Honig nach drei Wochen wieder zu sinken begann, stieg diese in Rapshonig weiter an. Somit ist ein möglicher Synergismus verschiedener Wirkmechanismen in einem lokalen Honig prinzipiell realisierbar und könnte sowohl aus ökonomischer als auch ökologischer Sicht sinnvoll sein.

## 1.2 Disclaimer

Die Experimente in dieser Arbeit wurden teilweise am Labor der Kantonsschule Hohe Promenade durchgeführt. Dabei wurde möglichst steril gearbeitet, es besteht jedoch keine Garantie auf vollständige Sterilität.

Für die Versuche in dieser Arbeit stand ausschliesslich das grampositive Bakterium *Bacillus subtilis* zur Verfügung. In den meisten Studien wurde jedoch das gramnegative Bakterium *Escherichia coli* sowie das grampositive Bakterium *Staphylococcus aureus* verwendet. Sowohl die Interpretationen als auch die Diskussion beziehen sich auf die selbst ausgeführten Experimente mit *B. subtilis*, während die Theorie häufig auf Ergebnissen aus Versuchen mit *E. coli* und *S. aureus* basiert. Unterschiede in der Reaktion der Bakterien auf die verwendeten Honige sowie in der Interpretation der Ergebnisse sind daher nicht auszuschliessen.

## 2 Theorie

### 2.1 Geschichte und Zusammensetzung von Honig

#### Allgemeines über Honig

Honig ist eine natürliche Substanz, die schon seit mehreren Jahrhunderten als Süßmittel und Lebensmittelkonservierungsmittel dient und bereits zur Zeit der Alten Ägypter zu therapeutischen Zwecken verwendet wurde. Die medizinische Anwendung von Honig reichte damals schon von Wundauflagen bis hin zur Behandlung von Atemwegserkrankungen (1). Die Westliche Honigbiene (*Apis mellifera*) sammelt entweder Honigtau oder Blütennektar und transportiert diese Ressourcen zu ihrem Bienenstock, wo sie dann zu Honig umgewandelt werden (2). Dieser Prozess umfasst sowohl die enzymatische Umwandlung und Konzentration der Zucker als auch die Dehydrierung beziehungsweise das Trocknen des Honigs (3). Honig kann aus über 200 verschiedenen Stoffen bestehen, wobei die Zusammensetzung jedes Honigs individuell ist und von einer Vielzahl Faktoren abhängt (2). Sowohl die Art(en) der Blume, aus der der Nektar gewonnen wird, als auch die geografische Lage, das Klima, die Jahreszeit und die Bienen, die in der Honigproduktion involviert sind, haben einen Einfluss darauf, wie sich der Honig am Ende zusammensetzt, welche Farbe und welchen Geschmack er hat. Auch während der Verarbeitung und der Lagerung des Honigs kann sich seine Zusammensetzung weiter verändern (3).

#### Zusammensetzung von Honig

Die über 200 Stoffe im Honig lassen sich in verschiedene Gruppen einteilen. Grösstenteils besteht Honig aus verschiedenen Zuckerarten. In 100 g eines herkömmlichen Honigs machen die Kohlenhydrate insgesamt ca.  $\frac{3}{4}$  der Masse aus. Dabei ist die Zuckersorte Fruktose am meisten vertreten, gefolgt von der Glukose, der Maltose und der Saccharose. Der hohe Anteil an Kohlenhydraten ist auch der Grund für die starke Viskosität von Honig. Der Wasseranteil macht ungefähr 20% der gesamten Masse aus, während die Gesamtmasse der anderen Substanzen wie Aminosäuren, Proteine, Enzyme, Mineralien und Vitamine bei ca. 1 g liegt (3). Im Honig sind ebenfalls Flavonoide, Phenolsäuren und Antioxidanten enthalten (2).

Die im Honig beinhaltenen Enzyme stammen hauptsächlich aus Pollen, dem Nektar und den Bienen selbst. Letztere fügen die Enzyme während der Umwandlung des Nektars in Honig aus ihrem eigenen Magen hinzu. Drei der wichtigsten Enzyme im Honig sind die Alpha-Glukose Oxidase, die Katalase sowie die Invertase. Alpha-Glucose-Oxidase wird dem Honig aus der Futtersaftdrüse des Bienenmagens hinzugefügt (4), während die Katalase grösstenteils aus Pollenkörnern stammt (5). Die beiden Enzyme spielen eine zentrale Rolle in der Herstellung von Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ). Die Alpha-Glucose-Oxidase ist verantwortlich für die Produktion von  $H_2O_2$ , während die Katalase als deren Gegenspieler fungiert, indem sie das Wasserstoffperoxid wieder abbaut (4). Die Invertase aus dem Honig wird dem Nektar von der Biene selbst in Form von Sekreten aus der Speicheldrüse hinzugegeben. Das Enzym ist mehrheitlich an der Umwandlung von Saccharose in Fruktose und Glukose beteiligt (6).

Die detaillierte Analyse der Bestandteile aller in dieser Arbeit verwendeten Honigsorten würde den zeitlichen und technischen Rahmen sprengen, weshalb von den eingangs erwähnten Inhaltsstoffen ausgegangen wird.

## 2.2 Antibakterielle Wirkung von Honig

### **Aktueller Stand**

Aufgrund der zunehmenden Resistenz von Bakterien gegen Antibiotika werden natürlich vorkommende Stoffe mit antibakterieller Wirkung immer wichtiger in der Medizin und der Arzneimittelentwicklung. Es hat sich gezeigt, dass einige Kräuter, Pflanzenextrakte, Öle und Honige gegen eine Reihe von bakteriellen Infektionen und Entzündungszustände wirksam sind. Viele dieser Substanzen zeigen ähnliche Wirkungsmechanismen wie Antibiotika indem sie teilweise die Zellwand der Bakterien beschädigen und die Proteinsynthese innerhalb der Krankheitserreger einschränken (7). Man hofft deshalb, dass solche natürlichen Stoffe zukünftig Antibiotika in ihrer antibakteriellen Wirkung verstärken können, indem sie in Kombination mit herkömmlichen Medikamenten verwendet werden, oder, dass sie als Alternative gegen resistente Bakterien verwendet werden können. Die Wirksamkeit von Honig ist besonders in den Bereichen der Wundheilung und der Behandlung von Verbrennungsverletzungen bekannt (7). Deshalb sind bereits viele Salben und Gele auf Honigbasis auf dem Markt erhältlich. Ein bekanntes Beispiel ist der medizinische Medihoney™. Er wird von Fachpersonen als praktikable Alternative zu herkömmlichen Wundversorgungsprodukten empfohlen, besonders dann, wenn Antibiotikaresistenzen eine Herausforderung darstellen (1).

Studien bestätigen, dass Honig sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Bakterien wirkt. Der hauptsächliche Unterschied zwischen den beiden Bakterientypen besteht darin, dass letztere zusätzlich zur inneren Zellmembran noch eine äussere Membran besitzen (vgl. Abbildung 1) (8). Man geht davon aus, dass gramnegative Bakterien deshalb oft weniger empfindlich auf antibakterielle Stoffe wie Honig reagieren als grampositive (3).

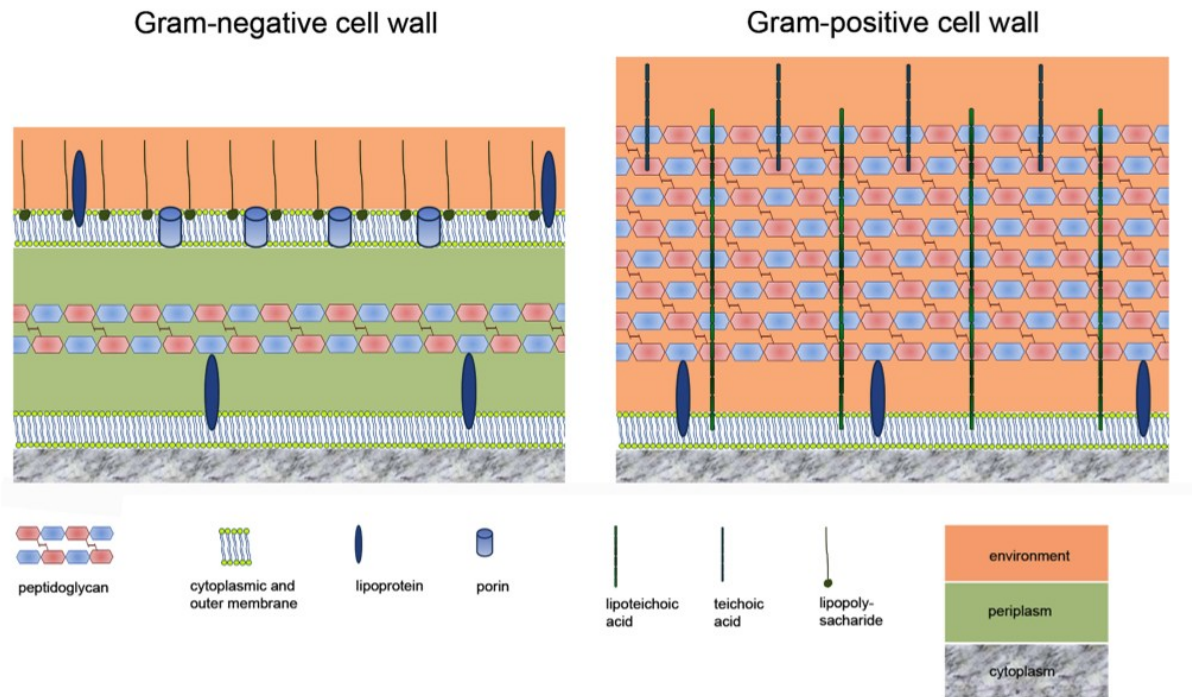


Abbildung 1: Unterschiedliche Struktur der Zellwand eines gramnegativen (links) und eines grampositiven Bakteriums (rechts) (38).

Beim gramnegativen Bakterium erkennt man die Zellmembran (unten) sowie die äussere Zellwand (oben). Das grampositive Bakterium hat hingegen nur eine Zellmembran (unten) und eine mehrlagige Schicht an Mehrfachzuckern und Aminosäuren (Peptidoglycan).

## Antibakterielle Stoffe

In vielen Honigen gibt es nicht nur einen einzigen Stoff, der für die antibakterielle Aktivität verantwortlich ist. Es ist vielmehr ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren, die ihm schlussendlich seine Wirkung verleihen. Die bekanntesten Ursachen für die antibakterielle Aktivität sind der tiefe Wassergehalt und die damit einhergehende hohe Osmolarität des Honigs, der hohe Zuckeranteil, der tiefe pH-Wert, das im Honig entstehende  $H_2O_2$  sowie diverse nicht-peroxide Stoffe wie beispielsweise das Molekül Methylglyoxal (MGO) aber auch Phenolsäuren und Flavonoide (1).



Abbildung 2: Mögliche Ursachen für die antibakterielle Wirkung von Honig (39).

Besonders im Bereich der nicht-peroxiden antimikrobiellen Stoffe ist die Forschung noch nicht so weit fortgeschritten, dass man einem spezifischen Honig einen konkreten Stoff zuordnen kann. Die Schwierigkeit bei der Erforschung von Honig liegt darin, dass er aufgrund seiner Matrix (Zusammensetzung und Struktur) schwer zu analysieren ist (vgl. Kapitel 2.1). Ausserdem unterscheidet sich seine Komposition stark von Art zu Art, weshalb Aussagen, die auf einen bestimmten Honig zutreffen, nicht zwingend für andere Honige stimmen müssen.

### 2.2.1 Entstehung und Wirkung von MGO

#### Struktur von MGO

Beim Molekül MGO handelt es sich um einen antibakteriellen Wirkstoff, der für den Manuka Honig typisch und nicht zuletzt für dessen wirtschaftlichen Erfolg verantwortlich ist (vgl. Kapitel 2.3).

MGO ist eine  $\alpha$ ,  $\beta$ -Dicarbonylverbindung, die zwei funktionelle Gruppen besitzt: eine Ketongruppe und eine Aldehydgruppe (vgl. Abbildung 3). Sowohl die Keton- als auch die Aldehydgruppe weisen eine hohe Reaktivität auf, wobei diese bei letzterer stärker ist. Die Dicarbonylgruppe von Methylglyoxal kann leicht mit Aminogruppen von Proteinen und mit

Nukleinsäuren (DNA und RNA) reagieren (9). Diese Reaktion wird als Maillard Reaktion bezeichnet.

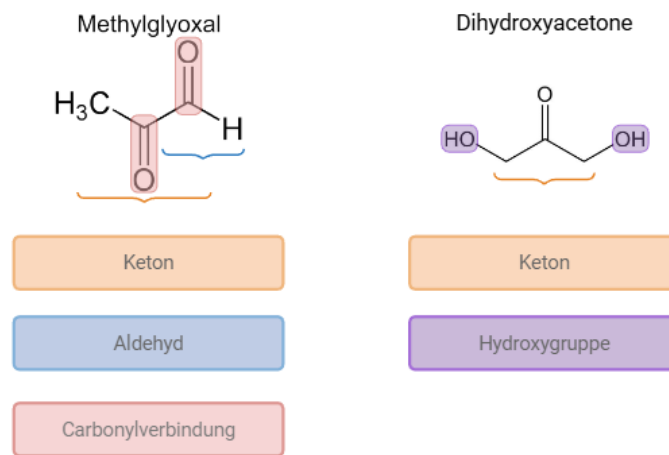


Abbildung 3: Struktur der beiden in Manuka Honig enthaltenen Moleküle MGO und DHA (43)

### Entstehung von MGO

Das im Honig anwesende MGO entsteht nach einer nicht-enzymatischen Maillard Reaktion aus dem Vorgängermolekül Dihydroxyaceton (DHA). DHA ist ein simples Molekül, das sich aus einer Ketongruppe sowie zwei Hydroxygruppen zusammensetzt (vgl. Abbildung 3). Aufgrund seiner hohen Reaktivität kann es viele verschiedene Reaktionen eingehen (10). Im Manuka Honig erfolgt die Umwandlung von DHA zu MGO während der ersten 12-24 Monate nach der Ernte des Honigs. In dieser Zeit nimmt das aus dem Blütennektar von *Leptospermum scoparium* stammende DHA im Honig ab und das MGO zu (11). In der Literatur werden zwei verschiedene mögliche Umwandlungsreaktionen beschrieben (12).

Die erste Theorie besagt, dass unter ausschliesslich sauren Bedingungen DHA dehydriert und damit in MGO umgewandelt wird. Unter basischen Umständen hingegen resultiert aus der Isomerisierung von DHA das Molekül Glycerinaldehyd. In Pufferlösungen wie Phosphat- oder Acetatlösungen, die sowohl saure als auch basische Bedingungen ermöglichen, können beide Reaktionen parallel ablaufen, sodass sowohl MGO als auch Glycerinaldehyd entstehen können.

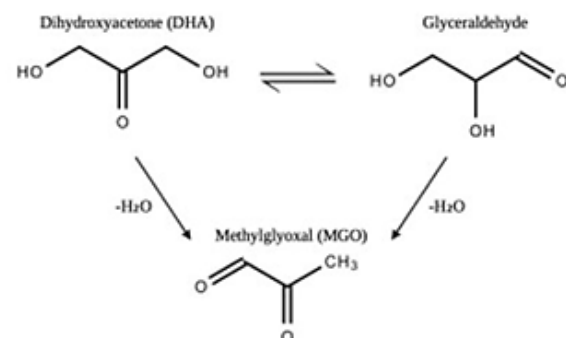


Abbildung 4: Erster möglicher Entstehungsprozess von MGO aus DHA in Manuka Honig (12).

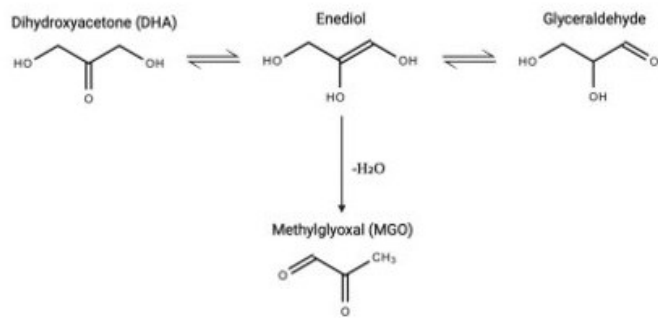


Abbildung 5: Zweiter möglicher Entstehungsprozess von MGO aus DHA über ein Enediol als Zwischenprodukt (12).

Eine zweite Möglichkeit der Entstehung von MGO ist die folgende: Sowohl DHA als auch Glycerinaldehyd bilden ein vorübergehendes Enediol (ein Molekül, das eine Hydroxygruppe enthält, die an ein Kohlenstoffatom gebunden ist, das wiederum eine Doppelbindung zum nächsten Kohlenstoffatom hat (13)). Aus diesem Molekül entsteht nach dem Dehydrierungsprozess das Molekül MGO.

Die beiden Aminosäuren Lysin und Arginin, die im Manuka Honig enthalten sind, können als Katalysatoren in der Umwandlungsreaktion von DHA zu MGO agieren.

### Wirkung von MGO auf *S. aureus* Bakterien

Die antibakterielle Wirkung von MGO lässt sich auf dessen Fähigkeit zurückführen, Proteine durch Quervernetzung zu deaktivieren (12). Die Quervernetzung bezeichnet eine physikalische oder chemische Bindung, die reaktive Gruppen oder Moleküle wie beispielsweise MGO innerhalb eines Systems durch unterschiedlich starke Wechselwirkungen miteinander verknüpft, etwa durch kovalente oder ionische Bindungen sowie Wasserstoffbrücken (14).

Die antiseptische Wirkung von MGO variiert zwischen verschiedenen Bakterienarten. So ist bekannt, dass MGO *Pseudomonas aeruginosa* durch Zelllyse (Aufbrechen der Zellmembran bzw. der Zellwand) abtöten kann, *S. aureus* Bakterien hemmt es dagegen bei ihrer Zellteilung (vgl. Abbildung 6). Unter normalen Bedingungen duplizieren Bakterienzellen ihre Chromosomen während der letzten Phase der Zellteilung und es bildet sich ein proteinreicher Ring (das Septum), der quer durch die sich teilende Zelle verläuft. Die beiden Tochterzellen bleiben zunächst noch miteinander verbunden. Erst, wenn das Enzym Endolysin die Septenstruktur zwischen den Tochterzellen abbaut, können diese sich vollständig voneinander trennen (2). MGO hindert jedoch das Enzym an dessen Wirkung, weshalb sich das Bakterium nach der erfolgreichen Duplizierung seiner Erbsubstanz nicht teilen kann.

Es gibt zudem Belege dafür, dass Manuka Honig für das Schrumpfen von Bakterienzellen verantwortlich ist und die Kondensation von Chromosomen in *B. subtilis* und *S. aureus* Bakterien verursacht hat (15). In Studien wird die von MGO ausgehende Wirkung als bakterizid (Bakterien tötend) beschrieben (12).

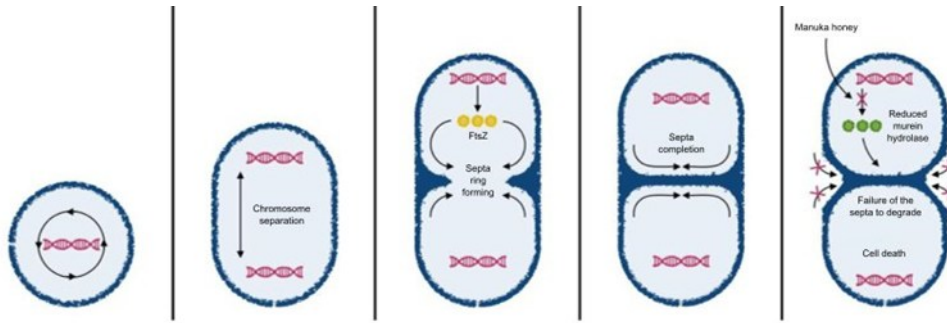


Abbildung 6: Hemmung der Zellteilung in *S. aureus* Bakterien aufgrund von MGO (2).

1. Die Bakterienzelle funktioniert normal weiter und bereitet sich auf die Zellteilung vor.
2. Die Bakterienzelle verdoppelt das genetische Material und trennt die Chromosomen auf die gegenüberliegenden Seiten der sich teilenden Zelle.
3. Die Septenbildung beginnt in der Mitte der sich teilenden Zelle. Dieses Protein bindet andere Zellteilungsproteine.
4. Die Septenbildung ist abgeschlossen, die beiden Tochterzellen werden voneinander getrennt.
5. Das Enzym Endolysin, das für den Abbau der Septenstruktur benötigt wird, wird durch MGO gehemmt. Die beiden Zellen bleiben zusammen und sterben schliesslich ab.

Aufgrund der grampositiven Zellstrukturen (vgl. Kapitel 2.2) von sowohl *S. aureus* als auch *B. subtilis* Bakterien ist zu erwarten, dass die in der Literatur beschriebene Wirkung von MGO auf *S. aureus* derjenigen auf das in dieser Arbeit verwendeten *B. subtilis* Bakteriums gleicht. Die Wirkung von MGO sowie mögliche Resistenzmechanismen, die vom Bakterium *B. subtilis* ausgehen, werden im Diskussionsteil dieser Arbeit genauer erläutert (vgl. Kapitel 5).

## 2.2.2 Entstehung und Wirkung von Wasserstoffperoxid

### Entstehung von $H_2O_2$

Das im Honig anwesende Enzym Glukoseoxidase (GOD) reagiert in einem chemischen Prozess zusammen mit Glukose, dabei entsteht das Zwischenprodukt  $\delta$ -Gluconolaceton, welches anschliessend zu Gluconsäure und Wasserstoffperoxid hydrolysiert wird (3) (vgl. Abbildung 7).

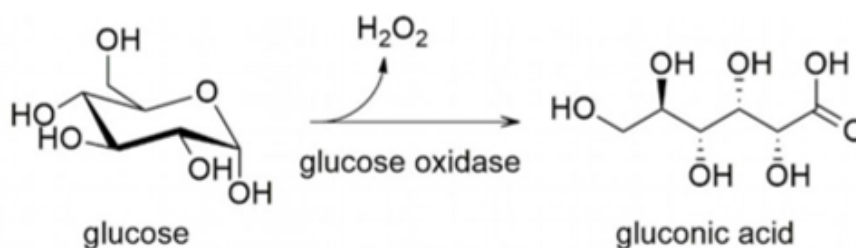


Abbildung 7: Chemische Reaktion zur Entstehung von Wasserstoffperoxid (16).

Mehrere Studien gehen davon aus, dass  $H_2O_2$  in den meisten nicht-Manuka Honigen hauptsächlich für die antibakterielle Wirkung zuständig ist (3), (12). Die oben beschriebene Oxidationsreaktion ist jedoch nur in einer wässrigen Umgebung möglich,

weshalb sie nur in unreifen oder verdünnten Honigen stattfinden kann. Die Reaktion ist zudem von einer Vielzahl Faktoren abhängig und kann durch Veränderung von Parametern wie Hitze, Licht und Lagerung beeinflusst werden (4).

Im Manuka Honig ist zwar ebenfalls Wasserstoffperoxid enthalten, aber im Vergleich zu anderen Honigsorten, die eine durchschnittliche  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration von 1 mM aufweisen (7), ist dessen Anteil dort sehr gering (12). Die antibakterielle Wirkung von Wasserstoffperoxid kann durch das Enzym Katalase gehemmt werden (vgl. Kapitel 2.1). Da Katalase vom menschlichen Gewebe häufig in Wundumgebungen freigesetzt wird, wird dort die Aktivität von  $\text{H}_2\text{O}_2$  und somit die Wirksamkeit von nicht-Manuka Honigen entsprechend reduziert (2).

### **Wirkung von $\text{H}_2\text{O}_2$**

Die Konzentration von Wasserstoffperoxid im Honig ist bei einigen Honigsorten direkt proportional zu dessen antibakteriellen Aktivität, weshalb man davon ausgeht, dass das Molekül grösstenteils für diesen Effekt verantwortlich ist (15). Eine genaue Erklärung für den hemmenden Mechanismus hinter dem  $\text{H}_2\text{O}_2$  im Honig wurde noch nicht gefunden. Neuste Erkenntnisse weisen jedoch darauf hin, dass eine signifikant hohe Konzentration von Wasserstoffperoxid benötigt wird, damit dieses einen zytotoxischen Effekt auf Bakterien haben kann (17). Die allgemein in Honigen gemessene Konzentration von Wasserstoffperoxid (0.4 – 2.6 mM) liegt jedoch deutlich unter der Konzentration, die für eine antibakterielle Wirkung erforderlich wäre. Dennoch zeigen Honige eine nachweisbare antibakterielle Aktivität. Eine Studie geht deshalb davon aus, dass Wasserstoffperoxid nach seiner Entstehung als Folge einer Redox-Reaktion zu Hydroxid ( $\text{OH}^-$ ) reduziert wird und die daraus entstandenen  $\text{OH}^-$ -Ionen aufgrund ihrer starken Reaktivität für oxidativen Schaden an Bakterienzellen sorgen. Es wird vermutet, dass das Hydroxid mit jenen Zellbestandteilen reagiert, indem es als Oxidationsmittel fungiert, sprich Elektronen aufnimmt, und so beispielsweise Moleküle in der DNA der Bakterienzelle beschädigt (17). Weitere Studien berichten zudem, dass das Wachstum von *E. coli* und *B. subtilis* Bakterien nach der Behandlung mit Honig, der eine hohe Konzentration an Wasserstoffperoxid aufweist, gehemmt werden konnte. Zudem konnte der Abbau von DNA in den Bakterienzellen festgestellt werden (15).

### 2.2.3 Antibakterielle Wirkung durch weitere Faktoren

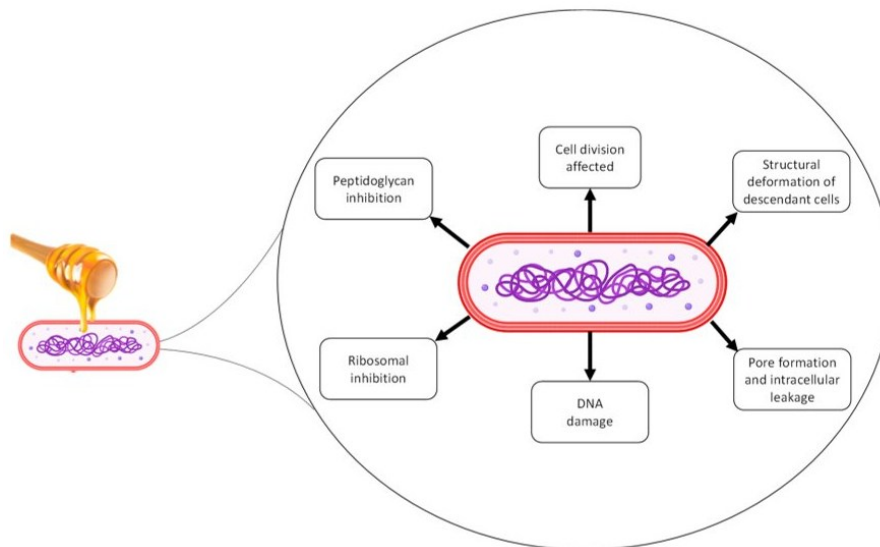


Abbildung 8: Verschiedene in der Literatur bereits beschriebene Wirkungsmechanismen von Honig auf Bakterien (15).

#### Osmolarität

Aufgrund des hohen Zuckeranteils besonders in unverdünntem Honig wird osmotischer Druck auf Bakterienzellen ausgeübt. Dies hat einen Transport von Wassermolekülen aus der Zelle zur Folge, was wiederum zu einer Dehydrierung der Bakterienzellen führt. Dehydrierte Zellen können nur schwierig wachsen und sich vermehren. Sobald Honig verdünnt wird (zum Beispiel durch Flüssigkeiten bei einer Infektionsstelle am Körper) wird die Wirkung des Honigs auf die Bakterien geschwächt (7).

#### Hoher Zuckergehalt

Glukose und Fruktose im Honig werden durch das Enzym Invertase von Mehrfachzuckern in Einfachzucker umgewandelt. Zusammen mit anderen Zuckerarten machen sie mit 75% einen sehr grossen Anteil im Honig aus (vgl. Kapitel 2.1). Der hohe Zuckergehalt stört mikrobelle Zellfunktionen, da Zucker in Prozesse der Nährstoff- und Wasseraufnahme eines Mikroorganismus eingreifen kann (1).

#### Tiefer pH-Wert

Der pH-Wert von Honig liegt mit 3.2-4.5 im sauren Bereich. Dieser ist auf die Anwesenheit organischer Säuren zurückzuführen. Vor allem Gluconsäure, die aus der Reaktion von Glukose und Glukoseoxidase hervorgeht (vgl. Kapitel 2.2.2), ist für den sauren pH verantwortlich. Die meisten Bakterien bevorzugen ein neutrales Milieu (pH-Wert zwischen 6.5 und 7.5). In einer sauren Umgebung wie dem Honig wird ihr Wachstum hingegen gehemmt (7).

## Phenolische Verbindungen

Phenolische Verbindungen sind chemische Substanzen, die in ihrer Molekülstruktur mindestens eine Phenolgruppe (auch Hydroxybenzol genannt) enthalten. Bei den Stoffen handelt es sich oft um sekundäre Pflanzenstoffe (18). Im Gegensatz zu primären Pflanzenstoffen wie Chlorophyll, Aminosäuren und einfachen Kohlenhydraten sind sekundäre Pflanzenstoffe nicht an existenziellen Prozessen in der Pflanze wie der Nährstoffaufnahme, der Zellatmung, dem Stofftransport oder der Zellentwicklung beteiligt (3). Im Honig kommen sowohl Phenolsäuren als auch Flavonoide vor. Beide gehören zur Gruppe der phenolischen Verbindungen, unterscheiden sich jedoch in ihrer Struktur voneinander. Phenolsäuren sind kleinere, weniger komplexe Moleküle mit mindestens einer Hydroxygruppe, während Flavonoide stets aus drei Phenolringen bestehen.

Während der Honigherstellung vermischen Bienen ihre Körperflüssigkeiten mit Blütennektar und mit Sekreten aus Pflanzen, die teilweise phenolische Verbindungen enthalten. Auf diese Weise gelangen diese Stoffe in den Honig (18).

Einige phenolische Verbindungen im Honig wie Pinocembrin und Serum Acid sollten antibakteriell wirken, indem sie als Antioxidantien freie Radikale (sehr reaktive Moleküle) neutralisieren (15). Andere Studien gehen davon aus, dass Phenolsäuren und Flavonoide Schäden an der Zellmembran von Bakterien verursachen können und möglicherweise in den bakteriellen Stoffwechsel eingreifen (1). Die genauen Wirkmechanismen dieser Stoffgruppe sind jedoch noch nicht vollständig erforscht (15).

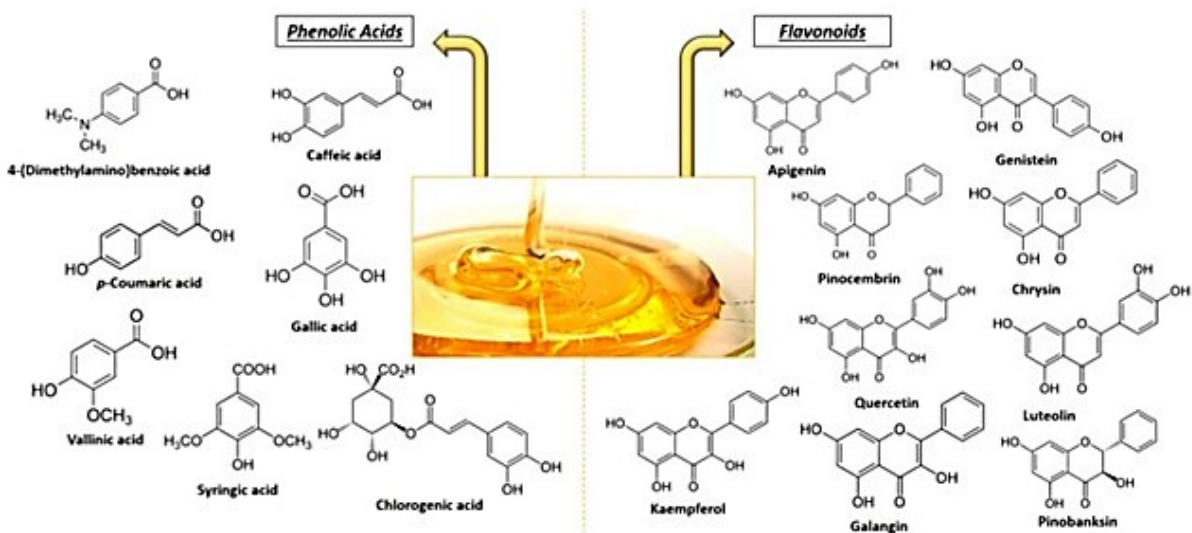


Abbildung 9: Häufigste Phenolsäuren (links) und Flavonoide (rechts), die in Honigen vorkommen (3).

## 2.3 Manuka Honig: Ökonomische Aspekte

Manuka Honig ist ein sortenreiner Honig aus Neuseeland, der von der Bienenart *Apis mellifera* produziert wird und aus dem Nektar der in Neuseeland einheimischen Pflanze *Leptospermum scoparium* entsteht. Manuka Honig ist für seine starke antibakterielle Wirkung bekannt, die hauptsächlich auf den hohen Gehalt an Methylglyoxal (38-725 mg/kg) (2) zurückzuführen ist. Der globale Marktwert von Manuka Honig im Jahr 2024 lag laut verschiedenen Einschätzungen zwischen 400 und 750 Mio. US Dollar (19), (20). Das wachsende Interesse an natürlichen Gesundheitsprodukten, die zunehmende Verwendung von Manuka Honig in Kosmetika sowie dessen Einsatz in der Behandlung antibiotikaresistenter Infektionen sind Gründe dafür, dass die Nachfrage nach Manuka Honig in den kommenden Jahren voraussichtlich noch weiter ansteigen wird (20), (19). Experten gehen deshalb davon aus, dass der Marktwert bis zum Jahr 2033 auf 1'230.51 Mio. US Dollar ansteigen wird (20).

Gerade weil der neuseeländische Honig so beliebt ist, wurden verschiedene Systeme erarbeitet, um dessen Qualität, Authentizität und Wirkstärke zu überprüfen. Eines der häufigsten Klassifizierungssysteme ist der Unique Manuka Factor (UMF®), dessen Werte zwischen 5+ und 25+ variieren. Der UMF® ist ein global anerkannter Index, der von der Konzentration vier verschiedener für Manuka Honig typischer Moleküle abhängt: MGO, DHA, Leptosperin und 5-Hydroxymethylfurfural (21). Je höher der Wert, desto teurer der Honig. Manuka Honig kann 6 bis 25 mal so teuer sein wie ein herkömmlicher Honig (22). Während man für 250 g eines Qualitätshonigs bei einem lokalen Imker ca. 10 CHF bezahlt, kostet die gleiche Menge eines zertifizierten Manuka Honigs (400 mg MGO pro kg) 70 CHF.



Abbildung 10: Produktbild  
Manuka Honig MGO 400+ (40)

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Material

Folgende Materialien wurden für die dieser Arbeit zugrundeliegenden Laborexperimente verwendet:

- **M:** Manuka Honig: Mānuka Health New Zealand, MGO 400, 250 g
- **R:** Raps Honig: Les Miels Suisses, 500 g
- **H:** Winterthurer Frühlingsernte (2025): Hard Honig, 250 g
- **U:** Schweizer Alphonig (2023): Berg & Tal, 500 g
- **W:** Wilermer Sommerhonig (2024): 250 g
- Agar: Carl Roth AE93.1
- Bacillus Subtilis (BGA-)Sporensuspension: Merck 1.10649.0001
- Destilliertes Wasser: Labor KSHP
- Phosphat Puffer (pH 6.5): Labor KSHP
- Methylglyoxal-Lösung (MGO): 40%, Sigma-Aldrich, Co., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103, USA
- Katalase von Rinderleber: 2000-5000 units/mg, Sigma-Aldrich, Co., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103, USA
- Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>): 35%, Carl Roth
- Acetonitril (MeCN) UCL-MS: Biosolve chimie, France, 20 rue Roger Husson, 57260 Dieuze
- O-(2,3,4,5,6-Pentafluorbenzyl)-hydroxylamin-hydrochlorid (PFBHA), 98%, Sigma-Aldrich, 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103, USA
- Anisol, Sigma-Aldrich, 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103, USA

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Präparation Probelösungen und Agarplatten

#### Honige

Insgesamt wurden für die Experimente fünf verschiedene Honigsorten aus unterschiedlicher geografischer Herkunft verwendet: Manuka Honig (M), Raps Honig (R), Hard Honig (H), Wilermer Honig (W) und Alphonig (U). Alle Honige bis auf den Manuka Honig stammen aus der Schweiz. Der Hard- sowie der Wilermer Honig sind zudem mit dem goldenen Siegel ausgezeichnet und wurden somit gemäss den Vorschriften des Schweizer Honigreglements (23) produziert. Der Manuka Honig wurde in einer Apotheke, der Rapshonig in einem Delikatessenladen und die übrigen Honige direkt bei lokalen Imkern gekauft. Sie wurden geschlossen bei Raumtemperatur aufbewahrt, ein gelegentlicher Kontakt mit Tageslicht kann dabei nicht ausgeschlossen werden.

#### Honig-Stammlösungen (SL)

Für die Honiglösungen wurde der Honig jeweils mit einem Holzspatel aus dem Glas in ein Reagenzglas oder in ein Eppendorf Gefäss gefüllt und mit Wasser gelöst (Konzentration: 3.7 g/ml). Das Lösen wurde mit einer Eppendorf Pipette (1000 µl) durchgeführt. Die Honiglösungen wurden mit dem Vortex Rührgerät homogenisiert, mit Parafilm abgedeckt oder in einem geschlossenen Eppendorf Gefäss bei Raumtemperatur bis zur Verwendung aufbewahrt. Lösungen, die älter als zwei Tage waren, wurden nicht mehr für Experimente mit Agarplatten verwendet. Für einige Versuche wurde die Stammlösung weiter verdünnt, indem noch zusätzlich destilliertes Wasser dazugegeben wurde, sodass 1:2, 1:5 und 1:10 Lösungen entstanden. Diese wurden ebenfalls gevortext und bis zur weiteren Verwendung geschlossen bei Raumtemperatur aufbewahrt.

#### pH-Wert

Für die Bestimmung des pH-Werts der einzelnen Honiglösungen wurde ein elektrisches pH-Messgerät verwendet (827 pH lab, Metrohm, swiss made). Die Spitze des Instruments wurde vor Gebrauch mit destilliertem Wasser abgespült und anschliessend in die Honiglösung eingetaucht. Der pH-Wert wurde gelesen und notiert, sobald sich dieser stabilisiert hatte.

#### MGO-Lösung

Zur Herstellung einer 1 M MGO-Lösung wurden zu 1.59 ml einer 40% MGO-Lösung (6.3 M) mit einer Eppendorf Pipette 10 ml destilliertes Wasser hinzugegeben. Anschliessend wurde die Lösung gevortext und bis zur weiteren Verwendung geschlossen und im Dunkeln bei 4 °C aufbewahrt.

## **DHA-Lösung**

Um eine 10 M Stammlösung von DHA herzustellen, wurden 0.9 g des DHA-Feststoffs mit einer Feinwaage abgewogen und mit 1 ml destilliertem Wasser vermischt. Zur Homogenisierung der Lösung wurde das Vortex Rührgerät verwendet. Die DHA-Lösung wurde ebenfalls bis zum Gebrauch geschlossen und im Dunkeln bei 4 °C aufbewahrt.

## **Katalase**

Für die Herstellung der Katalase-Stammlösung wurden 5 mg Katalase in 1 ml Phosphatpuffer mit pH-Wert 7 gelöst und anschliessend gevortext. Bevor die Lösung für die Agardiffusionstests verwendet wurde, wurde sie für ca. 10 min bei 30 °C aufbewahrt.

## **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung**

Für die Herstellung einer 1 M Wasserstoffperoxid-Lösung wurden mit einer Eppendorf Pipette 1.02 ml einer 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung in 10 ml destilliertem Wasser gelöst. Die Lösung wurde bis zum Gebrauch bei 4 °C im Dunkeln aufbewahrt. Die Stammlösung wurde in einigen Experimenten weiter verdünnt, indem ihr noch zusätzlich destilliertes Wasser beigegeben wurde, woraufhin 100 mM, 10 mM und 1 mM Wasserstoffperoxid-Lösungen entstanden.

## **Honiglösungen mit DHA**

Um eine mögliche Herstellung von MGO aus dem künstlich beigegebenen DHA auf Bakterienplatten nachweisen zu können, wurden drei weitere Honiglösungen in Wasser angemischt. Die Vorgehensweise war die gleiche wie die unter Kapitel 3.2.3 beschriebene, statt 3.7 g/ml wurden jedoch 37 g/ml Honig verwendet. Über eine Zeitspanne von vier Wochen wurden mit einer Eppendorf Pipette 200 µl jeder Honiglösung entnommen und ebenfalls bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C aufbewahrt.

## **Giessen der Agarplatten**

Für die Herstellung der Agarplatten wurden 18.5 g Agar in 500 ml kochendem Wasser aufgelöst. Nachdem die Flüssigkeit auf 50 °C abgekühlt war, wurde pro Liter Nährboden 1 ml *B. subtilis* Sporensuspension unter Umrühren zugesetzt. Daraufhin wurden jeweils 15 ml des Nährbodens in Petrischalen ausgegossen. Zur längerfristigen, sterilen Lagerung wurden die Agarplatten in Kunststoffolie eingewickelt und bei 4 °C für bis zu zwei Wochen im Kühlschrank aufbewahrt.

### **3.2.2 Agardiffusionstests**

Die antibakterielle Wirkung der einzelnen Honige und der weiteren Moleküle, die in Versuchen verwendet wurden (DHA, MGO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), wurde anhand von Agardiffusionstests, auch Hemmhoftests genannt, analysiert. Die Experimente wurden jeweils innerhalb einer

Zeitspanne von zwei Wochen nach dem Giessen der Platten durchgeführt. Um Löcher in den Nährboden der Agarplatten zu stanzen, wurde die Rückseite einer Glaspipette verwendet. Zur Sterilisierung wurde diese zuvor mit Ethanol abgespült und über dem Bunsenbrenner erhitzt. Es wurden jeweils 40 µl des zu analysierenden Stoffes anhand von Eppendorf Pipetten in die Löcher gefüllt. Die Platten wurden anschliessend entweder bei Raumtemperatur (RT) oder bei 30 °C im Inkubator gelagert, wobei die Aufbewahrungsdauer je nach Experiment zwischen 24 h und 240 h variierte.

### 3.2.3 Präparation Probenlösungen HPLC-Chromatografie

#### Honiglösungen mit DHA für HPLC-Analyse

Für das Langzeitexperiment wurden insgesamt sechs Tubes vorbereitet. Von den Honigsorten H, R und M wurde jeweils mit einem Holzspatel zwei Mal 3.7 g aus dem Glas in einen Falcon Tube gefüllt. Die Honige wurden auf zwei verschiedene Arten gelöst. In drei Tubes wurde mit einer Eppendorf Pipette 10 ml destilliertes Wasser hinzugegeben, während die übrigen drei Honige in 10 ml Phosphat Puffer (pH 6.5, 50 mM) gelöst wurden. Alle Lösungen wurden mit dem Vortex Rührgerät homogenisiert. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine erste Probe von 100 µl entnommen. Anschliessend wurde alle Präparaten 100 µl von einer 10 M DHA-Lösung hinzugegeben. Nach der Zugabe von DHA wurden die Lösungen fünf Mal geschüttelt, anschliessend wurde aus jedem Tube eine zweite Probe von 100 µl genommen. Die sechs Tubes wurden geschlossen bei 30 °C aufbewahrt und über eine Zeitspanne von sechs Wochen wurde wöchentlich aus jedem Präparat eine 100 µl Probe entnommen. Die entnommenen Substanzproben wurden bis zur HPLC-Analyse im Gefrierschrank bei -20 °C aufbewahrt.

#### Analyse mit HPLC: Vorbereitung der Honigproben sowie der Blank Probe

Damit die Honigproben für HPLC-Chromatografie verwendet werden konnten, mussten sie davor derivatisiert werden (24). Dazu wurden jeweils 50 µl der in H<sub>2</sub>O oder Phosphatpuffer gelösten Proben gevortext und mit einer Eppendorf Pipette in Glas-Vials gefüllt. Anschliessend wurde der Derivatisierungsreagenz vorbereitet. Dazu wurden 200 mg des Reagenz (PFBHA) in 15 ml Zitronensäure (0.1 M) gelöst, der pH-Wert wurde mit einer 1 M NaOH-Lösung auf 4.0 fixiert. Daraufhin wurde die Lösung gevortext und mithilfe eines Ultraschall Geräts weiter homogenisiert. Danach wurden jeder Honigprobe 250 µl des Derivatisierungsreagenz mit einer Multipipette hinzugegeben. Die Proben wurden gevortext und für 75 min bei RT stengelassen, damit die Derivatisierung stattfinden konnte. Daraufhin wurden in jede Honigprobe mit einer Multipipette 350 µl einer Verdünnungslösung (H<sub>2</sub>O/MeCN 1:3 mit 260 µl Anisol/ml) und 350 µl MeCN hinzugegeben. Anisol wurde später als interner Standard verwendet. Da die Flüssigkeit (besonders beim Hard Honig) trotz vortexen noch trüb war, wurden alle Proben durch eine Spritze, an die ein 0.45 µm PTFE-Filter angebracht war, filtriert und in neue Vials gefüllt.

Die Nullprobe wurde auf identische Weise vorbereitet, statt der Honigproben wurde jedoch 50 µl H<sub>2</sub>O verwendet.

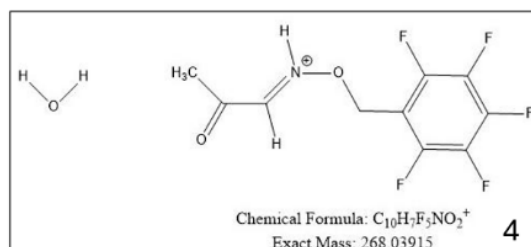
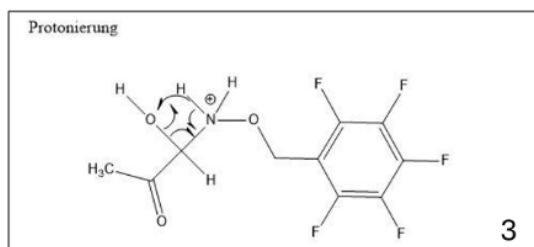
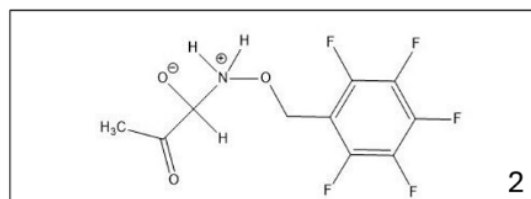
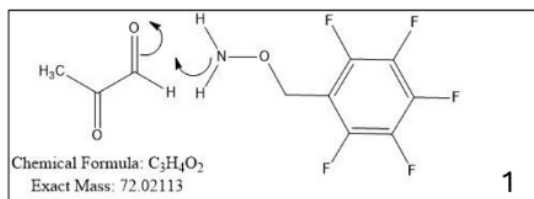


Abbildung 11: Derivatisierungsprozess von MGO mit Derivatisierungsmolekül PFBHA (41)

### 3.2.4 Durchführung HPLC-Chromatografie

#### Analyse mit HPLC: Kalibrierstandards

Für die Kalibrierung wurden MGO- sowie DHA-Standards vorbereitet. Dazu wurden mit einer Feinwaage 10.35 mg einer 40% MGO-Lösung eingewogen. Zu 250  $\mu$ l dieser SL wurden 750  $\mu$ l destilliertes Wasser hinzugegeben, woraufhin eine Arbeitslösung (WS1) entstand. Anschliessend wurden zu 40  $\mu$ l der WS1-Lösung 960  $\mu$ l  $H_2O$  hinzugegeben (WS2). Nachfolgend wurden WS1 und WS2 und  $H_2O$  verschieden kombiniert, sodass MGO-Konzentrationen von 5.0  $\mu$ g/ml (STD 1), 50  $\mu$ g/ml (STD 2), 400  $\mu$ g/ml (STD 3) und 800  $\mu$ g/ml (STD 4) erreicht wurden.

Für die DHA-Verdünnungsreihe wurde eine ähnliche Vorgehensweise angewandt. 10.63 mg DHA-Pulver wurde in 1 ml  $H_2O$  aufgelöst (SL). 200  $\mu$ l dieser SL wurden mit 800  $\mu$ l  $H_2O$  weiter verdünnt (WS1). 100  $\mu$ l der WS1-Lösung wurden mit 900  $\mu$ l  $H_2O$  weiter verdünnt (WS2). Erneut wurden WS1, WS2 und  $H_2O$  so kombiniert, dass schliesslich vier DHA-Standards mit der jeweiligen Konzentration von 20  $\mu$ g/ml (STD 1), 150  $\mu$ g/ml (STD 2), 500  $\mu$ g/ml (STD 3) und 1500  $\mu$ g/ml (STD 4) für die HPLC-Analyse zur Verfügung standen.

Die MGO- und DHA-Standards wurden auf die gleiche Weise wie die Honigproben derivatisiert.

#### Chromatographische Bedingungen HPLC

Die Proben wurden mit einem HPLC-Messgerät (Thermo Scientific UltiMate 3000) an der Universität Zürich (UZH) analysiert (vgl. Abbildung 13). Es wurde eine Waters Acquity BEH C18-Säule (100 mm  $\times$  2.1 mm, Partikelgrösse 1.7  $\mu$ m) verwendet (vgl. Abbildung 12). Die Durchflussrate lag bei 0.3 ml/min, das Volumen der Probeninjektion betrug 2  $\mu$ l und alle Messungen wurden bei 60  $^{\circ}C$  durchgeführt. Die mobile Phase A (MPA) war destilliertes



Abbildung 12: HPLC-Messgerät Thermo Scientific UltiMate 3000 (43)

Wasser, die mobile Phase B (MPB) 100% MeCN. Das Gradientenprogramm war 75% MPA / 25% MPB (1 min), 100% MPB (1-10 min) und 75% MPA / 25% MPB (10-14 min). Gemessen wurde mit einem UV\_VIS-Detektor bei einer Wellenlänge von 263-266 nm (DHA), 268-272 nm (Anisol) und 243-246 nm (MGO).

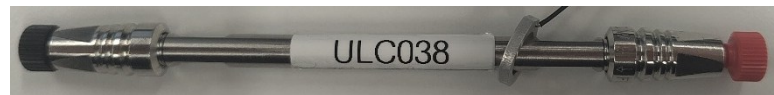


Abbildung 13: HPLC-Säule Waters Acquity BEH C18 (100 x 2.1) (43)

## Datenerhebung und Analyse

Um die Kalibrierkurve zur Quantifizierung der Analyten zu erstellen, wurden die vorbereiteten DHA- und MGO-Standards mit Anisol als interner Standard (ISTD) verwendet. Dazu wurde nach der HPLC-Messung mit Excel eine Eichgerade erstellt: Das Verhältnis der Peakfläche (Analyt/ISTD) wurde berechnet und gegen die bereits bekannte Konzentration des Analyten aufgetragen. Anschliessend wurde das Verhältnis der Fläche des Analyten zur Fläche des internen Standards für jede Honigprobe berechnet und schliesslich konnte an der Regressionsgerade die entsprechende Konzentration des zu analysierenden Stoffes abgelesen werden.

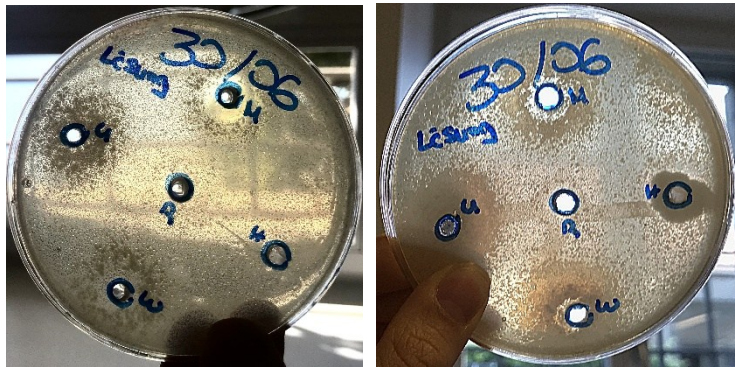
## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse Agarplatten

#### 4.1.1 Agardiffusionstests: Nachweis der antibakteriellen Aktivität von Honig

##### Ergebnisse Experiment I (1.7.2025)

Die verdünnten Honigsorten wurden für mehrere Stunden bei konstanter Temperatur inkubiert. Nach 10 h erkennt man ein erhöhtes Bakterienwachstum um U und W, während sich um R und H nur wenige Bakterien akkumuliert haben. Im Bereich um M hat sich ein klarer Hemmhof gebildet. Nach 48 h hat die Dichte der Bakterien um U, W und H weiter



zugenommen. Im umliegenden Bereich von R sind weiterhin nur wenige Bakterien zu erkennen. Ein erhöhtes Bakterienwachstum lässt sich ebenfalls um M erkennen, der Hemmhof ist deutlich kleiner geworden: Die antibakterielle Wirkung von M lässt mit der Zeit nach.

Abbildung 14: Agarplatte nach 10 h und 24 h Inkubation. U SL (links), M SL (oben), H SL (rechts), W SL (unten), R SL (Mitte) (43)

##### Ergebnisse Experiment II (3.7.2025)

Eine Agarplatte mit Honiglösungen (Konzentration 3.7 g/ml) wurde aufgesetzt und mehrere Stunden bei 30 °C inkubiert. Bereits nach 17 h zeichnet sich um M deutlich ein Hemmhof ab. Dieser bleibt auch nach 18 h weiter bestehen. Die Dichte der Bakterien, die sich in der Grenzzone des gehemmten Bereiches befinden, nimmt mit der Zeit jedoch zu.



Abbildung 15: Agarplatte nach 17 h, 18 h und 96 h Inkubation. H SL (links), R SL (oben), U SL (rechts), W SL (unten), M SL (Mitte) (43)

Das Wachstum um W und U verstärkt sich, in den Bereichen um H und R sind weiterhin nur wenige Kolonien erkennbar. Um H zeigt sich nach 18 h ebenfalls ein kleiner Hemmhof. Nach 96 h hat die Bakteriendichte besonders um M, U und W zugenommen, im Vergleich dazu sind um H und R weniger Kolonien zu erkennen.

### Ergebnisse Experiment III (18.8.2025)

Die Honig SL wurden auf einer Agarplatte für 48 h inkubiert. Der zunächst gut erkennbare Hemmhof um M ist nach längerer Inkubationszeit nicht mehr klar abgegrenzt. Im Gegensatz dazu ist nach 48 h um H eindeutig ein Hemmhof feststellbar.

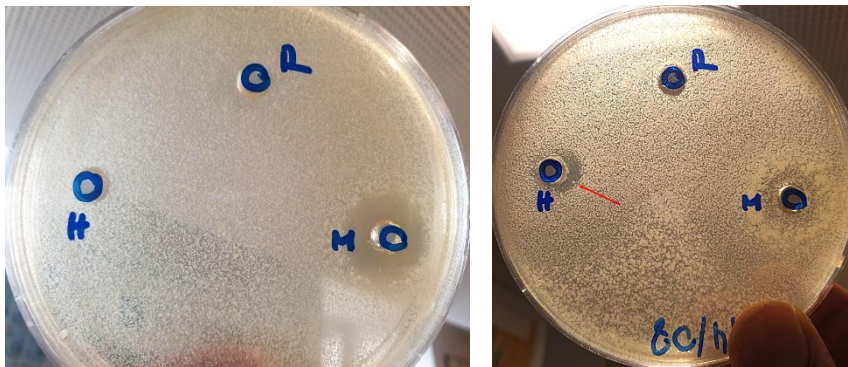


Abbildung 16: Agarplatte nach 24 h und 48 h Inkubation. H SL (links), R SL (oben), M SL (rechts) (43)

### Ergebnisse Experiment IV (2.9.2025)



Es wurde eine  $H_2O_2$ -Verdünnungsreihe (0.1 M, 0.01 M, 0.005 M, 0.001 M) auf einer Agarplatte angesetzt. Nach 24 h hat sich ausschliesslich um die 0.1 M Lösung ein Hemmhof gebildet, bei den anderen Konzentrationen war kein Hemmhof erkennbar.

Abbildung 17: Agarplatte nach 24 h Inkubation. 0.1 M  $H_2O_2$  (oben), 0.01 M  $H_2O_2$  (links), 0.005 M  $H_2O_2$  (Mitte), 0.001 M  $H_2O_2$  (rechts) (43)

## 4.1.2 Katalaseaktivität Assays: Wirkungsmechanismus ausgesuchter Honigsorten

### Ergebnisse Experiment V (2.9.2025)

Zur SL der Honigsorten H und R wurde jeweils eine Katalase-Lösung (1:10 Kat-Honig) beigegeben. Nach 24 h zeigen weder die SL von H und R noch die mit Katalase angereicherten Honiglösungen eine Wirkung. Nach weiteren 24 h bildet sich um H + Kat eine Bakterenschicht, die sich optisch von den umliegenden Kolonien abhebt. Statt der

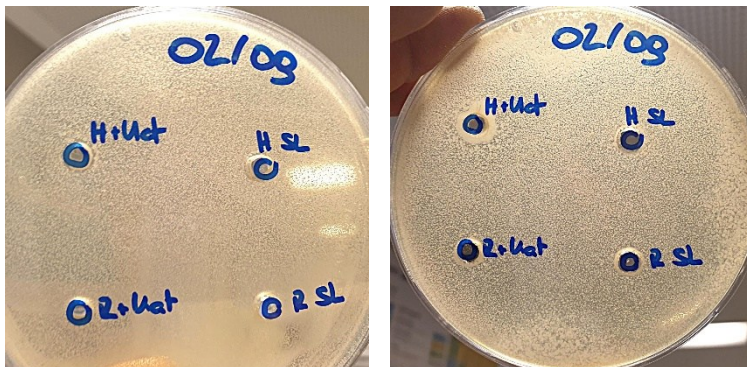


Abbildung 18: Agarplatte nach 24 h und 48 h Inkubation. H + Kat (oben links), H SL (oben rechts), R + Kat (unten links), R SL (unten rechts) (43)

gepunkteten Bakterienverteilung ist eine gleichmässige, komplett deckende Schicht erkennbar, ungefähr in der Grösse des Hemmhofs, der sich bei einem vorherigen Experiment um H gebildet hat (vgl. Ergebnisse Experiment III, 18.8.2025). Die H SL, die R SL und R + Kat zeigen nach 48 h keine Aktivität.

## 4.1.3 Synergismus Untersuchung verschiedener Wirkungsmechanismen

### Ergebnisse Experiment VI (8.9.2025)

Es wurden verschiedene Kombinationen der H SL und MGO sowie Katalase auf eine Platte aufgetragen: (1) H SL, (2) MGO, (3) H SL + MGO, (4) H SL + Katalase (1:10 Kat-Honig), (5) H SL + MGO + Katalase (1:10 Kat-Honig). Nach 19 h und 48 h Inkubation ist um (2), (3) und (5) eine gehemmte Zone erkennbar. (1) zeigt nach dieser Zeit keine Aktivität auf das *B. subtilis* Bakterium. Nach 48 h

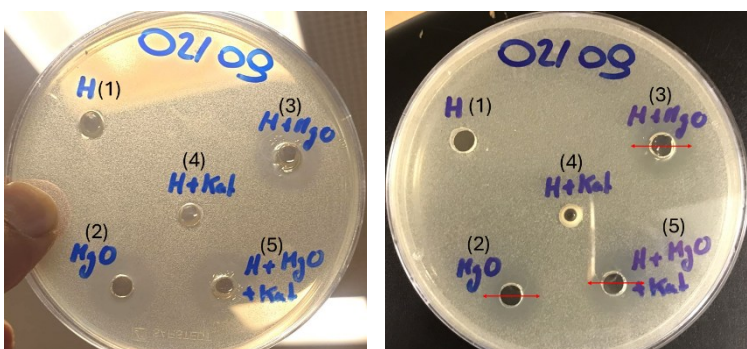


Abbildung 19: Agarplatte nach 19 h und 48 h Inkubation. H SL (oben links), H SL + 0.01 M MGO (oben rechts), H SL + Kat 1:10 (Mitte), 0.01 M MGO (unten links), H SL + 0.01 M MGO + Kat 1:10 (unten rechts) (43)

erkennt man um H SL + Katalase ausserdem eine leicht schmierige Bakterienkultur, die sich von der übrigen gepunkteten Bakterienkolonisation abhebt.

Die Hemmhöfe nach 48 h haben folgende Durchmesser:

(2): 13 mm

(5): 14 mm

(3): 15 mm

### Ergebnisse Experiment VII (4.11.2025)

Dasselbe Experiment wurde ein zweites Mal auf die identische Art und Weise durchgeführt, mit dem einzigen Unterschied, dass die Agarplatte während einer Zeitspanne von insgesamt 10 Tagen bei 30° C inkubiert worden ist. Nach 24 h zeigen sich

erneut Hemmhöfe um (2), (3) und (5). Diese sind bei (2) und (5) gleich gross, während der Hemmhof um die Probe (3) um 1 mm grösser ist. Nach 48 h Inkubation sind besonders die weissen, schmierigen Bakterienkulturen um (4) auffällig, die die gepunkteten Bakterienkulturen (sichtbar nach 24 h) ersetzt haben.

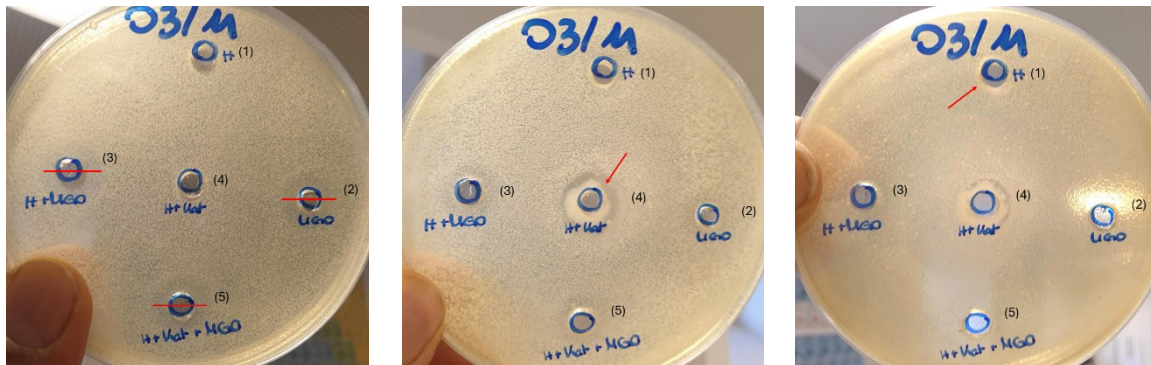


Abbildung 20: Agarplatte nach 24 h, 48 h und 240 h Inkubation. H SL (oben), H SL + 0.01 M MGO (links), H SL + Kat (Mitte), 0.01 M MGO (rechts), H SL + 0.01 M MGO + Kat 1:10 (unten) (43)

Die Hemmhöfe um die Proben (2), (3) und (5) sind nach 48 h weniger deutlich sichtbar als noch 24 h zuvor. Nach 240 h breitet sich das schmierige Bakterienwachstum auch um die nicht mit Katalase angereicherte H SL (1) aus.

## 4.2 Ergebnisse HPLC-Chromatografie

In einem Langzeitexperiment wurde MGO in die gelösten Honige M, H und R gegeben. Anschliessend wurden über einen Zeitraum von sechs Wochen Proben der Lösungen entnommen. Die qualitative und quantitative Analyse der einzelnen Honiglösungen erfolgte an der UZH mittels HPLC.

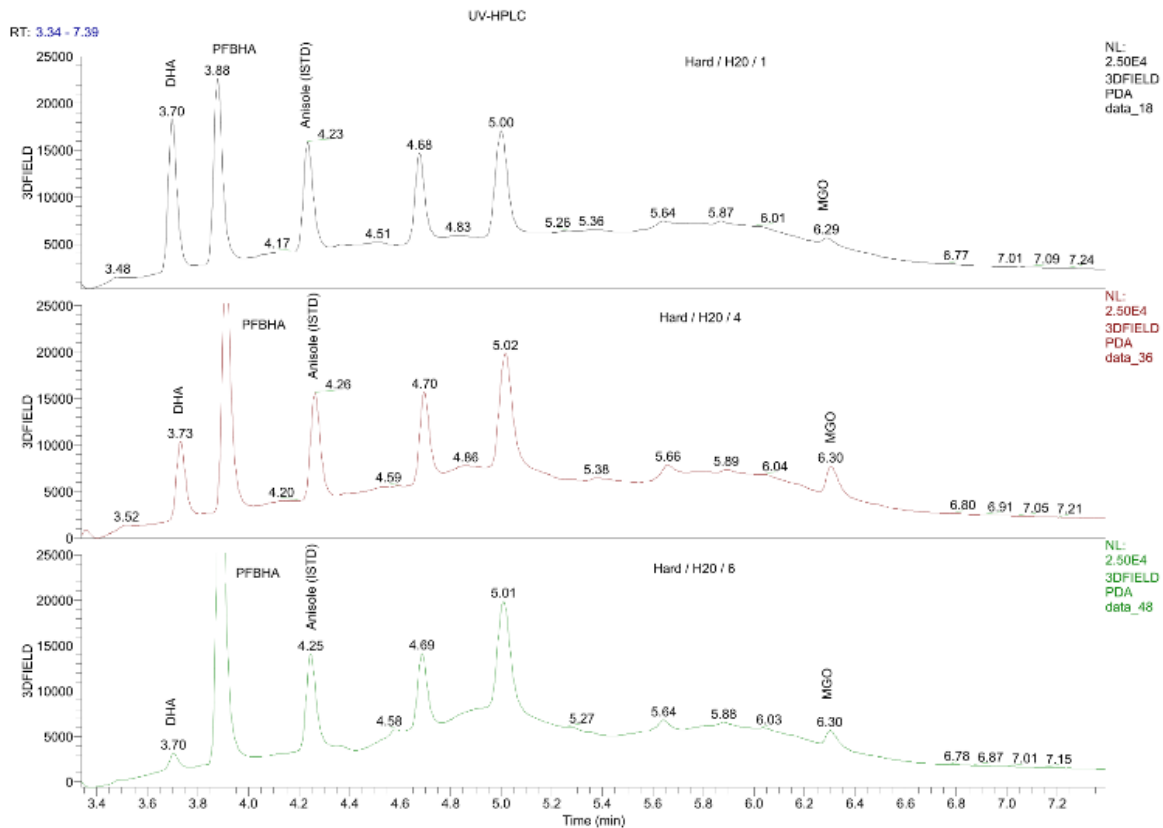


Abbildung 21: HPLC-Spektrum der wässrigen Proben des Hard Honigs Woche 1, Woche 4 und Woche 6 (44)

### 4.2.1 Qualitativer und Quantitativer Nachweis von DHA

#### Hard Honig

Vor der Beigabe von DHA in die SL von H (0.37 g/ml) ist weder in der wässrigen noch in der phosphathaltigen Lösung DHA detektiert worden (0).

**Wasser:** Nachdem das Molekül hinzugegeben worden ist, steigt die Konzentration von DHA in H<sub>2</sub>O zu ihrem maximalen Wert von 794 µg/ml an (1). Innerhalb der ersten fünf Wochen nach der Beigabe ist ein signifikanter Rückgang der DHA-Konzentration erkennbar, mit Ausnahme von (3), dort scheint die Konzentration weniger stark abzunehmen. Nach Zeitpunkt (5) sinkt der Stoffgehalt von DHA nur noch minim verglichen zu den vorherigen Wochen. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 696 µg/ml.

**Phosphatpuffer:** Ein ähnlicher Verlauf lässt sich auch bei den in Phosphatpuffer gelösten Honigproben feststellen. Die maximale Konzentration ist direkt nach der Zugabe von DHA gemessen worden (1) und beträgt 782 µg/ml. Zwischen Zeitpunkt (2) und (5) verringert sich der DHA-Gehalt beinahe linear. Nach Woche (5) nimmt dieser kaum noch ab. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 690 µg/ml.

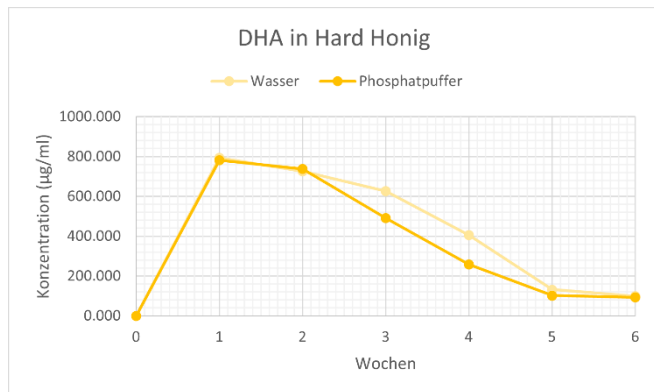


Abbildung 22: Konzentrationsverlauf DHA in Hard Honig über sechs Wochen (43)

Im Vergleich zu den in Wasser gelösten Proben ist die Abnahme des besagten Moleküls im Phosphatpuffer besonders während der Wochen (2) bis (5) stärker. Zum Zeitpunkt (6) sind die Konzentrationen jedoch beinahe wieder identisch.

## Manuka Honig

Sowohl die in H<sub>2</sub>O als auch die in Phosphatpuffer gelösten Honigproben von M weisen schon vor der Beigabe von DHA einen kleinen Anteil des Moleküls auf. Bei der wässrigen Probe beträgt dieser 161 µg/ml und bei der phosphathaltigen Probe 124 µg/ml.

**Wasser:** Nach der Zugabe von DHA erhöht sich der Gehalt des Moleküls und erreicht mit 1170 µg/ml seine maximale Konzentration (1). Anders als bei H wird das Molekül in M nur sehr gering abgebaut, der Konzentrationsverlauf ist sehr konstant. Zum Zeitpunkt (4) und (6) ist eine im Vergleich zu der vorigen Probe minimal höhere Konzentration erkennbar. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 229 µg/ml.

**Phosphatpuffer:** Der Konzentrationsverlauf von DHA in den phosphathaltigen Honigproben verhält sich ähnlich zu dem der wässrigen Proben. Die maximale Konzentration von 1009 µg/ml wird zum Zeitpunkt (1) erreicht. Nach der anfänglichen Abnahme ist zum Zeitpunkt (3) und (4) eine leichte Zunahme des Stoffes verglichen zur vorigen Probe ersichtlich. Daraufhin nimmt die DHA-Konzentration erneut ab. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 301 µg/ml.

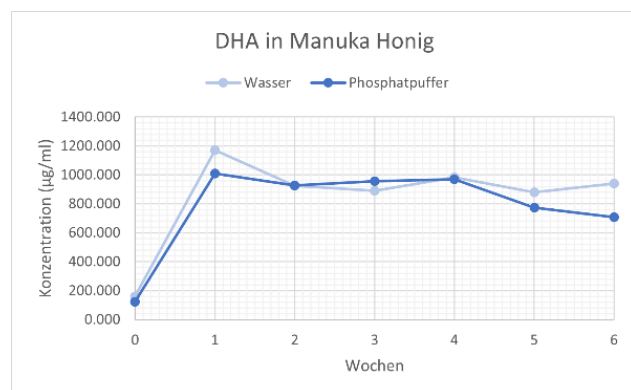


Abbildung 23: Konzentrationsverlauf DHA in Manuka Honig über sechs Wochen (43)

Im Vergleich zu den in Wasser gelösten Honigen baut sich DHA, wie es auch schon bei H der Fall war, stärker im Phosphatpuffer ab. Besonders in den Proben nach Zeitpunkt (5) und (6) ist ein deutlicher Unterschied zwischen den zwei Lösungsmitteln erkennbar. Die

Konzentration in der letzten gemessenen Probe (6) ist im Phosphatpuffer verglichen zu Wasser um 232 µg/ml geringer.

## Rapshonig

Im Honig R lag die Anfangskonzentration von DHA bei 0 µg/ml (0). Die Konzentration steigt mit der Beigabe des Moleküls zu ihrem Maximalwert an (1).

*Wasser:* Der Konzentrationsverlauf von DHA in den in H<sub>2</sub>O gelösten Honigproben gleicht demjenigen der wässrigen Honigproben von H. Nach der Anfangskonzentration von 888 µg/ml nimmt der Anteil des Moleküls bis zum Ende (6) beinahe linear ab. Nach Zeitpunkt (5) ist die Abnahme der DHA-Konzentration nur noch minim. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 627 µg/ml.

*Phosphatpuffer:* Die Reduktion des DHA-Moleküls in den phosphathaltigen Proben von R verhält sich ähnlich zur Konzentrationsabnahme in den wässrigen Proben. Nachdem die höchste Konzentration von 873 µg/ml (1) erreicht wurde, nimmt diese kontinuierlich ab. Bis zum Zeitpunkt (4) verringert sich der Gehalt jedoch weniger stark als danach. Der Konzentrationsunterschied zwischen (5) und (6) ist geringer als derjenige von (4) und (5). Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 737 µg/ml.

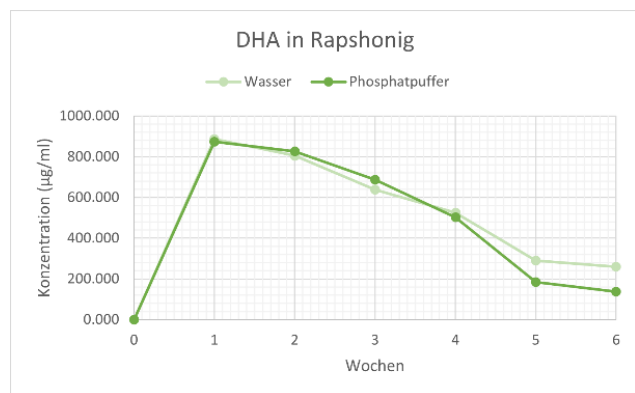


Abbildung 24: Konzentrationsverlauf von DHA in Rapshonig über sechs Wochen (43)

Innerhalb der ersten vier Wochen verhält sich die Abnahme des Moleküls in beiden Lösungsmitteln sehr ähnlich. Nach Zeitpunkt (4) ist im Phosphatpuffer jedoch ein deutlich stärkerer Abbau von DHA erkennbar, was dazu führt, dass die Endkonzentrationen 123 µg/ml voneinander abweichen.

## 4.2.2 Qualitativer und Quantitativer Nachweis von MGO

### Hard Honig

Bereits vor der Beigabe von DHA wurde im Honig H eine geringe MGO-Konzentration von 1.81  $\mu\text{g/ml}$  gemessen.

**Wasser:** Von (1) zu (2) steigt der Gehalt von MGO deutlich um 3.68  $\mu\text{g/ml}$  an und auch von (2) zu (3) ist eine Zunahme von 5.44  $\mu\text{g/ml}$  gemessen worden. Die höchste Konzentration des Moleküls (11.1  $\mu\text{g/ml}$ ) wird zum Zeitpunkt (3) erreicht. Danach nimmt der Anteil an MGO wieder ab. Die stärkste Abnahme erfolgt zwischen Zeitpunkt (4) und (5). Zwischen Woche (5) und (6) hat sich die Konzentration kaum verändert, sie beträgt zum Schluss 6.08  $\mu\text{g/ml}$ .

**Phosphatpuffer:** Der Konzentrationsverlauf in Phosphatpuffer verhält sich ähnlich zu demjenigen in den wässrigen Proben von H. Während der ersten drei Wochen ist ebenfalls eine deutliche Zunahme von MGO erkennbar. Die maximale Konzentration von 8.63  $\mu\text{g/ml}$  wird zum Zeitpunkt (3) erreicht. In den zwei darauffolgenden Wochen (4) und (5) nimmt die MGO-Konzentration linear ab. Nach Zeitpunkt (5) ist wieder eine leichte Zunahme von 0.111  $\mu\text{g/ml}$  feststellbar.

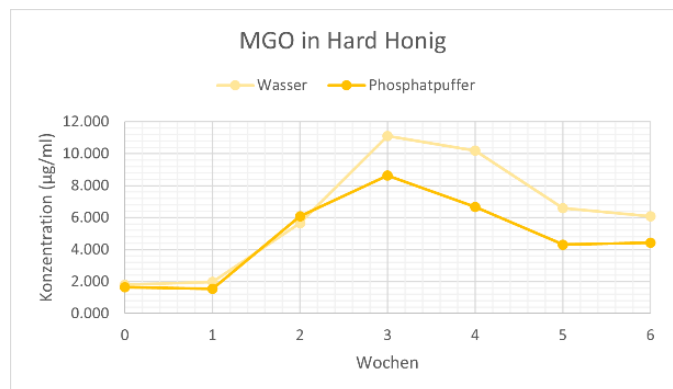


Abbildung 25: Konzentrationsverlauf MGO in Hard Honig über sechs Wochen (43)

In der Zeitspanne zwischen (1) und (2) verhält sich die MGO-Produktion in beiden Lösungen gleich. Auch die maximale Konzentration wird in beiden Fällen zum Zeitpunkt (3) erreicht, wobei diese bei in der wässrigen Lösung um 2.47  $\mu\text{g/ml}$  höher ist. In den Wochen danach ist sowohl in  $\text{H}_2\text{O}$  als auch im Phosphatpuffer ein Abbau des MGO-Moleküls erkennbar, die Endkonzentration in Wasser bleibt jedoch um 1.66  $\mu\text{g/ml}$  höher als im Phosphatpuffer.

### Manuka Honig

Im Honig M wurde bereits vor der Zugabe von DHA eine hohe MGO-Konzentration gemessen. Diese betrug in der wässrigen Lösung 514  $\mu\text{g/ml}$  und in der phosphathaltigen Lösung 407  $\mu\text{g/ml}$ .

**Wasser:** Trotz der Beigabe von DHA wurde in den in Wasser gelösten Honigproben von M kein Anstieg von MGO gemessen. Der Gehalt des Moleküls nimmt über die Zeit kontinuierlich ab, sodass die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (0 - 6) 136  $\mu\text{g/ml}$  beträgt. Ein besonders starker Abbau des Moleküls ist zwischen Zeitpunkt (4) und (5) erfolgt.

**Phosphatpuffer:** Auch im Phosphatpuffer ist über die Zeit ein kontinuierlicher Abbau von MGO zu beobachten. Ab Zeitpunkt (4) ist eine besonders starke Abnahme der Konzentration erkennbar. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration beträgt 228 µg/ml.

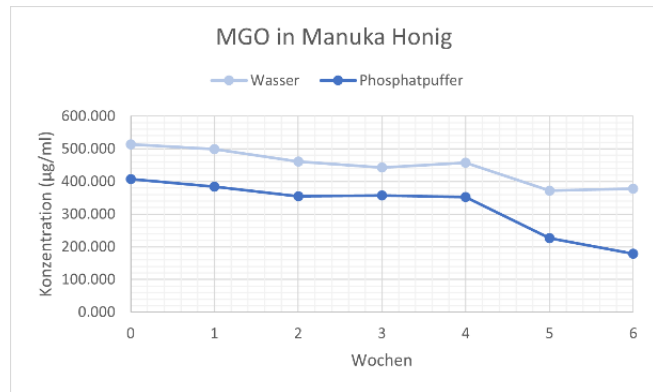


Abbildung 26: Konzentrationsverlauf MGO in Manuka Honig über sechs Wochen (43)

Verglichen mit den wässrigen Honigproben nimmt die MGO-Konzentration im Phosphatpuffer stärker ab, besonders ab Zeitpunkt (4). Die Startkonzentration (0) war in der phosphathaltigen Lösung bereits um 107 µg/ml geringer als diejenige in der wässrigen Lösung.

## Rapshonig

Im Honig R wurde bereits zum Zeitpunkt (0) sowohl in den wässrigen als auch in den phosphathaltigen Proben eine geringe Konzentration an MGO detektiert.

**Wasser:** Die Konzentration von MGO nimmt innerhalb der ersten vier Wochen (0 bis 4) stark zu. Das Wachstum zwischen Zeitpunkt (1) und (3) verhält sich linear. Nach Zeitpunkt (4) flacht die Konzentrationskurve allmählich ab, steigt jedoch weiterhin an. Die Differenz zwischen End- und Anfangskonzentration (6 - 1) beträgt 12.2 µg/ml.

**Phosphatpuffer:** Im Phosphatpuffer steigt die MGO-Konzentration besonders in den ersten drei Wochen (1 bis 3) stark an. Der maximale MGO-Gehalt von 11.3 µg/ml wird zum Zeitpunkt (4) erreicht. Danach sinkt die Konzentration wieder und stabilisiert sich nach Zeitpunkt (5). Die Differenz zwischen der End- und Anfangskonzentration (6 - 1) beträgt 7.09 µg/ml.

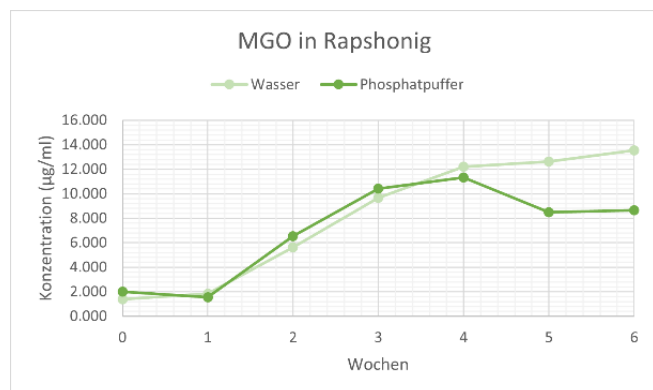


Abbildung 27: Konzentrationsverlauf MGO in Rapshonig über sechs Wochen (43)

Der Konzentrationsverlauf in den wässrigen Proben des Honigs R ist der einzige, der über die gesamte Zeitspanne hinweg stetig ansteigt. MGO scheint, wie auch bei H und M bemerkt, im Phosphatpuffer weniger stabil zu sein als in Wasser.

## Vergleich

Im Vergleich zum Honig M ist die MGO-Endkonzentration sowohl beim Honig R als auch beim Honig H sehr gering. Schaut man sich die wässrigen Lösungen an, ist in M 28-mal mehr MGO enthalten als in R und 62-mal mehr als in H. Die Produktion von MGO scheint in den mit Wasser gelösten Proben effizienter zu sein als in den mit Phosphatpuffer gelösten. Die erfolgreichste Umwandlung von DHA in MGO ist im Honig R in den wässrigen Proben beobachtet worden.

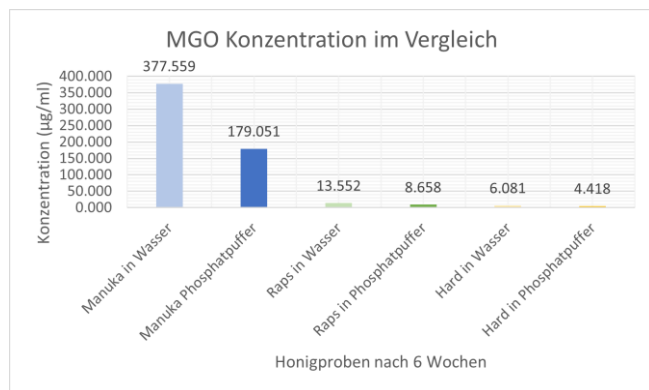


Abbildung 28: Endkonzentration nach sechs Wochen der verschiedenen Honiglösungen im Vergleich (43)

## 5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, eine wirksame und aus ökonomischer sowie ökologischer Sicht sinnvolle Alternative zum Manuka Honig im Bereich der Wundheilung zu eruieren. Hierzu wurde die antibakterielle Wirkung fünf verschiedener Schweizer Honigsorten auf *B. subtilis* in vitro untersucht. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass auch einheimische Honigsorten ein relevantes antibakterielles Potential besitzen, und eine mögliche Alternative zum Manuka Honig darstellen können. In folgenden Ausführungen werden verschiedene Ansätze und Stossrichtungen dazu erläutert, die ihrerseits weiterer Forschungsarbeit im Labor bedürfen.

### Triage der analysierten Honigsorten

Der Effekt, den Manuka Honig auf Bakterienzellen hat, ist bereits bekannt und in vielen Studien untersucht worden. Die Ergebnisse der Experimente, die in dieser Arbeit durchgeführt worden sind, bestätigen diese Aussagen. Bereits nach wenigen Stunden bildet sich um die Probe von Manuka Honig ein klarer Hemmhof. Die Tatsache, dass um zwei der Schweizer Honige, namentlich Rapshonig und Hard Honig (R und H), im Vergleich zu den übrigen einheimischen Honigsorten ein weniger starkes Bakterienwachstum festgestellt worden ist, deutet auf eine antibakterielle Wirkung letzterer hin.

Der Wilmerer Sommerhonig (W) sowie der Alphonig (U) zeigten hingegen keine wachstumshemmende Wirkung auf das Testbakterium. Vielmehr scheint ihr Einfluss die Vermehrung der *B. subtilis* Bakterien sogar zu fördern. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass die Bakterienzellen die im Honig enthaltenen Zucker und Nährstoffe als Energiequelle nutzen, wodurch deren Wachstum aufgrund des Überangebots an Ressourcen angeregt wird. Diese Honige können daher als nicht-inhibitorisch bzw. inaktiv in Bezug auf das Wachstum von *B. subtilis* bezeichnet werden, weshalb sie nicht für weitere Experimente verwendet wurden. Sie können daher als mögliche Basishonige für weitere Forschungsarbeiten im Rahmen dieser Arbeit nicht in Betracht gezogen werden (vgl. Ergebnisse Experimente I und II).

### Unterschiedliche Wirkungsmechanismen

Die Wirkungsweise der beiden Schweizer Honige scheint sich von derjenigen von Manuka Honig zu unterscheiden. Im Gegensatz zu letzterem bilden sich um diese beiden Honigsorten nach 24 Stunden nämlich keine Hemmhöfe. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die gleichen inhibitorischen Stoffe in diesen Honigen in einer geringeren Konzentration als in Manuka Honig vorhanden sind. Diese Annahme kann jedoch durch die Ergebnisse des Bakterienwachstums nach einer Inkubationszeit von zwei, drei und vier Tagen widerlegt werden (vgl. Ergebnisse II). Der zu Beginn entstandene Hemmhof um Manuka zieht sich nach dieser Zeit zurück und die Anzahl der Bakterienkulturen um den Honig nimmt stark zu. Die Bakteriendichte um den Hard- sowie Rapshonig bleibt hingegen auch nach gleicher Zeitdauer sehr gering. Wären in den Schweizer Honigen die gleichen antiseptischen Substanzen in geringerer Konzentration vorhanden, würde das Bakterienwachstum um diese Honige nach 96 Stunden stärker sein als beim Manuka Honig.

## **Zeitlich beschränkte Wirkung von Manuka Honig**

Die Tatsache, dass sich der entstandene Hemmhof um Manuka mit der Zeit wieder zurückzieht, deutet auf eine lediglich kurzfristige und bakteriostatische Aktivität hin (12). Studien gehen stark davon aus, dass diese Aktivität durch das Molekül MGO verursacht wird (vgl. Kapitel 2.2.1). Es scheint, dass *B. subtilis* die Wirkung von MGO mit der Zeit neutralisieren kann. Folgende Wirkungsmechanismen wurden in der Literatur bereits erläutert: Ein möglicher Mechanismus zur Entgiftung von MGO in Bakterienzellen umfasst die Anwesenheit zweier Enzyme (Glyoxalase I & II) in *B. subtilis*. Diese beiden Enzyme agieren innerhalb des Glyoxalase-Systems und können MGO in D-Laktat umwandeln. Studien bestätigen zudem, dass die drei Enzyme (YdeA, YraA und YfkM) in den Zellen von *B. Subtilis*, diese Fähigkeit ebenfalls besitzen. Das Produkt D-Laktat kann in den Zellen anschliessend weiterverarbeitet oder aus der Zelle ausgeschieden werden. Eine weitere Form der Neutralisierung von MGO erfolgt durch das Enzym YhdN, dessen Präsenz in Bakterienzellen von *B. Subtilis* ebenfalls belegt ist. Es kann MGO zu Aceton reagieren lassen, womit es Methylglyoxal ebenfalls entgiften kann (25) (vgl. Ergebnisse Experiment II).

## **Unterschiedliche Wirkungsmechanismen bei Schweizer Honigen**

Es ist evident, dass bei den Schweizer Honigen ein anderer bakterienhemmender Wirkmechanismus zugrunde liegt als bei Manuka Honig. Anhand weiterer Experimente wurden die Honigsorten H und R und deren Wirkung genauer untersucht. Die Resultate zeigen, dass die Wirkung von H erst nach 48 Stunden nachweisbar ist, feststellbar an einem kleinen Hemmhof. Das Bakterienwachstum um den Rapshonig bleibt weiterhin allgemein gering, eine klar gehemmte Zone ist jedoch nicht erkennbar (vgl. Ergebnisse Experiment III).

Anfangs wurde angenommen, dass der Mechanismus hinter der Aktivität von H und derjenigen von R der gleiche sei. Dies wurde jedoch durch die Ergebnisse des Katalase-Experimentes widerlegt. Laut mehreren Studien (vgl. Kapitel 2.2.2) wird die inhibitorische Wirkung herkömmlicher Honigsorten (nicht-Manuka Honige) vor allem durch Wasserstoffperoxid vermittelt. Dessen Entstehung in verdünntem Honig verläuft über eine längere Zeitspanne (7), was eine mögliche Ursache für die verspätete Wirkung des Honigs H sein könnte. Um die Rolle von  $H_2O_2$  im Hard- und Rapshonig zu untersuchen, wurden zusätzliche Agarplatten aufgesetzt. Die Honigproben dieser Experimente wurden mit Katalase ergänzt, einem Enzym, das die Herstellung von Wasserstoffperoxid verhindern soll (vgl. Kapitel 2.1). Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden ist um den Hard Honig mit Katalase eine dichte Bakterenschicht zu erkennen (vgl. Ergebnisse Experiment V), was darauf schliessen lässt, dass die Katalase die antibakterielle Wirkung durch die Zersetzung von  $H_2O_2$  aufhebt. Damit bestätigen die Ergebnisse die in Studien beschriebene Bedeutung von Wasserstoffperoxid für die bakterienhemmende Wirkung von Hard Honig. Im Gegensatz zu diesem scheint Rapshonig trotz der Beigabe des Enzyms nach 48 Stunden immer noch einen Einfluss auf das Bakterienwachstum zu haben. Aufgrund der beschränkten Ressourcen (Zeit und Material) konnte die Wirkung von Rapshonig nicht weiter untersucht werden. Es kann jedoch angenommen werden, dass der Effekt von nicht-peroxiden Stoffen wie Phenolsäuren oder Flavonoiden ausgeht (15), (1), (4).

## **Zeitpunkt der Wasserstoffperoxid-Wirkung**

Um die Aktivität der reinen  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Substanz mit derjenigen des Wasserstoffperoxids im Honig zu vergleichen, wurde eine Wasserstoffperoxid-Lösung auf eine Platte aufgetragen. Bereits nach 24 Stunden entsteht um die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Probe mit der höchsten Konzentration ein kleiner Hemmhof, der die Wirksamkeit des Stoffes auf *B. subtilis* Bakterien bestätigt (vgl. Ergebnisse Experiment IV). Eine mögliche Ursache für das rasche Eintreten der Wirkung beim reinen Stoff, im Gegensatz zur vermutlich  $\text{H}_2\text{O}_2$ -abhängigen Wirkung im Hard Honig (erst nach 48 Stunden) ist die unterschiedliche Verfügbarkeit von Wasserstoffperoxid. In der reinen Lösung liegt  $\text{H}_2\text{O}_2$  sofort in wirksamer Konzentration vor, während es im Honig zunächst gebildet werden muss, bevor es antibakteriell wirken kann. Das Ergebnis eines Experiments zeigt zudem, dass die vom Wasserstoffperoxid ausgehende Wirkung nur für ca. zehn Tage anhält (vgl. Ergebnisse Experiment VII). Nach besagter Inkubationszeit ist nämlich auch um den Honig ohne zugesetzte Katalase eine ähnliche Dichte an Bakterien erkennbar, wie bei der Probe mit Katalase. Dies weist darauf hin, dass *B. subtilis* Bakterien einen Abwehrmechanismus besitzen, der das  $\text{H}_2\text{O}_2$  nach einiger Zeit neutralisieren kann. Dieser scheint wissenschaftlich noch nicht erforscht zu sein.

## **Kombination der Wirkmechanismen im Honig**

Nachdem die antibakteriell wirksamen Komponenten im Hard- und Manuka Honig identifiziert worden sind ( $\text{H}_2\text{O}_2$  bzw. MGO), stellt sich die Frage, ob sich die beiden Wirkmechanismen miteinander kombinieren lassen. Dies wäre besonders in der Anwendung für honigbasierte Arzneimittel von Interesse. Können die schnell eintretende Wirkung von MGO und der langanhaltende Effekt von  $\text{H}_2\text{O}_2$  gemeinsam genutzt werden?

Um dieser Frage genauer nachzugehen, wurde die Hemmhofgrösse von reinem MGO mit derjenigen einer mit MGO angereicherten Honiglösung (des Honigs H) verglichen (vgl. Ergebnisse Experiment VI). Der Durchmesser des mit MGO kombinierten Honigs ist nach 48 Stunden 2 mm grösser als derjenige von purem MGO. Dies lässt annehmen, dass der Honig das hinzugegebene Molekül aufnehmen kann, welches seinerseits wiederum die antibakterielle Wirkung verstärkt. Die Ergebnisse des Versuches stützen damit die Aussage einer Studie (26), dass die Zugabe von MGO die Hemmwirkung eines wenig oder nicht aktiven Honigs gegenüber Bakterien steigern kann. Eine mögliche Kombination verschiedener bereits bekannter Wirkungsmechanismen ist demnach nicht auszuschliessen.

Durch die Zugabe des Moleküls MGO, das bereits von sich aus antibakteriell wirksam ist, konnte die Aktivität von Hard Honig gesteigert werden. Studien belegen, dass auch durch die Beigabe des Vorgängermoleküls DHA die Möglichkeit besteht, nicht-Manuka Honige in ihrer antibakteriellen Wirkung zu verstärken (2).

## **Explorative Analysen zur Stimulation der MGO-Produktion in nicht-Manuka Honigen**

In vorliegender Arbeit wurde deshalb untersucht, ob die natürliche Umwandlung von DHA in MGO (vgl. Kapitel 2.2.1) auch im Raps- sowie im Hard Honig künstlich initiiert werden kann, damit es in den Schweizer Honigsorten ebenfalls zur Bildung von MGO kommt. Dazu wurde ein Langzeitexperiment aufgesetzt, das über sechs Wochen lief (vgl. Kapitel

3.2.3). Die Ergebnisse der mit HPLC-Chromatografie analysierten Proben zeigen, dass der Abbau von DHA in H und R zeitlich mit der Bildung von MGO übereinstimmt und dass die Menge an DHA um denselben Faktor 5 abnimmt, wie MGO zunimmt (vgl. Ergebnisse in Kapitel 4.2.1). Jedoch bleibt die MGO-Konzentration in den Schweizer Honigen verglichen mit Manuka Honig sehr gering. Studien beschreiben, dass die Umwandlung des Vorgängermoleküls in MGO ein langsamer Prozess ist, der in Honig bis zu 24 Monate dauern kann (11). Aufgrund der vergleichsweise kurzen Zeitspanne des Experiments ist daher nachvollziehbar, dass bislang nur geringe Mengen an MGO gebildet wurden.

Trotz eines nahezu identischen Abbaus von DHA in wässrigen und phosphathaltigen Lösungen ist die Konzentration des daraus entstandenen MGO in allen getesteten Honigsorten höher, wenn sie in Wasser gelöst wurden. Eine denkbare Erklärung hierfür ist, dass Lösungen mit neutralem pH-Wert wie Phosphatpuffer, sowohl saure als auch basische Bedingungen zulassen. Dies führt dazu, dass DHA teilweise zu MGO dehydriert (unter sauren Umständen) und teilweise zu Glycerinaldehyd isomerisiert wird (in basischem Milieu). In wässrigen Lösungen, die mehrheitlich sauer sind, verläuft die Reaktion dagegen primär in Richtung MGO (12). Es ist deshalb anzunehmen, dass in phosphathaltigen Lösungen auch Glycerinaldehyd entstanden ist (vgl. Kapitel 2.2.1). Dies wurde im Rahmen der Laboranalysen für diese Arbeit nicht gemessen.

Unerwarteterweise ist in den Blindproben des Rapshonigs und des Hard Honigs ein kleiner Anteil von MGO detektiert worden. Verschiedene Faktoren könnten hierfür verantwortlich sein. Da die Analyse der Stoffe in einem professionellen Labor mit hochsensiblen Geräten durchgeführt worden ist und die Beobachtung zudem gleich bei zwei verschiedenen Honigen auftritt, ist ein Messfehler unwahrscheinlich. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass in der für die HPLC verwendeten Säule noch Rückstände der vorhergehenden Probe zurückgehalten wurden. Vor der H0-Probe wurden die MGO-Standards gemessen und vor der R0-Probe die Manuka Blindprobe. Da in beiden Fällen der vorhergehende Analyt eine hohe MGO-Konzentration aufweist, können die trotz Säulenspülung zurückgebliebenen Reste die nachfolgenden Messungen beeinflusst haben. Minimalste Konzentrationen von MGO könnten deshalb in den Nullproben von H und R nachgewiesen werden. Eine alternative, ebenfalls plausible Erklärung könnte sein, dass es sich beim detektierten Molekül der Nullproben nicht um MGO handelt. Die Stoffe in den Honigproben wurden aufgrund ihrer Polarität getrennt und anhand ihrer Retentionszeit identifiziert (vgl. Kapitel 3.2.4). Es besteht deshalb die Möglichkeit, dass ein ähnlich polares Molekül anstelle von MGO erfasst wurde. Ausserdem wurden die Proben nach der HPLC-Analyse wegen ihrer zu hohen Viskosität nicht noch zusätzlich massenspektrometrisch untersucht. Dadurch war eine eindeutige Identifizierung der Stoffe über ihre Masse nicht möglich, weshalb eine inkorrekte Zuordnung der Signale nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

Auffallend ist die drastische Abnahme von MGO im Manuka Honig, die nach vier Wochen auftritt, obwohl der Konzentrationsverlauf zuvor weitgehend stabil war. Zeitgleich wurde in den Manuka-Lösungen Schimmelpilzwachstum festgestellt, was auf die nicht vollständig sterilen Arbeitsbedingungen zurückzuführen ist (vgl. Disclaimer). Es ist deshalb denkbar, dass zwischen beiden Beobachtungen ein Zusammenhang besteht. MGO ist aufgrund seiner Aldehydgruppe sehr reaktiv, weshalb es ab einer gewissen Konzentration toxisch wirken kann (vgl. Kapitel 2.1.1). Um dem entgegenzuwirken, haben

einzelne Pilze Methoden entwickelt, wie sie die Struktur von MGO verändern und es damit neutralisieren können. Einer dieser Organismen ist die Backhefe *Saccharomyces cerevisiae*. Sie besitzt Gene, die für die im Glyoxalase-System relevanten Enzyme Glyoxalase I und II kodieren. Die beiden Enzyme sind an der Umwandlung von MGO in D-Laktat beteiligt. Glyoxalase I katalysiert die Umwandlung von MGO zu S-D Lactoylgutathion, während Glyoxalase II diesen Glutathion-Thiolester zu D-Laktat und Glutathion hydrolysiert (27). Der Schimmelpilz in den Manuka Lösungen konnte nicht identifiziert werden, weshalb genauere Aussagen über die Anwesenheit der Glyoxalase-Enzyme bzw. der Gene, die deren Synthese kodieren, nicht getroffen werden können. Da aber auch die Backhefe zum Reich der Pilze gehört, ist es denkbar, dass Schimmelpilze ebenfalls einen vergleichbaren Mechanismus zur Entgiftung von MGO besitzen, was eine allfällige Erklärung für die auffällige Abnahme von MGO in den von Schimmel befallenen Manuka Proben sein könnte.

In den wässrigen Proben des Raps- und Hard Honigs sowie in der phosphathaltigen Probe von Hard Honig ist kein von Auge detektierbarer Schimmelpilz entstanden. Trotz dessen ist in besagten Proben eine auffällige Abnahme von MGO nach drei Wochen erkennbar. Dies könnte daran liegen, dass die neu entstandenen MGO-Moleküle nach einer gewissen Zeit aufgrund ihrer hohen Reaktivität (vgl. Kapitel 2.1.1) in flüssigem Medium nicht mehr als freie Moleküle vorliegen, sondern sich an Zuckerreste, Proteine oder einzelne Aminosäuren gebunden haben (28) (vgl. Abbildung 29). Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine sogenannte Maillard Reaktion. Die Messung der MGO-Konzentration in den für die Arbeit verwendeten Honigproben erfolgte anhand von chromatographischer Trennung (basierend auf der Polarität der einzelnen Moleküle) und der Identifikation der Moleküle aufgrund ihrer spezifischen Retentionszeit (vgl. Kapitel 3.2.4). Bindet sich freies MGO während der Lagerungszeit an andere Moleküle, kann es mit HPLC-Chromatografie nicht mehr erkannt werden. Besonders in flüssiger Umgebung erfolgen viele chemischen Reaktionen, da die Mobilität der einzelnen Stoffe dann weniger eingeschränkt ist (29). Studien belegen, dass dieser Vorgang (Bindung von MGO an andere Moleküle) auch während der Lagerung von (viskosem) Manuka Honig auftritt (28). Die Bindung freier MGO-Moleküle an andere Stoffe könnte somit eine plausible Erklärung für den beträchtlichen Fall der MGO-Konzentration nach einigen Wochen in H und R Proben sein.

Die Maillard Reaktion ist ausserdem eine vom Schimmelpilz unabhängige mögliche Ursache für oben besprochene Abnahme von MGO in Manuka Honig.

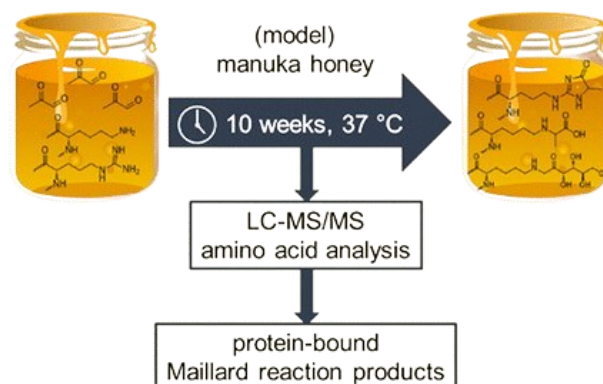


Abbildung 29: Vereinfachte Darstellung der Bindung von MGO an Zuckerreste über eine längere Zeitspanne (42)

## 6 Schlussfolgerung und Ausblick

Produkte der Firma Medihoney™ sind in vielen Ländern bereits für den medizinischen Gebrauch zugelassen und werden in der Schweiz auch von Krankenkassen vergütet (30). Medihoney™ setzt sich aus verschiedenen australischen und neuseeländischen Honigsorten aus *Leptospermum*-Arten zusammen, wovon einige grosse Mengen des Enzyms Glukoseoxidase enthalten (zuständig für die Produktion von Wasserstoffperoxid) und andere eine starke H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> unabhängige (MGO basierte) antibakterielle Wirkung entfalten (31).

Medizinischer Honig wird auch von anderen Firmen wie Advancis Medical in Produkten wie Actilite®, Activon® und Algivon® im Schweizer Arzneimittelmarkt verwendet. Im Bereich der Wundheilung werden Pflaster und Salben, denen medizinischer Honig zugrunde liegt, unter anderem zur Behandlung von krebskranken Kindern eingesetzt. Ärzte bestätigen, dass dadurch deren Wundheilungsprozess um mehrere Wochen verkürzt werden kann (32).

Auch Atemwegsinfektionen können mit Honig behandelt werden, so sind beispielsweise zahlreiche Halspastillen auf Manuka Basis im Handel erhältlich. Verschiedene Studien haben die Wirkung von Honig auf Husten und Halsschmerzen untersucht. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, dass Honig eine mildernde Wirkung auf die Stärke und Frequenz des Hustens hat und dessen Dauer um ein bis zwei Tage verkürzen kann. Die getesteten Honige zeigten sogar eine effizientere Wirkung als Standardmedikamente (oftmals Antibiotika) (33).

Die wachsende Antibiotikaresistenz von Bakterien spricht ebenfalls für einen Einsatz von medizinischem Honig im Arzneimittelmarkt. Ergebnisse von Studien, die die Wirkung von Honig auf resistente Bakterien untersucht haben, zeigen nämlich, dass Manuka- und Jelly Bush Honig aus Neuseeland respektive Australien wirksam gegen Bakterien sind, die bereits eine Antibiotikaresistenz entwickelt haben. Ausserdem passten sich die getesteten Bakterien im Verlauf der Studie nicht an die Honige an, sodass die Wirksamkeit der Honige erhalten blieb (34). Somit ist die Verwendung von medizinischem Honig auch gegen MRSA-Infektionen (verursacht durch ein resistentes *S. aureus* Bakterium) denkbar.

In vorliegender Arbeit wurde experimentell untersucht, ob sich auch ein Schweizer Medihoney™ erstellen liesse, der die grundlegenden antibakteriellen Mechanismen der langfristigen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Bildung und der kurzfristigen MGO-Wirkung umfasst. Die Ergebnisse der Experimente zeigen, dass dies grundsätzlich möglich ist. So konnte durch die Zugabe des Vorgängermoleküls DHA die Produktion des anfänglich fehlenden MGO in lokalen Honigen (besonders im Rapshonig) angeregt werden.

Der Einsatz von Schweizer Honig zur Wundbehandlung ist demnach möglich, erscheint sowohl wirtschaftlich als auch ökonomisch sinnvoll und könnte zudem dabei helfen, den exzessiven Antibiotikaeinsatz zu reduzieren. Besonders das in dieser Arbeit aufgezeigte Langzeitexperiment müsste dafür allerdings noch weiter vertieft und durch Veränderung einzelner Parameter optimiert werden.

Folgende Anpassungen wären denkbar:

- Veränderung des pH-Werts der verwendeten Lösung (tiefer)
- Wahl eines besser geeigneten Lösungsmittels (kein Phosphatpuffer)
- Erhöhung der initialen Konzentration von DHA
- Änderung der Lagerungstemperatur zu 37 °C (35)
- Einsatz eines anderen Testbakteriums (z.B. MRSA)

## 7 Literaturverzeichnis

1. **Ogwu, Matthew Chidozie und Izah, Sylvester Chibueze.** Honey as a Natural Antimicrobial. *Antibiotics*. 2025, Bd. 14.
2. **Lloyd Roberts, Aled Edward, Brown, Helen Louise und Jenkins, Rowena Eleri.** On the antibacterial effects of manuka honey: mechanistic insights. *Research and Reports in Biology*. 29. Oktober 2015.
3. **Cienciosi, Daniela, et al.** Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. *Molecules*. 2018, Bd. 23.
4. *Natürliche antibiotische Eigenschaften des Honigs.* **Bogdanov, Stefan und Blumer, Pascale.** 2, Schweiz : s.n., 2001, Bd. 124.
5. **Brudzynski, Katrina, et al.** Re-examining the role of hydrogen peroxide in bacteriostatic and bactericidal activities of honey. *frontiers in MICROBIOLOGY*. 25. Oktober 2011, Bd. 2, 213.
6. *Invertase activity in honey.* **Oddo, Livia Persano, Piazza, Maria Gioia und Pulcini, Patrizio.** Paris : Inra/DIB/AGIB/Elsevier, Paris, 1999, Bd. 30.
7. **Albaridi, Najla A.** Antibacterial Potency of Honey. *International Journal of Microbiology*. 2019, Bd. 2019.
8. **Qui, Haofeng, et al.** The Mechanisms and the Applications of Antibacterial Polymers in Surface Modification on Medical Devices. *frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 11. November 2020, Bd. 2020.
9. **Hoque, Tahsina S., et al.** Methylglyoxal: An Emerging Signaling Molecule in Plant Abiotic Stress Responses and Tolerance. *frontiers in Plant Science*. 13. September 2016, Bd. 2016.
10. **Bricotte, Léo, et al.** Dihydroxyacetone: A User Guide for a Challenging Bio-Based Synthon. *Molecules*. 17. März 2023, Bd. 28, 2724.
11. **Howse, Steve.** DHA and MGO: The Most Common Testing in Mānuka Honey. *New Zealand Beekeeper*. Februar 2019, Bd. 27, 1.
12. **Feng, Youlin.** Antibacterial Properties of Manuka Honey and the Role of Methylglyoxal. *Journal of Student Research*. 30. November 2023, Bd. 12, 4.
13. **goong.com.** [Online] [Zitat vom: 4. Dezember 2025.] <https://goong.com/de/word/enediol-bedeutung--deutsch/>.
14. **Jayachandran, Brindha, et al.** Insights on Chemical Crosslinking Strategies for Proteins. *Molecules*. 2022, Bd. 27.
15. **Romário-Silva, Diego, et al.** Antimicrobial Activity of Honey against Oral Microorganisms: Current Reality, Methodological Challenges and Solutions. *Microorganisms*. 2022, Bd. 10.
16. **Hillscher, Laura M., et al.** Functional paper-based materials for diagnostics. *ChemTexts*. 2021, Bd. 7, 2.

- 17. Brudzynski, Katrina und Lannigan, Robert.** Mechanism of honey bacteriostatic action against MRSA and VRE involves hydroxyl radicals generated from honey's hydrogen peroxide. *Frontiers in Microbiology*. 2012. Februar 2012, Bd. 3, 36.
- 18. Becerril-Sánchez, Ana L., et al.** Phenolic Compounds in Honey and Their Relationship with Antioxidant Activity, Botanical Origin, and Color. *Antioxidants*. 2021, Bd. 10.
- 19. A., o.** Fortune Business Insights. [Online] 17. November 2025. [Zitat vom: 4. Dezember 2025.] <https://www.fortunebusinessinsights.com/manuka-honey-market-108705>.
- 20. Imarc Group.** Manuka Honey Market Size, Share, Trends and Forecast by Type, Nature, Distribution Channel, and Region, 2025-2033. o. J.
- 21. Wang, Sunan, Qiu, Yi und Zhu, Fan.** An updated review of functional ingredients of Manuka honey and their value-added innovations. *Food Chemistry*. 2024, Bd. 440.
- 22. Hegazi, Nesrine M., Abd Elghani, Ghada E. und Farag, Mohamed A.** The super-food Manuka honey, a comprehensive review of its analysis and authenticity approaches. *Journal of Food Science and Technology*. Juli 2022, Bd. 59, 7, S. 2527-2534.
- 23. API Suisse.** *Reglement zur Individualmarke Honig-Qualitätssiegel*. Bern, Schweiz : API Suisse, 2024.
- 24. Rapid and Reliable HPLC Method for the Simultaneous Determination of Dihydroxyacetone, Methylglyoxal and 5-Hydroxymethylfurfural in Leptospermum Honeys. Pappalardo, Matthew, Pappalardo, Linda und Brooks, Peter.** s.l. : Public Library of Science, 18. November 2016, Bd. 11.
- 25. Methylglyoxal resistance in Bacillus subtilis: contributions of bacillithiol-dependent and independent pathways. Chandrangsu, Pete, et al.** s.l. : John Wiley & Sons Ltd, 7. Januar 2014, Bd. 4, S. 706-715.
- 26. Mavric, Elvira, et al.** Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2008, Bd. 52.
- 27. Inoue, Yoshiharu, Maeta, Kazuhiro und Nomura, Wataru.** Glyoxalase system in yeasts: structure, function, and physiology. *Seminars in cell & developmental biology*. 2011, Bd. 22, 3, S. 278-284.
- 28. Thierig, Marcus, Siegel, Eva und Henle, Thomas.** Formation of Protein-Bound Maillard Reaction Products during the Storage of Manuka Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2023, Bd. 41.
- 29. Khudyakov, Igor V.** Fast Recombination of Free Radicals in Solution and Microviscosity. *Physchem*. 27. Mai 2024, Bd. 4, S. 157-166.
- 30. Bundesamt für Gesundheit (BAG).** *Mittel- und Gegenständeliste (MiGeL)*. Bern, Schweiz : Bundesamt für Gesundheit (BAG), 2025. S. 179.
- 31. Medihoney. medihoney.de.** [Online] ApoFit Arzneimittelvertrieb GmbH, 2022. [Zitat vom: 6. Dezember 2025.] <https://medihoney.de/wundverbandmittel/>.

**32. European Commission (CORDIS).** CORDIS. *Honig effektiver als Antibiotika*. [Online] 31. Juli 2006. [Zitat vom: 6. Dezember 2025.] <https://cordis.europa.eu/article/id/26099-honey-more-effective-than-drugs-for-treating-wounds-say-scientists/de>.

**33. IPF.** Effectiveness of honey for symptomatic relief in upper respiratory tract infections: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Evidence-Based Medicine*. 25. August 2021, Bd. 26, S. 57-64.

**34. Göbel, S. apotheken.de.** *Honig statt Antibiotika*. [Online] Deutscher Apotheker Verlag, 4. Februar 2014. [Zitat vom: 6. Dezember 2025.] [https://www.apotheken.de/news/4982-honig-statt-antibiotika?utm\\_source=article&utm\\_content=previous](https://www.apotheken.de/news/4982-honig-statt-antibiotika?utm_source=article&utm_content=previous).

**35. Grainger, Megan N. C., et al.** Kinetics of conversion of dihydroxyacetone to methylglyoxal in New Zealand mānuka honey: Part I - Honey systems. *Food chemistry*. 2016, Bd. 202, S. 484-491.

**36. Cooper, Rose A., et al.** Absence of bacterial resistance to medical-grade mauka honey. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious*. 2010, Bd. 29, 10.

**37. Novartis.** Klinische Forschung. *Klinische Forschung*. [Online] o. J. [Zitat vom: 24. November 2025.] <https://klinischeforschung.novartis.de/gut-informiert/entwicklung-von-medikamenten/>.

**38. Rohde, Manfred.** The Gram-Positive Bacterial Cell Wall. *Microbiol Spectrum*. 2019, Bd. 7, 3.

**39. De Vito, Sofia.** Antibakterielle Wirkungsmechanismen von Honig. 10. November 2025. erstellt mit BioRender.

**40. Amazon.de.** Amazon.de. [Online] [Zitat vom: 4. Dezember 2025.] [https://www.amazon.de/Manuka-Honig-MGO-Neuseeland-250g/dp/B001O0BL9E/ref=sr\\_1\\_9?adgrpid=1202866375728716&dib=eyJ2ljojMSJ9.EUDNB1Hi-zSNtdiehiB96Ab-mV7umiSiMZupMruTBtNAzJYamBcCJI1yn54TUuMs7sXOcutQixW1oilP1kMxgAs0k\\_NNG4Myoi5UdWXX-kzBnMGHnSA4vgScoPFI8WASLJbt0](https://www.amazon.de/Manuka-Honig-MGO-Neuseeland-250g/dp/B001O0BL9E/ref=sr_1_9?adgrpid=1202866375728716&dib=eyJ2ljojMSJ9.EUDNB1Hi-zSNtdiehiB96Ab-mV7umiSiMZupMruTBtNAzJYamBcCJI1yn54TUuMs7sXOcutQixW1oilP1kMxgAs0k_NNG4Myoi5UdWXX-kzBnMGHnSA4vgScoPFI8WASLJbt0).

**41. Stalder, Urs.** Derivatisierung MGO. 2025.

**42. Thierig, Marcus, Siegel, Eva und Henle, Thomas.** Formation of Protein-Bound Maillard Reaction Products during the Storage of Manuka Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 18. Oktober 2023, Bd. 71, 41, S. 15261-15269.

**43. De Vito, Sofia.** Ergebnisse eigener Experimente. 4. Dezember 2025. erstellt mit BioRender.

**44. Stalder, Urs.** HPLC-Spektrum. 2025.

**Verwendung von Künstlicher Intelligenz:** ChatGPT wurde verwendet, um die Verständlichkeit einiger komplexer Formulierungen zu prüfen.

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Unterschiedliche Struktur der Zellwand eines gramnegativen (links) und eines grampositiven Bakteriums (rechts) (38). .....	5
Abbildung 2: Mögliche Ursachen für die antibakterielle Wirkung von Honig (39). .....	6
Abbildung 3: Struktur der beiden in Manuka Honig enthaltenen Moleküle MGO und DHA (43).....	7
Abbildung 4: Erster möglicher Entstehungsprozess von MGO aus DHA in Manuka Honig (12).....	7
Abbildung 5: Zweiter möglicher Entstehungsprozess von MGO aus DHA über ein Endiol als Zwischenprodukt (12). .....	8
Abbildung 6: Hemmung der Zellteilung in <i>S. aureus</i> Bakterien aufgrund von MGO (2). .....	9
Abbildung 7: Chemische Reaktion zur Entstehung von Wasserstoffperoxid (16). .....	9
Abbildung 8: Verschiedene in der Literatur bereits beschriebene Wirkungsmechanismen von Honig auf Bakterien (15).....	11
Abbildung 9: Häufigste Phenolsäuren (links) und Flavonoide (rechts), die in Honigen vorkommen (3). .....	12
Abbildung 10: Produktbild Manuka Honig MGO 400+ (40). .....	13
Abbildung 11: Derivatisierungsprozess von MGO mit Derivatisierungsmolekül PFBHA (41) .....	18
Abbildung 12: HPLC-Messgerät Thermo Scientific UltiMate 3000 (43) .....	19
Abbildung 13: HPLC-Säule Waters Acquity BEH C18 (100 x 2.1) (43) .....	19
Abbildung 14: Agarplatte nach 10 h und 24 h Inkubation. U SL (links), M SL (oben), H SL (rechts), W SL (unten), R SL (Mitte) (43) .....	20
Abbildung 15: Agarplatte nach 17 h, 18 h und 96 h Inkubation. H SL (links), R SL (oben), U SL (rechts), W SL (unten), M SL (Mitte) (43) .....	20
Abbildung 16: Agarplatte nach 24 h und 48 h Inkubation. H SL (links), R SL (oben), M SL (rechts) (43) .....	21
Abbildung 17: Agarplatte nach 24 h Inkubation. 0.1 M H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (oben), 0.01 M H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (links), 0.005 M H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (Mitte), 0.001 M H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (rechts) (43) .....	21
Abbildung 18: Agarplatte nach 24 h und 48 h Inkubation. H + Kat (oben links), H SL (oben rechts), R + Kat (unten links), R SL (unten rechts) (43) .....	22
Abbildung 19: Agarplatte nach 19 h und 48 h Inkubation. H SL (oben links), H SL + 0.01 M MGO (oben rechts), H SL + Kat 1:10 (Mitte), 0.01 M MGO (unten links), H SL + 0.01 M MGO + Kat 1:10 (unten rechts) (43) .....	22
Abbildung 20: Agarplatte nach 24 h, 48 h und 240 h Inkubation. H SL (oben), H SL + 0.01 M MGO (links), H SL + Kat (Mitte), 0.01 M MGO (rechts), H SL + 0.01 M MGO + Kat 1:10 (unten) (43).....	23
Abbildung 21: HPLC-Spektrum der wässrigen Proben des Hard Honigs Woche 1, Woche 4 und Woche 6 (44) .....	24
Abbildung 22: Konzentrationsverlauf DHA in Hard Honig über sechs Wochen (43).....	25
Abbildung 23: Konzentrationsverlauf DHA in Manuka Honig über sechs Wochen (43).....	25
Abbildung 24: Konzentrationsverlauf von DHA in Rapshonig über sechs Wochen (43).....	26
Abbildung 25: Konzentrationsverlauf MGO in Hard Honig über sechs Wochen (43).....	27
Abbildung 26: Konzentrationsverlauf MGO in Manuka Honig über sechs Wochen (43) .....	28
Abbildung 27: Konzentrationsverlauf MGO in Rapshonig über sechs Wochen (43) .....	28
Abbildung 28: Endkonzentration nach sechs Wochen der verschiedenen Honiglösungen im Vergleich (43) .....	29
Abbildung 29: Vereinfachte Darstellung der Bindung von MGO an Zuckerreste über eine längere Zeitspanne (42) .....	34

## 9 Danksagungen




Folgenden Personen möchte ich für ihre Unterstützung bei meiner Maturitätsarbeit meinen herzlichen Dank aussprechen:

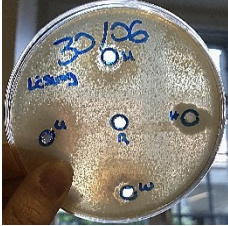

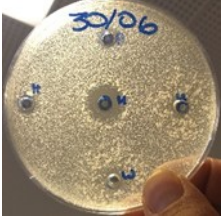

- **Herrn Dr. Siamak Semsary**, meiner Betreuungslehrperson: Für das engagierte Mitfiebern beim Abwarten der experimentellen Ergebnisse, die wertvolle Unterstützung bei der Durchführung und Interpretation der Experimente sowie die fachliche Expertise im Labor und im Bereich wissenschaftlichen Arbeitens
- **Frau Simona Studer**, meiner Korreferentin: für das Ko-Lektorat der Arbeit und Verbesserungsvorschläge
- **Frau Laurence Beauvais**: Für das Giessen der Agarplatten, das Bestellen der Moleküle MGO und DHA, den Zugang zum Labor und das Bereitstellen der notwendigen Materialien
- **Herrn Prof. Dr. Laurent Bigler**: Für den Zugang zum Labor an der UZH sowie für die Einführung in das Arbeiten in seinem Labor, für die Bestellung des Derivatisierungsreagenz und die Ermöglichung der HPLC-Messungen
- **Herrn Urs Stalder**: Für die Durchführung der HPLC-Messungen an der UZH, die Bereitstellung der Materialien, die Erklärung der HPLC und die Unterstützung beim Auswerten der Messungen
- **Herrn Ali Parsa**: Für den Kontakt zum Labor der UZH
- **Meinen Eltern**: Für die Unterstützung bei der Themenfindung, das Korrekturlesen der Arbeit und die Hilfe bei der Gestaltung des Titelbilds


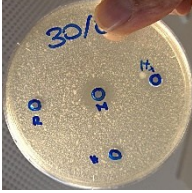
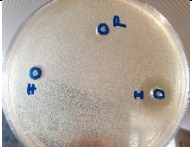

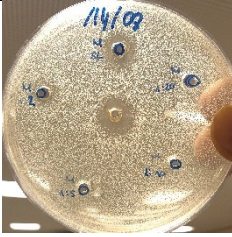
# 10 Anhang

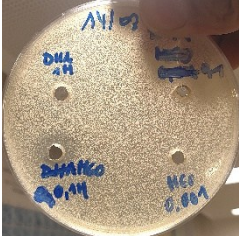



## 10.1 Ergebnisse aller durchgeführten Experimente

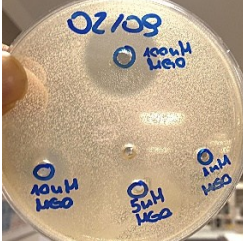
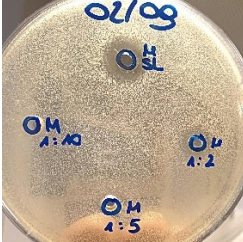
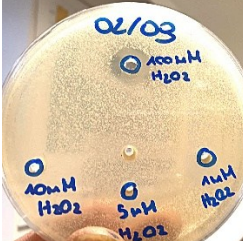
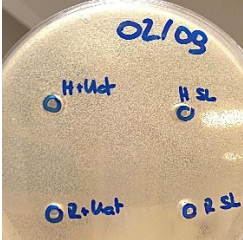
### Ergebnisse Agarplatten

<p>Ergebnisse 1.7.2025</p> <p>Die verschiedenen Honigsorten (unverdünnt) wurden für mehrere Stunden bei 30 °C inkubiert.</p> <p>Nach 10 h zeigte sich ein erhöhtes Bakterienwachstum um U und W. Um Honig H sind insgesamt weniger Bakterien erkennbar als um die anderen Honigsorten.</p> <p>Nach 48 h ist die Platte grossflächig mit Bakterienkolonien bedeckt. Verglichen mit den anderen Honigsorten bleibt das Bakterienwachstum um U am geringsten.</p>	 <p>10 h</p> <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Links: U Honig</li><li>▪ Oben: M Honig</li><li>▪ Rechts: H Honig</li><li>▪ Unten: W Honig</li><li>▪ Mitte: R Honig</li></ul>  <p>48 h</p> <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Links: U Honig</li><li>▪ Oben: M Honig</li><li>▪ Rechts: H Honig</li><li>▪ Unten: W Honig</li><li>▪ Mitte: R Honig</li></ul>
<p>Ergebnisse Experiment I (1.7.2025)</p> <p>Die verdünnten Honigsorten wurden für mehrere Stunden bei konstanter Temperatur inkubiert.</p> <p>Nach 10 h erkennt man ein erhöhtes Bakterienwachstum um U und W, während sich um R und H nur wenige Bakterien akkumuliert haben. Im Bereich um M hat sich ein klarer Hemmhof gebildet.</p> <p>Nach 48 h hat die Dichte der Bakterien um U, W und H weiter zugenommen. Im umliegenden Bereich von R sind weiterhin nur wenige Bakterien zu erkennen. Ein erhöhtes Bakterienwachstum lässt sich</p>	 <p>10 h</p> <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Links: U SL</li><li>▪ Oben: M SL</li><li>▪ Rechts: H SL</li><li>▪ Unten: W SL</li><li>▪ Mitte: R SL</li></ul>

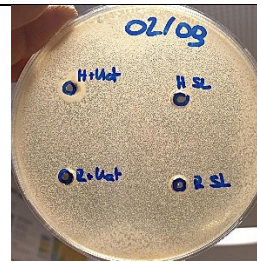
<p>ebenfalls um M erkennen, der Hemmhof ist deutlich kleiner geworden: Die antibakterielle Wirkung von M lässt mit der Zeit nach.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: U SL</li> <li>▪ Oben: M SL</li> <li>▪ Rechts: H SL</li> <li>▪ Unten: W SL</li> <li>▪ Mitte: R SL</li> </ul>
<p>Ergebnisse 2.7.2025</p> <p>Die Honigsorten wurden erneut stark verdünnt und für mehrere Stunden inkubiert.</p> <p>Nach 24 h hat sich das Bakterienwachstum gleich entwickelt wie bei den bisherigen Experimenten (vgl. Ergebnisse 1.7.2025).</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: U SL</li> <li>▪ Oben: M SL</li> <li>▪ Rechts: H SL</li> <li>▪ Unten: W SL</li> <li>▪ Mitte: R SL</li> </ul>
<p>Ergebnisse Experiment II (3.7.2025)</p> <p>Eine Agarplatte mit Honiglösungen (Konzentration 3.7 g/ml) wurde aufgesetzt und mehrere Stunden bei 30 °C inkubiert.</p> <p>Bereits nach 17 h zeichnet sich um M deutlich ein Hemmhof ab. Dieser bleibt auch nach 18 h weiter bestehen, die Dichte der Bakterien, die sich in der Grenzzone des gehemmten Bereiches befinden, nimmt mit der Zeit jedoch zu. Das Wachstum um W und U verstärkt sich, in den Bereichen um H und R sind weiterhin nur wenige Kolonien erkennbar. Um H zeigt sich nach 18 h ebenfalls ein kleiner Hemmhof.</p> <p>Nach 96 h hat die Bakteriendichte besonders um M, U und W zugenommen, im Vergleich dazu sind um H und R weniger Kolonien zu erkennen.</p>	 <p>17 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: H SL</li> <li>▪ Oben: R SL</li> <li>▪ Rechts: U SL</li> <li>▪ Unten: W SL</li> <li>▪ Mitte: M SL</li> </ul>  <p>18 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: H SL</li> <li>▪ Oben: R SL</li> <li>▪ Rechts: U SL</li> <li>▪ Unten: W SL</li> <li>▪ Mitte: M SL</li> </ul>

	 <p>96 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: H SL</li> <li>▪ Oben: R SL</li> <li>▪ Rechts: U SL</li> <li>▪ Unten: W SL</li> <li>▪ Mitte: M SL</li> </ul>
<p>Ergebnisse 8.7.2025</p> <p>Erneut wurden SL der Honige auf eine Platte aufgetragen und inkubiert.</p> <p>Nach 19 h zeigt sich um M deutlich ein Hemmhof, um H ist ebenfalls eine kleine gehemmte Zone zu erkennen.</p>	 <p>19 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: R SL</li> <li>▪ Mitte: M SL</li> <li>▪ Unten: H SL</li> </ul>
<p>Ergebnisse Experiment III (18.8.2025)</p> <p>Die Honig SL wurden auf einer Agarplatte für 48 h inkubiert.</p> <p>Der zunächst gut erkennbare Hemmhof um M ist nach längerer Inkubationszeit nicht mehr klar abgegrenzt. Im Gegensatz dazu ist nach 48 h um H eindeutig ein Hemmhof feststellbar.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: H SL</li> <li>▪ Oben: R SL</li> <li>▪ Rechts: M SL</li> </ul>  <p>48 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: H SL</li> <li>▪ Oben: R SL</li> <li>▪ Rechts: M SL</li> </ul>
<p>Ergebnisse 19.8.2025</p> <p>Es wurde eine Verdünnungsreihe (1:2, 1:5, 1:10 und 1:20) von M für 24 h inkubiert.</p> <p>Nach der Inkubationszeit ist um die SL deutlich eine gehemmte Zone ersichtlich. Auch die 1:2 Verdünnung scheint noch</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben: M SL</li> <li>▪ Oben links: M 1:2</li> </ul>

<p>eine Wirkung auf das Bakterium zu haben. Die stärker verdünnten Honiglösungen zeigen keine Aktivität. Die MIC-Konzentration von M beträgt somit 1.85 g/ml.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Unten links: M 1:5</li> <li>▪ Unten rechts: M 1:10</li> <li>▪ Oben rechts: M 1:20</li> </ul>
<p>Ergebnisse 19.8.2025</p> <p>Es wurden DHA (1 M und 0.1 M) und MGO (0.1 M und 0.001 M) auf eine Agarplatte gegeben und bei 30 °C inkubiert.</p> <p>Nach 24 h ist keine von DHA ausgehende wachstumshemmende Wirkung zu beobachten. Im Bereich um die 0.1 M MGO-Lösung ist das Bakterium gehemmt, die 0.001 M Lösung zeigt keine Wirkung.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben: DHA 1 M, 0.1 M</li> <li>▪ Unten: MGO 0.1 M, 0.001 M</li> </ul>
<p>Ergebnisse 19.8.2025</p> <p>Die SL von R und H wurden mit DHA 1 M ergänzt.</p> <p>Nach 24 h ist weder um H noch um R eine wachstumshemmende Wirkung zu erkennen. Das Bakterium verteilt sich regelmässig auf der gesamten Agarplatte.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: R (SL) + 1 M DHA</li> <li>▪ Rechts: H (SL) + 1 M DHA</li> </ul>
<p>Ergebnisse 20.8.2025</p> <p>Es wurde DHA (1 M) in die Verdünnungen von M dazugegeben.</p> <p>Nach 24 h Inkubation zeigt keine der beiden Verdünnungen des Honigs M eine Wirkung auf das Bakterienwachstum. Auch die DHA-Kontrollen zeigen keine Aktivität.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben: H+DHA, M+DHA</li> <li>▪ Unten: H (1:5), M (1:5)</li> </ul>
<p>Ergebnisse 20.8.2025</p> <p>Es wurden MGO-Verdünnungen (0.1 M, 0.01 M und 0.001 M) vorbereitet.</p> <p>Nach einer Inkubationszeit von 24 h ist um die 0.1 M Lösung deutlich ein Hemmhof sichtbar. Die gehemmte Zone ist bisher die grösste, die in den Experimenten festgestellt wurde. Die 0.01 M Lösung zeigt geringe Aktivität, die 0.001 M Lösung hingegen gar keine.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: 0.01 M</li> <li>▪ Mitte: 0.1 M</li> <li>▪ Rechts: 0.001 M</li> </ul>

<p>Die MIC-Konzentration von MGO liegt somit bei 0.01 M.</p>	
<p>Ergebnisse 2.9.2025</p> <p>Das Experiment der MGO-Verdünnungsreihe wurde wiederholt (0.1 M, 0.01 M, 0.005 M und 0.001 M)</p> <p>Nach 24 h Inkubation ist um die 0.1 M Lösung und die 0.01 M Lösung erneut eine deutlich gehemmte Zone erkennbar. Die 0.005 M und 0.001 M Lösungen zeigen keine wachstumshemmende Aktivität.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben: 0.1 M MGO</li> <li>▪ Links: 0.01M MGO</li> <li>▪ Mitte: 0.005 M MGO</li> <li>▪ Rechts: 0.001 M MGO</li> </ul>
<p>Ergebnisse 2.9.2025</p> <p>Es wurde erneut eine Verdünnungsreihe (1:2, 1:5, 1:10) von M vorbereitet.</p> <p>Nach 24 h zeigen die SL und die 1:2 Verdünnung eine hemmende Wirkung. Die 1:5 und 1:10 Lösungen bleiben wirkungslos (vgl. Ergebnisse 19.8.2025).</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben: M SL</li> <li>▪ Rechts: M 1:2</li> <li>▪ Unten: M 1:5</li> <li>▪ Links: M 1:10</li> </ul>
<p>Ergebnisse Experiment IV (2.9.2025)</p> <p>Es wurde eine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Verdünnungsreihe (0.1 M, 0.01 M, 0.005 M, 0.001 M) auf einer Agarplatte angesetzt.</p> <p>Nach 24 h hat sich ausschliesslich um die 0.1 M Lösung ein Hemmhof gebildet, bei den anderen Konzentrationen war kein Hemmhof erkennbar.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben: 0.1 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></li> <li>▪ Links: 0.01 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></li> <li>▪ Mitte: 0.005 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></li> <li>▪ Rechts: 0.001 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></li> </ul>
<p>Ergebnisse Experiment V (2.9.2025)</p> <p>Zur SL der Honigsorten H und R wurde jeweils eine Katalase-Lösung (1:10 Kat-Honig) beigegeben.</p> <p>Nach 24 h zeigen weder die SL von H und R noch die mit Katalase angereicherten Honiglösungen eine Wirkung. Nach weiteren 24 h bildet sich um H + Kat eine Bakterenschicht, die sich optisch von den umliegenden Kolonien abhebt. Statt</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben: H + Kat, H SL</li> <li>▪ Unten: R + Kat, R SL</li> </ul>

der gepunkteten Bakterienverteilung ist eine gleichmässige, komplett deckende Schicht erkennbar, ungefähr in der Grösse des Hemmhofs, der sich bei einem vorherigen Experiment um H gebildet hat (vgl. Ergebnisse Experiment III, 18.8.2025). Die H SL, die R SL und R + Kat zeigen nach 48 h keine Aktivität.



48 h

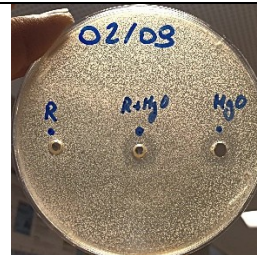
- Oben: H + Kat, H SL
- Unten: R + Kat, R SL

Ergebnisse 3.9.2025

Den SL von M, H und R wurde eine MGO-Lösung (0.01 M) dazugegeben.

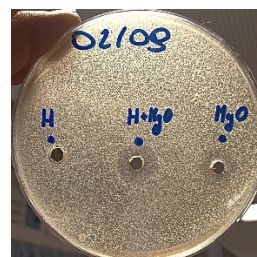
Nach 24 h bei 30 °C zeigt sich um die SL von R und H keine bakterienfreie Zone. Um die SL der beiden Honige, die mit MGO ergänzt wurden, sowie um die reinen MGO-Kontrolllösungen sind Hemmhöfe zu erkennen. Die Hemmhöfe von H+MGO und R+MGO sind jedoch nicht grösser als diejenigen von reinem MGO.

Der Hemmhof um M konnte durch das Hinzufügen von MGO vergrössert werden (von Auge sichtbar). Auch bei der 1:2 Verdünnung von M konnte eine Vergrösserung des Hemmhofes festgestellt werden.



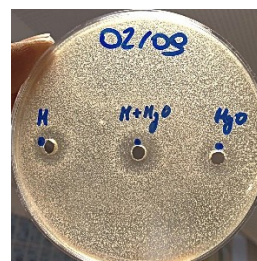
24 h

- Links: R SL
- Mitte: R SL, 0.01 M MGO
- Rechts: 0.01 M MGO



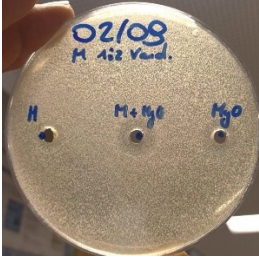
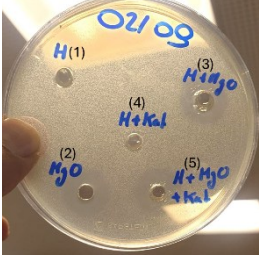
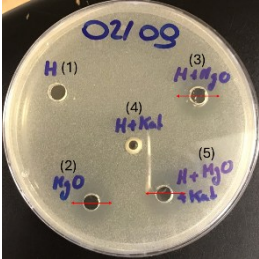
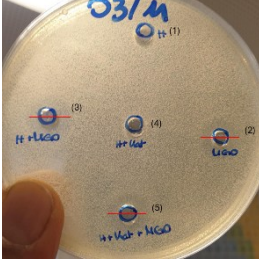
24 h

- Links: H SL
- Mitte: H SL, 0.01 M MGO
- Rechts: 0.01 M MGO



24 h

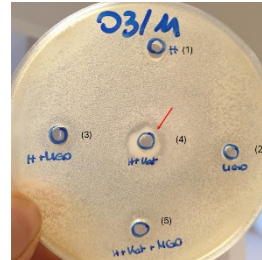
- Links: M SL
- Mitte: M SL, 0.01 M MGO
- Rechts: 0.01 M MGO

	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Links: M SL 1:2</li> <li>▪ Mitte: M SL 1:2, 0.01 M MGO</li> <li>▪ Rechts: 0.01 M MGO</li> </ul>
<p>Ergebnisse Experiment VI (8.9.2025)</p> <p>Es wurden verschiedene Kombinationen der H SL und MGO sowie Katalase auf eine Platte aufgetragen:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. H SL</li> <li>2. MGO</li> <li>3. H SL + MGO</li> <li>4. H SL + Katalase (1:10 Kat-Honig)</li> <li>5. H SL + MGO + Katalase (1:10 Kat-Honig)</li> </ol> <p>Nach 19 h und 48 h Inkubation ist um (2), (3) und (5) eine gehemmte Zone erkennbar. (1) zeigt nach dieser Zeit keine Aktivität auf das <i>B. subtilis</i> Bakterium.</p> <p>Nach 48 h erkennt man um H SL + Katalase ausserdem eine leicht schmierige Bakterienkultur, die sich von der übrigen gepunkteten Bakterienkolonisation abhebt.</p> <p>Die Hemmhöfe nach 48 h haben folgende Durchmesser:</p> <p>(2): 13 mm (5): 14 mm (3): 15 mm</p>	 <p>19 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben links: H SL</li> <li>▪ Oben rechts: H SL + 0.01 M MGO</li> <li>▪ Mitte: H SL + Kat 1:10</li> <li>▪ Unten links: 0.01 M MGO</li> <li>▪ Unten rechts: H SL + 0.01 M MGO + Kat 1:10</li> </ul>  <p>48 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben links: H SL</li> <li>▪ Oben rechts: H SL + 0.01 M MGO</li> <li>▪ Mitte: H SL + Kat 1:10</li> <li>▪ Unten links: 0.01 M MGO</li> <li>▪ Unten rechts: H SL + 0.01 M MGO + Kat 1:10</li> </ul>
<p>Ergebnisse Experiment VII (4.11.2025)</p> <p>Dasselbe Experiment wurde ein zweites Mal auf die identische Art und Weise durchgeführt, mit dem einzigen Unterschied, dass die Agarplatte während einer Zeitspanne von insgesamt 10 Tagen bei 30° C inkubiert worden ist.</p>	 <p>24 h</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oben: H SL</li> </ul>

1. H SL
2. MGO (0.01 M)
3. H SL + MGO (0.1 M)
4. H SL + Katalase (1:10 Kat-Honig)
5. H SL + MGO (0.01 M), + Katalase (1:10 Kat-Honig)

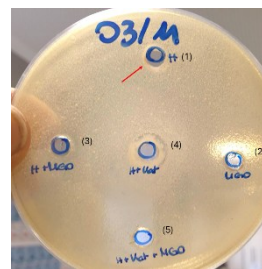
Nach 24 h zeigen sich erneut Hemmhöfe um (2), (3) und (5). Diese sind bei (2) und (5) gleich gross, während der Hemmhof um die Probe (3) um 1 mm grösser ist. Nach 48 h Inkubation sind besonders die weissen, schmierigen Bakterienkulturen um (4) auffällig, die die gepunkteten Bakterienkulturen (sichtbar nach 24 h) ersetzt haben. Die Hemmhöfe um die Proben (2), (3) und (5) sind nach 48 h weniger deutlich sichtbar als noch 24 h zuvor. Nach 240 h breitet sich das schmierige Bakterienwachstum auch um die nicht mit Katalase angereicherte H SL (1) aus.

- Rechts: 0.01 M MGO
- Unten: H SL + Kat 1:10 + 0.01 M MGO
- Links: H SL + 0.01 M MGO
- Mitte: H SL + Kat 1:10



48 h

- Oben: H SL
- Rechts: 0.01 M MGO
- Unten: H SL + Kat 1:10 + 0.01 M MGO
- Links: H SL + 0.01 M MGO
- Mitte: H SL + Kat 1:10



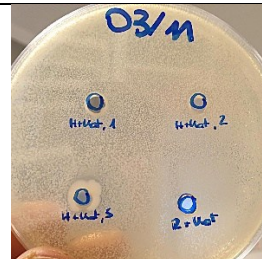
240 h

- Oben: H SL
- Rechts: 0.01 M MGO
- Unten: H SL + Kat 1:10 + 0.01 M MGO
- Links: H SL + 0.01 M MGO
- Mitte: H SL + Kat 1:10

Ergebnisse 4.11.2025

Es wurden verschiedene Verdünnungen der Katalase Lösungen zusammen mit H SL und R SL auf eine Agarplatte aufgetragen. Die Wirkung der Proben wurde nach 48 h Inkubation bei 30 °C beobachtet:

1. H SL + Kat (1:10 Kat-Honig)
2. H SL + Kat (1:4 Kat-Honig)
3. H SL + Kat (1:2 Kat-Honig)
4. R SL + Kat (1:2 Kat-Honig)



48 h

- Oben links: H SL + Kat (10:1)
- Oben rechts: H SL + Kat (4:1)
- Unten links: H SL + Kat (2:1)
- Unten rechts: R SL + Kat (2:1)

Um (3) ist nach 48 h deutlich ein weisser, schmieriger Bereich zu erkennen. Auch um (1) ist ein dünner Ring um die hineingegebene Substanz zu erkennen, der ebenfalls eine weisse Farbe aufzeigt. (2) sowie (4) haben nach der Inkubationszeit hingegen keinen sichtbaren Effekt auf das Bakterienwachstum.

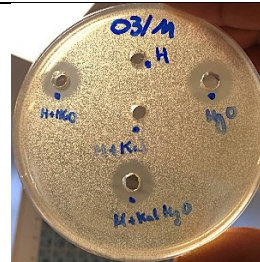
Ergebnisse 5.11.2025

Es wurden verschiedene Kombinationen der H SL und MGO sowie Katalase auf eine Platte aufgetragen und unter verschiedenen Temperaturverhältnissen inkubiert. Die erste Platte wurde für 5 h bei 30 °C inkubiert und anschliessend 19 h bei RT gelagert, bei der zweiten Platte genau umgekehrt.

1. H SL
2. MGO (0.01 M)
3. H SL + MGO (0.1 M)
4. H SL + Katalase (1:10 Kat-Honig)
5. H SL + MGO (0.01 M), + Katalase (1:10 Kat-Honig)

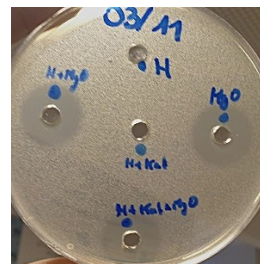
Auf der ersten Platte sind nach 24 h um (2), (3) und (5) deutlich Hemmhöfe zu erkennen. (1) und (4) zeigen wie bereits bei den vorherigen Experimenten keine Aktivität.

Auf der zweiten Platte haben sich um die gleichen Kombinationen Hemmhöfe gebildet, jedoch sind diese im Vergleich zur obigen Platte grösser und deutlicher sichtbar.



5 h bei 30 °C  
19 h bei RT

- Oben: H SL
- Rechts: MGO 0.01 M
- Unten: H SL + Kat 1:10 + MGO 0.01 M
- Links: H SL + MGO 0.01 M
- Mitte: H SL + Kat 1:10

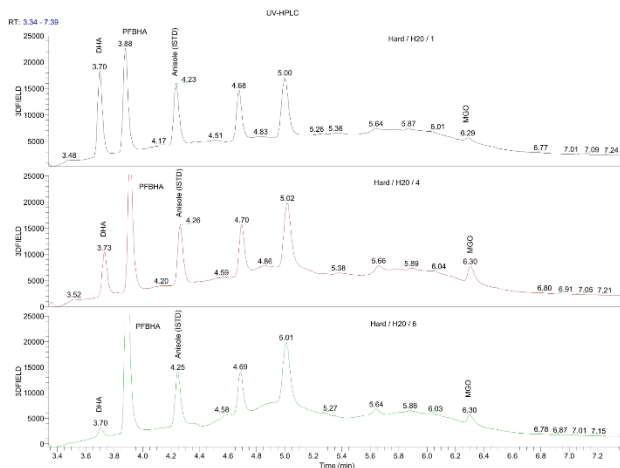


19 h bei RT  
5 h bei 30 °C

- Oben: H SL
- Rechts: MGO 0.01 M
- Unten: H SL + Kat 1:10 + MGO 0.01 M
- Links: H SL + MGO 0.01 M
- Mitte: H SL + Kat 1:10

## Ergebnisse HPLC-Chromatografie

In einem Langzeitexperiment wurde MGO in die gelösten Honige M, H und R gegeben. Anschliessend wurden über einen Zeitraum von sechs Wochen Proben der Lösungen entnommen. Die qualitative und quantitative Analyse der einzelnen Honiglösungen erfolgte an der UZH mittels HPLC-Chromatografie.

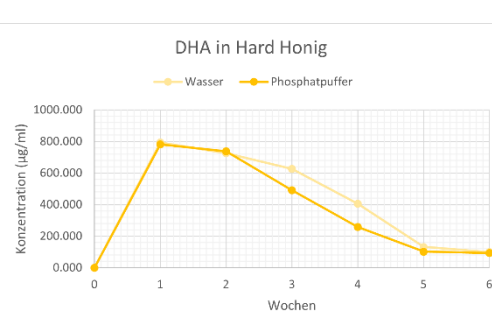
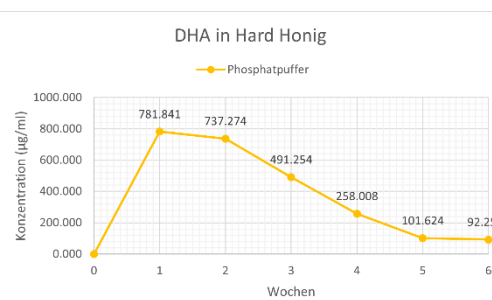
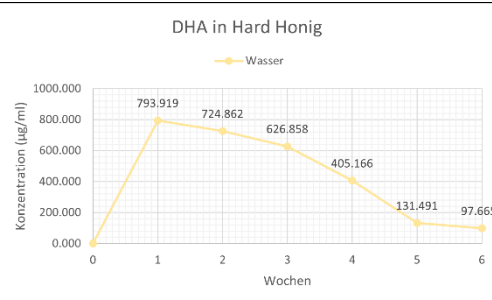


### Ergebnisse DHA in Hard Honig

Vor der künstlichen Beigabe von DHA in die SL von H (0.37 g/ml) wurde weder in der wässrigen noch in der phosphathaltigen Lösung DHA detektiert (0).

**Wasser:** Nachdem das Molekül hinzugegeben worden ist, steigt die Konzentration von DHA in H<sub>2</sub>O zu ihrem maximalen Wert von 794 µg/ml an (1). Innerhalb der ersten fünf Wochen nach der Beigabe ist ein signifikanter Rückgang der DHA-Konzentration erkennbar, mit Ausnahme von (3), dort scheint die Konzentration weniger stark abzunehmen. Nach Zeitpunkt (5) sinkt der Stoffgehalt von DHA nur noch minim verglichen zu den vorherigen Wochen. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 696 µg/ml.

**Phosphatpuffer:** Ein ähnlicher Verlauf lässt sich auch bei den in Phosphatpuffer gelösten Honigproben feststellen. Die maximale Konzentration ist direkt nach der Zugabe von DHA (1) gemessen



worden und beträgt 782 µg/ml. Zwischen Zeitpunkt (2) und (5) verringert sich der DHA-Gehalt beinahe linear. Nach Woche (5) nimmt dieser kaum noch ab. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 690 µg/ml.

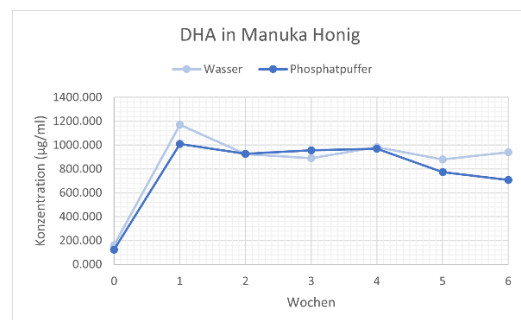
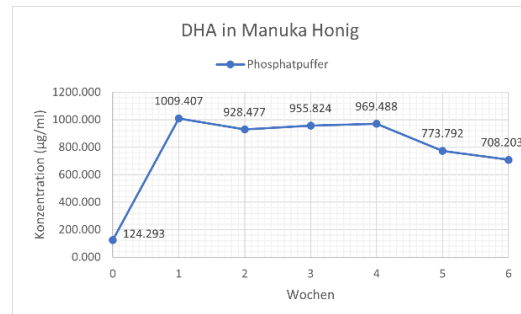
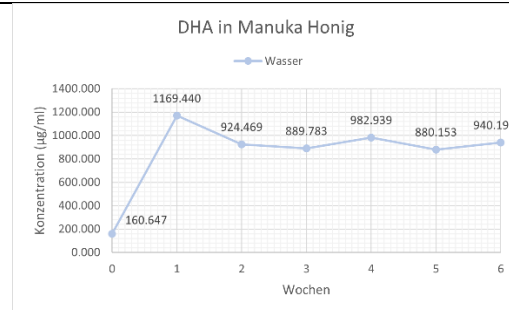
Im Vergleich zu den in Wasser gelösten Proben ist die Abnahme des besagten Moleküls im Phosphatpuffer besonders während der Wochen (2) bis (5) stärker. Zum Zeitpunkt (6) sind die Konzentrationen jedoch beinahe wieder identisch.

### Ergebnisse DHA in Manuka Honig

Sowohl die in H<sub>2</sub>O als auch die in Phosphatpuffer gelösten Honigproben von M weisen schon vor der Beigabe von DHA einen kleinen Anteil des Moleküls auf. Bei der wässrigen Probe beträgt dieser 161 µg/ml und bei der phosphathaltigen Probe 124 µg/ml.

**Wasser:** Nach der Zugabe von DHA erhöht sich der Gehalt des Moleküls und erreicht mit 1170 µg/ml seine maximale Konzentration (1). Anders als bei H wird das Molekül in M nur sehr gering abgebaut, der Konzentrationsverlauf ist sehr konstant. Zum Zeitpunkt (4) und (6) ist eine im Vergleich zu der vorigen Probe minimal höhere Konzentration erkennbar. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 229 µg/ml.

**Phosphatpuffer:** Der Konzentrationsverlauf von DHA in den phosphathaltigen Honigproben verhält sich ähnlich zu dem der wässrigen Proben. Die maximale Konzentration von 1009 µg/ml wird zum Zeitpunkt (1) erreicht. Nach der anfänglichen Abnahme ist zum Zeitpunkt (3) und (4) eine leichte Zunahme des Stoffes verglichen zur vorigen Probe ersichtlich. Daraufhin nimmt die DHA-Konzentration



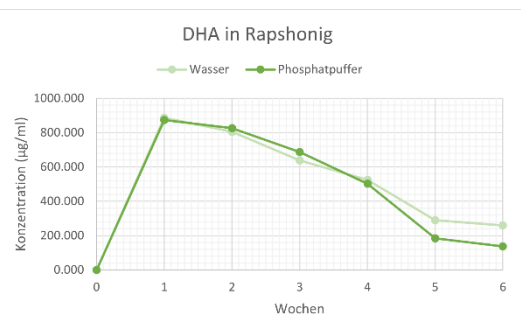
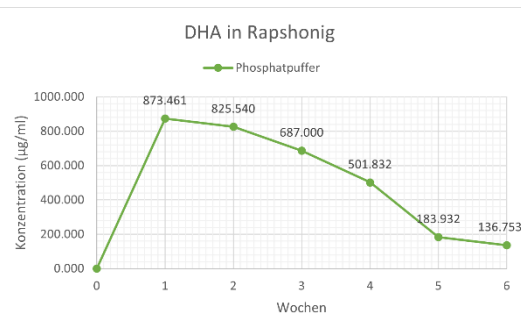
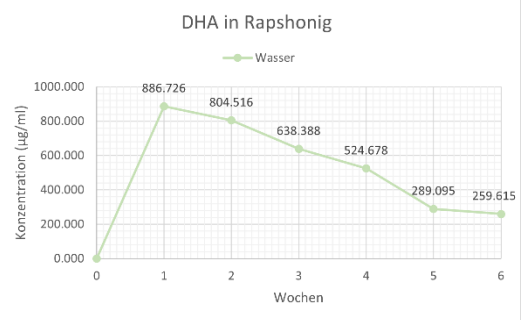
erneut ab. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 301 µg/ml. Im Vergleich zu den in Wasser gelösten Honigen baut sich DHA, wie es auch schon bei H der Fall war, stärker im Phosphatpuffer ab. Besonders in den Proben nach Zeitpunkt (5) und (6) ist ein deutlicher Unterschied zwischen den zwei Lösungsmitteln erkennbar. Die Konzentration in der letzten gemessenen Probe (6) ist im Phosphatpuffer verglichen zu Wasser um 232 µg/ml geringer.

### Ergebnisse DHA in Rapshonig

Im Honig R lag die Anfangskonzentration von DHA bei 0 µg/ml (0). Die Konzentration steigt mit der Beigabe des Moleküls zu ihrem Maximalwert an (1).

**Wasser:** Der Konzentrationsverlauf von DHA in den in H<sub>2</sub>O gelösten Honigproben gleicht demjenigen der wässrigen Honigproben von H. Nach der Anfangskonzentration von 888 µg/ml nimmt der Anteil des Moleküls bis zum Ende (6) beinahe linear ab. Nach Zeitpunkt (5) ist die Abnahme der DHA-Konzentration nur noch minim. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 627 µg/ml.

**Phosphatpuffer:** Die Reduktion des DHA-Moleküls in den phosphathaltigen Proben von R verhält sich ähnlich zur Konzentrationsabnahme in den wässrigen Proben. Nachdem die höchste Konzentration von 873 µg/ml (1) erreicht wurde, nimmt diese kontinuierlich ab. Bis zum Zeitpunkt (4) verringert sich der Gehalt jedoch weniger stark als danach. Der Konzentrationsunterschied zwischen der (5) und (6) ist geringer als derjenige von (4) und (5). Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (1 - 6) beträgt 737 µg/ml.



Innerhalb der ersten vier Wochen verhält sich die Abnahme des Moleküls sehr ähnlich. Nach Zeitpunkt (4) hingegen ist im Phosphatpuffer ein deutlich stärkerer Abbau von DHA erkennbar, was dazu führt, dass die Endkonzentrationen 123 µg/ml voneinander abweichen.

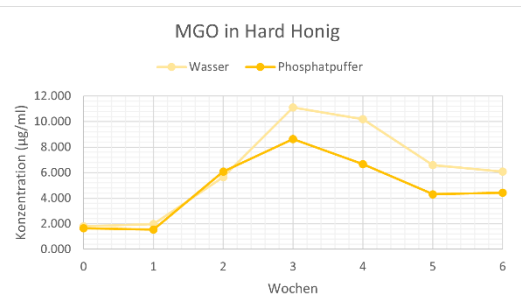
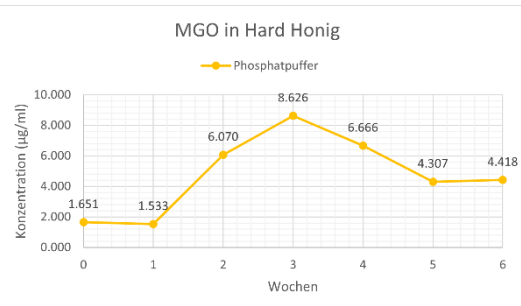
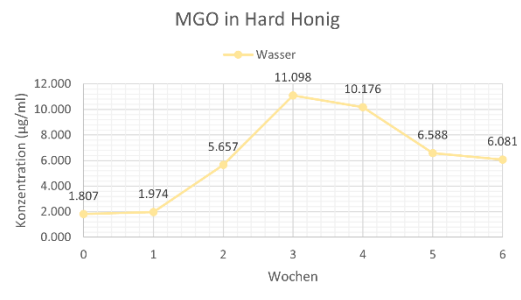
#### Ergebnisse MGO in Hard Honig

Bereits vor der Beigabe von DHA wurde im Honig H eine geringe MGO-Konzentration von 1.81 µg/ml gemessen.

*Wasser:* Von (1) zu (2) steigt der Gehalt von MGO deutlich um 3.68 µg/ml an und auch von (2) zu (3) ist eine Zunahme von 5.44 µg/ml gemessen worden. Die höchste Konzentration des Moleküls von 11.1 µg/ml wird zum Zeitpunkt (3) erreicht. Danach nimmt der Anteil an MGO wieder ab. Die stärkste Abnahme erfolgt zwischen Zeitpunkt (4) und (5). Zwischen Woche (5) und (6) hat sich die Konzentration kaum verändert, sie beträgt zum Schluss 6.08 µg/ml.

*Phosphatpuffer:* Der Konzentrationsverlauf in Phosphatpuffer verhält sich ähnlich zu demjenigen in den wässrigen Proben von H. Während der ersten drei Wochen ist ebenfalls eine deutliche Zunahme von MGO erkennbar. Die maximale Konzentration von 8.63 µg/ml wird zum Zeitpunkt (3) erreicht. In den zwei darauffolgenden Wochen (4) und (5) nimmt die MGO-Konzentration linear ab. Nach Zeitpunkt (5) ist wieder eine leichte Zunahme von 0.111 µg/ml feststellbar.

In der Zeitspanne zwischen (1) und (2) verhält sich die MGO-Produktion in beiden Lösungen gleich. Auch die maximale Konzentration wird in beiden Fällen zum Zeitpunkt (3) erreicht, wobei diese bei in der wässrigen Lösung um 2.47 µg/ml höher ist. In den Wochen danach ist sowohl in H<sub>2</sub>O als auch im Phosphatpuffer ein Abbau des MGO-



Moleküls erkennbar, die Endkonzentration in Wasser bleibt jedoch um 1.66 µg/ml höher als im Phosphatpuffer.

### Ergebnisse MGO in Manuka Honig

Im Honig M wurde bereits vor der Zugabe von DHA eine hohe MGO-Konzentration gemessen. Diese betrug in der wässrigen Lösung 514 µg/ml und in der phosphathaltigen Lösung 407 µg/ml.

**Wasser:** Trotz der Beigabe von DHA wurde in den in Wasser gelösten Honigproben von M kein Anstieg von MGO gemessen. Der Gehalt des Moleküls nimmt über die Zeit kontinuierlich ab, sodass die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration (0 - 6) 136 µg/ml beträgt. Ein besonders starker Abbau des Moleküls ist zwischen Zeitpunkt (4) und (5) erfolgt.

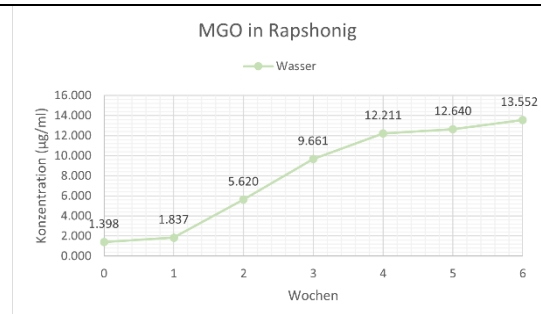
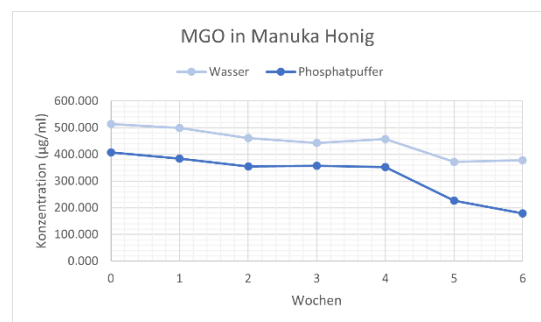
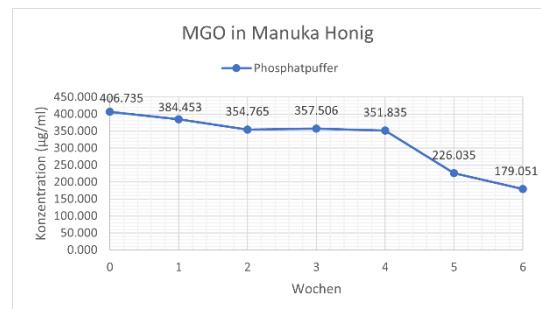
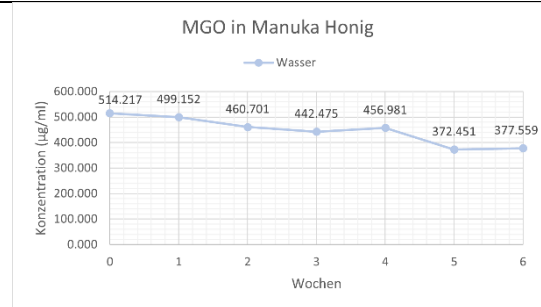
**Phosphatpuffer:** Auch im Phosphatpuffer ist über die Zeit ein kontinuierlicher Abbau von MGO zu beobachten. Ab Zeitpunkt (4) ist eine besonders starke Abnahme der Konzentration erkennbar. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endkonzentration beträgt 228 µg/ml.

Verglichen mit den wässrigen Honigproben nimmt die MGO-Konzentration im Phosphatpuffer stärker ab, besonders ab Zeitpunkt (4). Die Startkonzentration (0) war in der phosphathaltigen Lösung bereits um 107 µg/ml geringer als diejenige in den wässrigen Proben.

### Resultate MGO in Rapshonig

Im Honig R wurde bereits zum Zeitpunkt (0) sowohl in den wässrigen als auch in den phosphathaltigen Proben eine geringe Konzentration an MGO detektiert.

**Wasser:** Die Konzentration von MGO nimmt innerhalb der ersten vier Wochen (0 bis 4) stark zu. Das Wachstum



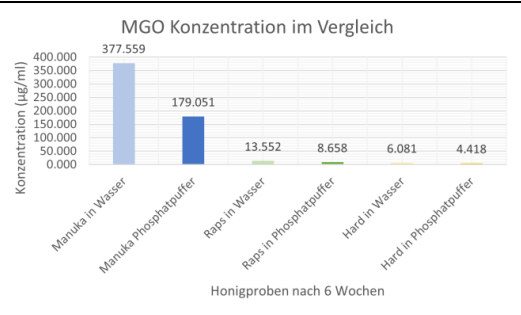
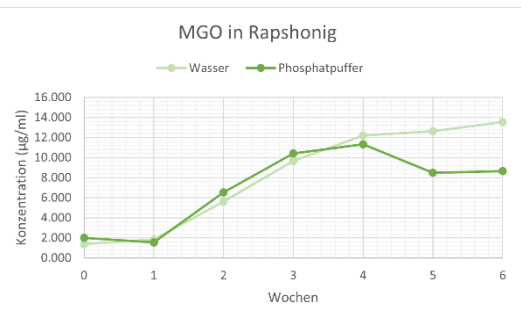
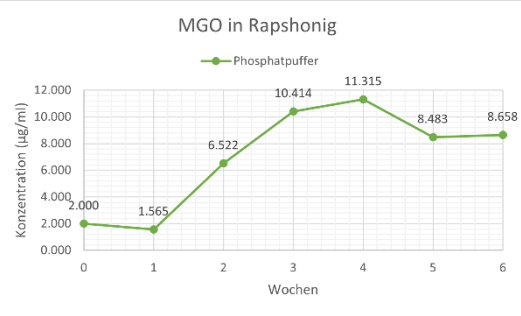
zwischen Zeitpunkt (1) und (3) verhält sich linear. Nach Zeitpunkt (4) flacht die Konzentrationskurve allmählich ab, steigt jedoch weiterhin an. Die Differenz zwischen End- und Anfangskonzentration (6 - 1) beträgt 12.2 µg/ml.

*Phosphatpuffer:* Im Phosphatpuffer steigt die MGO-Konzentration besonders in den ersten drei Wochen (1 bis 3) stark an. Der maximale MGO-Gehalt von 11.3 µg/ml wird zum Zeitpunkt (4) erreicht. Danach sinkt die Konzentration wieder und stabilisiert sich nach Zeitpunkt (5). Die Differenz zwischen der End- und Anfangskonzentration (6 - 1) beträgt 7.09 µg/ml.

Der Konzentrationsverlauf in den wässrigen Proben des Honigs R ist der einzige, der über die gesamte Zeitspanne hinweg stetig ansteigt. MGO scheint, wie auch bei H und M bemerkt, im Phosphatpuffer weniger stabil zu sein als in Wasser.

#### MGO-Konzentration im Vergleich

Im Vergleich zum Honig M ist die MGO-Endkonzentration sowohl beim Honig R als auch beim Honig H sehr gering. Schaut man sich die wässrigen Lösungen an ist in M 28-mal mehr MGO enthalten als in R und 62-mal mehr als in H. Produktion von MGO scheint in den in Wasser gelösten Proben effizienter zu sein als in den mit Phosphatpuffer gelösten. Die erfolgreichste Umwandlung von DHA in MGO ist im Honig R in den wässrigen Proben beobachtet worden.



## 10.2 Eindrücke aus dem Labor



◀ Labor KSHP: Vorbereiten einer Agarplatte mithilfe einer Eppendorf Pipette



◀ Ultraschallgerät für das Homogenisieren von Lösungen



▲ Arbeitsplatz Labor UZH



▲ Filter (oben), Multipipette (unten)



▲ Honiglösungen (vordere Reihe), reine Honigsorten (hintere Reihe)

◀ Offener Autosampler eines HPLC-Geräts während der Probeninjektion