

# Honig

Bearbeitet von einer Expertengruppe „Bienenprodukte“

S. BOGDANOV, (Präsident), Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP), Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft und Nutztiere, Liebefeld-Bern  
Schweizerisches Zentrum für Bienenforschung, Liebefeld-Bern  
K. BIERI (Expertin), Biologisches Institut für Pollenanalyse, Kehrsatz  
G. GREMAUD, Bundesamt für Gesundheit, Liebefeld-Bern  
D. IFF, Narimpex AG, Biel  
A. KÄNZIG, Kantonales Laboratorium, Aargau  
K. SEILER, Laboratorium der Kantone AI, AR, GL, SH, Schaffhausen  
H. STÖCKLI, Verband Schweiz. Bienenzüchtervereine, Allschwil  
K. ZÜRCHER (Experte), Basel

## *Honig, Überarbeitung, 2005*

S. BOGDANOV, (Präsident), Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP)  
Schweizerisches Zentrum für Bienenforschung, Liebefeld-Bern  
G. GREMAUD, Bundesamt für Gesundheit, Liebefeld-Bern  
D. IFF, Narimpex AG, Biel  
A. KÄNZIG, Kantonales Laboratorium, Aargau

Neuausgabe, November 1995  
Ergänzung, Dezember 1999  
Überarbeitung, November 2003  
**Überarbeitung, 2005**

In der Schweiz ist eine durch das BAG begleitete Arbeitsgruppe<sup>1</sup> damit beauftragt, die Methodensammlung für Honig regelmässig zu überprüfen. Die neu überarbeitete Ausgabe enthält gegenüber der letzten Version einige Änderungen.

Die neuen Hongstandards der EU und des Codex Alimentarius wurden als neue Tabelle 23A.1 aufgenommen.

Es gibt einen neuen Abschnitt über botanische Herkunft des Honigs. Neue Publikationen über europäische Sortenhonige wurden im Anhang des Lebensmittelbuches aufgenommen. Tabelle 23A.6 wurde angepasst. Tabelle 23A.7 mit den Qualitätskriterien für Sortenhonig ist überholt und wurde gestrichen. Die Qualitätskriterien für Sortenhonig können im Anhang eingesehen werden.

Die verschiedenen Säurebestimmungsmethoden werden nicht mehr diskutiert, denn die Methode 3 hat sich international durchgesetzt.

Tabelle 23A.8 wurde gemäss den neuen EU Codex Standards angepasst.

Im Abschnitt Vernunreinigungen wurden einige Ergänzungen gemacht. Tabelle 23A.11 wurde ergänzt.

---

<sup>1</sup>( S. Bogdanov, ALP, A. Känzig, Kantonales Laboratorium Aargau, T. Frey, Kantonales Laboratorium Basel-Stadt, D. Iff, Narimpex)

## INHALTSVERZEICHNIS

### Umschreibung

#### Richtlinien für die Beurteilung und Hinweise zur Analyse

- 1 Allgemeine Richtlinien
- 2 Lager- und Wärmeschädigungen
- 3 Honigfälschungen
- 4 Verunreinigungen
- 5 Literatur

### Spezialvorschriften

(Probenahme und Probenvorbereitung)

### Untersuchungsmethoden

- 1 Sinnenprüfung
- 2 Bestimmung des Wassergehaltes (refraktometrisch)
- 3 Bestimmung des *pH*-Wertes und des Gehaltes an freier Säure (potentiometrisch)
- 4 aufgehoben
- 5 Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit, elektrometrisch
- 6 Diastase (Amylase,  $\alpha$ -Amylase)
  - 6.1 Bestimmung der Diastaseaktivität (nach Phadebas)
  - 6.2 Bestimmung der Diastaseaktivität (nach Schade)
- 7 Invertase (Saccharase,  $\alpha$ -Glucosidase)
  - 7.1 Bestimmung der Invertaseaktivität, photometrisch
- 8 Zuckerarten
  - 8.1 Bestimmung von Zuckerarten (HPLC)
  - 8.2 Bestimmung der D-Glucose und D-Fructose, enzymatisch
- 9 Hydroxymethylfurfural (HMF)
  - 9.1 aufgehoben
  - 9.2 Bestimmung des Hydroxymethylfurfurals (HMF), photometrisch (nach White)
  - 9.3 Bestimmung des Hydroxymethylfurfurals (HMF) mittels HPLC
- 10 Bestimmung des Prolins, photometrisch
- 11 Bestimmung von Zuckerarten mittels IC und PAD-Detektoren

## Anhang

- 1. Bestimmung des Gehalts an wasserunlöslichen Stoffen, gravimetrisch  
(international gültige Methode, in Englisch)
- 2. Bestimmung von Sortenhonigen, alle Publikationen in Englisch
  - A. Beurteilungsgrundlagen
    - 1. Determination of honey botanical origin: problems and issues
    - 2. Main European unifloral honeys: descriptive sheets
  - B. Sensorik
    - Sensory analysis applied to honey: state of the art
  - D. Physiko-chemische Methoden
    - Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review

## Umschreibung<sup>2</sup>

Honig wird in [Art. 202 der LMV vom 1. März 1995 \(Stand am 30. April 2002\)](#) definiert.

### DIE HONIGBEREITUNG

Die Honigbereitung beginnt in der Honigblase der Sammelbiene. Der aufgenommene Rohstoff wird schon während der Aufnahme durch Beimischung von Drüsensekreten verändert. Im Bienenvolk wird er von jungen Stockbienen übernommen, verarbeitet und in Wabenzellen eingelagert. Die Honigbereitung umfasst folgende Stufen:

Zunächst wird der von einer Stockbiene übernommene Honigblaseninhalte in etwa Sekundenfolge ruckartig herausgegeben, mit Hilfe des ausgeklappten Rüssels in einem flachen Tropfen ausgebreitet und wieder in die Honigblase eingezogen. Während dieses 15 - 20 Minuten dauernden aktiven Vorganges werden dem Tropfen immer wieder (vor allem aus den Pharynxdrüsen stammende) Sekrete beigemischt. Gleichzeitig verdunstet ein Teil des Wassers, so dass der ursprünglich 60 - 75 g Wasser/100 g Honig enthaltende Rohstoff in halbreifem Honig mit etwa 25 - 40 g Wasser/100 g Honig umgewandelt wird. Dieser wird nun in Wabenzellen eingelagert, womit der zweite, passive Abschnitt der Honigbereitung beginnt. Er beruht auf einer Eindickung des Honigs in den Zellen durch den an den Waben entlangstreifenden Ventilationsstrom trockener Stockluft. Erst wenn der Honig reif ist, d.h. 17 - 20 g Wasser/100 g Honig enthält, werden die Zellen von den Bienen mit Wachsdeckeln verschlossen.

Wird der Honig aus ungedeckelten Waben gewonnen, so hat er meistens mehr als 20 g Wasser/100 g Honig und lässt sich nur bedingt lagern (unreifer Honig). Bei der Honigbereitung nehmen die Gehalte an Proteinen (Enzyme) organischen Säuren und Mineralstoffen zu. Während des Reifungsprozesses und auch später in den gedeckelten Zellen erfährt der Honig weitgehende chemische Umwandlungen. Diese beruhen vor allem auf einer Zunahme der Hexosen (Fructose und Glucose) infolge Hydrolyse der Saccharose, unter gleichzeitiger Bildung neuer, zum Teil höhermolekularer Zuckerarten (Oligosaccharide).

### HONIGGEWINNUNG

Honig soll unter schonenden Bedingungen gewonnen werden, so dass sein Aroma, die Enzyme und die anderen biologischen Begleitstoffe nicht geschädigt werden und der Honig frei von Fremdkörpern und Verunreinigungen bleibt.

Zur Reinigung darf der Honig mit einem grobmaschigen Sieb (lichte Maschenweite nicht kleiner als 0,2 mm) filtriert werden. Durch die Filtration dürfen Pollen nicht entfernt

<sup>2</sup> Wurde im Jahr 2002 vom BAG an die neue Gesetzgebung angepasst

werden. Es dürfen weiter keine Substanzen zugefügt und keine essentiellen daraus entfernt werden.

#### HONIGSORTEN

Je nach Tracht unterscheidet man Blütenhonig und Honigtauhonig, auch "Waldhonig" genannt. Honigtau stammt von Ausscheidungen Pflanzensaft saugender Insekten (Blattläuse, Schildläuse). Honigtau bildet einen klebrigen, zuckerreichen, glänzenden Überzug auf Blättern, Nadeln sowie anderen Pflanzenteilen und wird von den Bienen aufgeleckt und eingetragen.

Wird der Honig vorwiegend aus einer Blüte gewonnen, spricht man von Sortenhonig. Dementsprechend gibt es Sortenhonige von Blütentracht und von Honigtautracht. Sortenhonige haben spezifische sensorische, physikalische und chemische Merkmale (siehe "Richtlinien", Tabelle 23A.6 und 7).

Je nach Gewinnungsart wird nach verschiedenen Sachbezeichnungen unterschieden, welche in [Art. 204 der LMV vom 1. März 1995 \(Stand am 30. April 2002\)](#) definiert werden: [Hier neue LMV Ausgabe angeben, ich habe vorgeschlagen, dass die Sachbezeichnungen nur bei Kennzeichnungsverordnung Art. 60 angegeben sind.](#)

[Welche neue LMV-Ausgabe? Solange neue LMV und allenfalls neue „Honig-VO“ \(habe beides noch nicht gesehen/gelesen\) in der Konsultation und somit nicht in Kraft ist, sind entsprechende Angaben/Verweise fragwürdig](#)

#### LITERATURHINWEISE

*Lipp J.*: Der Honig. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (1994).

*Horn H. und Lüllmann C.*: Das grosse Honigbuch. Verlag Ehrenwirth, München (1992).

*Kloft W.J. und Kunkel H. (Hrsg.)*: Waldtracht und Waldhonig in der Imkerei. Herkunft, Gewinnung und Eigenschaften des Waldhonigs. Verlag Ehrenwirth, München (1985).

*Casuta G. (Hrsg.)*: Der Schweizerische Bienenvater. Fachbuch für Imker. Verlag Sauerländer, Aarau (1985).

*Crane E, Walker P. und Day L.*: Directory of important world honey sources. International Bee Research Association (1984).

*Maurizio A. und Duisberg H.*: Der Honig: Herkunft, Gewinnung, Eigenschaften und Untersuchung des Honigs. Ulmer Verlag, Stuttgart (1975).

*Crane E. (Hrsg.)*: Honey. A Comprehensive Survey. Ed. Heinemann, London (1975).

## Richtlinien für die Beurteilung und Hinweise zur Analyse

### ALLGEMEINE RICHTLINIEN

Honig stellt ein komplexes biologisches Gemisch dar, dessen Zusammensetzung je nach Herkunft und Trachtquelle stark variieren kann. Die gesetzlichen Anforderungen an Honig sind in der Lebensmittelverordnung, der Fremd- und Inhaltsstoffverordnung, der Verordnung über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchsgegenstände, Räume, Einrichtungen und Personal geregelt.

In diesem Kapitel, insbesondere auch in den einzelnen Tabellen angegebene Werte haben orientierenden Charakter und sind im Sinne der "Wichtigen Hinweise" des Einleitungstextes zum Schweiz. Lebensmittelbuch (5. Auflage) vom Dez. 1996, Seite XV, Pkt. 5 zu verstehen.

In *Tabelle 23A.1* sind die wichtigsten Anforderungen und Empfehlungen der Europäischen Union und des Codex Alimentarius für Honig zusammengetragen. Inhaltlich sind diese beiden Normen, mit wenigen Ausnahmen, praktisch identisch.

Die Internationale Honigkommission hat die Honiguntersuchungsmethoden harmonisiert [*Bogdanov und Mitarbeiter (1997)*]. Die meisten Analysenmethoden sind identisch mit den Methoden des Schweiz. Lebensmittelbuches. Ausnahmen sind folgende, nicht im SLMB aufgeführten Methoden: Bestimmung der Zucker mittels Gaschromatographie, Bestimmung des Säuregehalts mit Äquivalenzpunkttitration und Bestimmung der optischen Drehung. Diese Methoden werden jedoch nicht viel angewendet.

Tabelle 23 A.1

Qualitätsmerkmal nach EU <sup>1</sup> , Codex <sup>2</sup>	Anforderungen
1. Zuckergehalt	
1.1. Summe Fructose und Glucose (g/100 g)	
a. Blütenhonig	
b. Honigtauhonig, bzw. Mischungen mit Blütenhonig	
1.2. Saccharose (g/100 g)	
a. Honig allgemein	max. 5
b. Honig von Akazien ( <i>Robinia pseudoacacia</i> ), Luzerne ( <i>Medicago sativa</i> ), <i>Banksia menziesii</i> , Süßklee ( <i>Hedysarum</i> ), Roter Eukalyptus ( <i>Eucalyptus carnadulensis</i> ), <i>Eucryphia lucida</i> , <i>Eucryphia miliganii</i> , <i>Citrus spp</i>	max. 10
c. Lavendelhonig ( <i>Lavendula spp.</i> ) und Borretsch ( <i>Borago officinalis</i> )	max 15
2. Wassergehalt (g/100g)	
a. Honig allgemein	max. 20
b. Heidehonig <sup>1,2</sup> und Backhonig <sup>1</sup>	max. 23
c. Backhonig von Heidenhonig <sup>1</sup>	max.25
3. Wasserunlösliche Stoffe (g/100 g) <sup>1,2</sup>	
a. Honig allgemein	0,1
b. Presshonig	0,5
4. Elektrische Leitfähigkeit (Millisiemens pro cm, mS/cm)	
a. Honig allgemein und Honige die unten nicht aufgeführt sind	höchstens 0,8
b. Honigtauhonig und Kastanienhonig und Mischungen dieser Honigarten	mindestens 0,8
Den unter den Buchstaben a und b festgelegten Anforderungen müssen die nachfolgend genannten Honigarten, sowie Mischungen mit diesen Honigarten, nicht entsprechen: Honige von: Erdbeerbaum ( <i>Arbutus unedo</i> ), Glockenheide ( <i>Erica</i> ), Linden ( <i>Tilia spp.</i> ), Heidekraut ( <i>Calluna vulgaris</i> ), Teebaum ( <i>Malaleuca spp.</i> ), Eukalyptus, Manuka ( <i>Leptospermum</i> )	
5. Gehalt an freien Säuren (Milliequivalent/kg; meq/kg)	
a. Honig allgemein	50
b. Backhonig <sup>1</sup>	80
6. Hydroxymethylfurfural (mg/kg), bestimmt nach Behandlung und Mischung	
a. Honig allgemein	max. 40
b. Honig, produziert in Regionen mit tropischem Klima und Mischungen mit diesem	max. 80
7. Diastasezahl nach Schade, bestimmte nach Behandlung und Mischung	
a) im Allgemeinen mit Ausnahme von Backhonig	Mind. 8
b) Honige mit geringem natürlichem enzymgehalt (z.B. Zitrushonig, Akazienhonig etc.) und einem HMF-Gehalt von höchstens 15 mg/kg	Mind. 3

Bei den aufgeführten Anforderungen/Empfehlungen handelt es sich um Auszüge aus der nachfolgend erwähnten EU-Richtlinie bzw. Codex-Norm. Die meisten Anforderungen sind für beide Normen gleich; Unterschiede werden entsprechend vermerkt. Eine Neuerung ist im Vergleich zu den früheren Normen ist, dass die Anforderungen für HMF und Diastase für den Honig nach Behandlung und Mischung gelten, also für den Honig im Moment der Abfüllung für den Detailhandel.

<sup>1</sup>European Commission, (2002) Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey, Off. J. Eur. Communities L10, 47-52.

<sup>2</sup>Codex Alimentarius (2001), Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey, Standards and Standard Methods, Volume 11.

*Sinnenprüfung.* Honig wird auf Aussehen (Farbe, Trübstoffe, Konsistenz), Geruch und Geschmack geprüft. Siehe dazu *Tabelle 23A.6*, "Merkmale einiger Trachtenhonige", ferner SLMB Kapitel 63 "Sensorische Prüfung"; *Bogdanov* (1986; 1987); *Gonnet* und Mitarbeiter (1985); *Persano-Oddo* und Mitarbeiter (1995) .

*Sediment, Mikroskopie.* Bei der Sedimentbestimmung werden nur Bestandteile erfasst, die schwerer als Wasser sind. Wachsteilchen u.a., welche sich im Überstand befinden, werden dabei nicht erfasst. Der Gehalt an wasserunlöslichen Stoffen wird durch Filtration bestimmt; dies nach Codex Alimentarius Commission Dokument CX 5/10.2; CL (1993)/14-SH, Methode Nr. 2.2.3 (*siehe Anhang zum Kapitel*).

Die Bestimmung der geographischen Herkunft von Honig - qualitative Pollenanalyse - beruht auf der Bestimmung und Auszählung der im Honigsediment vorhandenen Pollenkörner und Honigbestandteile. Sie ist ein wirksames Instrument bei der Aufklärung der botanischen und geographischen Herkunft des Honigs. Es werden dabei natürlich nicht einzelne durch politische Grenzen umschlossene Länder ermittelt, sondern grössere pflanzengeographische und klimatisch charakterisierte Gebiete. Die Kontrolle von Honigen aus Grenzgebieten (z.B. Tessin, Norditalien) gestaltet sich deshalb schwierig. In Ausnahmefällen treten bestimmte Pollenkombinationen auf, die auf das Herkunftsland schliessen lassen.

Die Bestimmung der botanischen Herkunft des Honigs hat die Beurteilung des Anteils der einzelnen Pflanzen (Trachtenquellen) im Honig zum Ziel. Es ist wichtig, dass dabei die verschiedenen blütenbiologischen Gegebenheiten, die zu Über- bzw. Unterrepräsentation von Pollen im Honig führen, berücksichtigt werden. Für die Beurteilung der botanischen Herkunft müssen neben der mikroskopischen Analyse der Pollen und Honigtaubestandteile (Russtaupilze und Algen) auch chemische, physikalische und sensorische Eigenschaften beigezogen werden (*siehe Tabelle 23A.6 und 7*).

Eine Gärung kann durch die mikroskopische Erfassung der Hefen sowie durch eine Bestimmung von Stoffwechselprodukten wie Glycerin oder Ethanol nachgewiesen werden.

Die Methodik der Melissopalynologie (Honigpollenanalyse) wurde in internationaler Zusammenarbeit durch die Internationale Kommission für Bienenbotanik (IUBS) festgelegt und beschrieben. Sie wurde erstmals 1970 und 1978 in einer überarbeiteten Fassung publiziert [*Louveaux und Mitarbeiter* (1970 und 1978)]. Diese Arbeit bildet die Grundlage für die Pollenanalyse.

Für die Durchführung von Pollenanalysen ist ein fundiertes Wissen hinsichtlich der verschiedenen Pollenformen und dem Vorkommen bestimmter Pollen im Honig unerlässlich. Wichtiges und notwendiges Hilfsmittel nebst Literatur [*Horn* und Mitarbeiter



(1992); Moore und Mitarbeiter (1991); Crane und Mitarbeiter (1984); Erdtman (1954); Zander (1935)] ist eine Sammlung mit Pollenvergleichspräparaten. Für einen seriösen Befund muss ein Pollenanalytiker, welcher mit der Melissopalynologie vertraut ist, beigezogen werden (Auskunft erteilt das Zentrum für Bienenforschung der Eidg. Forschungsanstalt Liebefeld, 3097 Liebefeld-Bern).

*Kristallisation.* Der Honig stellt eine übersättigte Zuckerlösung dar. Die Honigkristallisation ist somit ein natürlicher Vorgang [Horn (1991); Schley und Mitarbeiter (1987); Bogdanov (1986)]. Die Geschwindigkeit der Honigkristallisation hängt vor allem vom Glucosegehalt des Honigs ab [White (1962); Bogdanov und Mitarbeiter (1987)]. Honige mit einem Glucosegehalt von  $<28$  g/100 g oder einem Glucose/Wasser Verhältnis von  $<1,7$  bleiben längere Zeit flüssig. Schnellkristallisierende Honige kristallisieren meistens fein aus, währenddem langsam kristallisierende zur groben Kristallisation tendieren. Eine Feinkristallisation des Honigs kann durch spezielle Impfverfahren erreicht werden [Horn (1991); Bogdanov und Mitarbeiter (1988); Schley und Mitarbeiter (1987)].

*Dichte.* Der Honig hat eine relativ hohe Dichte, die von  $1,40$  bis  $1,45$  g/cm<sup>3</sup> variiert [White (1975)]. Diese wird mit verschiedenen Methoden bestimmt: pyknometrisch, durch Auftriebsmessung und mit Aräometer (Spindeln). Sie kann auch nach dem Prinzip der Biegeschwingungsmethode z.B. mittels PAAR-Gerät bestimmt werden (siehe Kapitel 67 "Dichte").

*Konsistenz.* Hier handelt es sich um eine Sammelbezeichnung verschiedener rheologischer Eigenschaften wie Viskosität, Thixotropie, Oberflächenspannung, Kohäsion, Adhäsion usw. Die Bezeichnung Konsistenz wird im Zusammenhang mit der Beschreibung der Beschaffenheit benutzt. Man spricht von cremiger, dünn- oder zähflüssiger Konsistenz. Die Bezeichnung thixotrop gilt für Stoffe, die flüssig sind aber nicht fließen (gelartig). Ein Beispiel eines thixotropen Honigs ist der Heidehonig.

*Viskosität.* Die Viskosität ist ein Mass für die Zähigkeit, d.h. für die innere Reibung einer Flüssigkeit. *Tabelle 23A.2* [Horn und Mitarbeiter (1992), S. 116-119] gibt Auskunft über den Zusammenhang zwischen der dynamischen Viskosität, dem Wassergehalt und der Temperatur von 3 verschiedenen Honigen.

Tabelle 23A.2  
Zusammenhang zwischen Wassergehalt, Temperatur, Viskosität  
[Horn und Mitarbeiter (1992)]

	Wassergehalt	Temperatur	Viskosität (mPa · m)
Akazienhonig (flüssig)	17,8	20 °C	114,4
	17,8	35 °C	25,6
	19,8	20 °C	59,2
	21,8	20 °C	31,8
Tannenhonig (flüssig)	17,1	20 °C	184,4
	19,1	20 °C	74,7
	21,4	20 °C	37,3
Blütenhonig (cremig bzw. feinkristallin)	17,4	20 °C	1578,2
	19,4	20 °C	375,4
	21,4	20 °C	129,5

In der älteren Literatur, z. B. bei *White* (1975) ist für den Honig die kinematische Viskosität angegeben. Diese ist ca. 10mal höher als die dynamische.

Für weiterführende Literatur zu diesem Gebiet siehe *White* (1975), S. 207-239.

**Wärmeleitfähigkeit.** Die Wärmeleitfähigkeit ist ein Mass für die Wärmeübertragung und wird auch als Wärmeleitzahl bezeichnet. Die Wärmeleitfähigkeit des Honigs ist relativ klein. Ein flüssiger Honig hat eine Wärmeleitfähigkeit von  $12 \cdot 10^{-4}$  cal/cm · s · grad, ein kristallisierter Honig  $12,9 \cdot 10^{-5}$  cal/cm · s · grad. Weiterführende Literatur siehe *White* (1975).

**Wasseraktivität ( $a_w$ ).** Die Wasseraktivität und nicht der Wassergehalt ist der bestimmende Faktor für die Haltbarkeit eines Lebensmittels. Im Kapitel 64 "Wasseraktivität" sind die Grundlagen für die  $a_w$  und deren Messung zusammengetragen.

Der Einfluss der Honigzusammensetzung auf den  $a_w$ -Wert wurde in den Arbeiten von *Rüegg* und Mitarbeiter (1981) untersucht. Die  $a_w$ -Werte des Honigs variieren zwischen 0,55 und 0,75. Honige mit einer  $a_w < 0,60$  können als mikrobiologisch stabil bezeichnet werden. Obwohl die Wasseraktivität ein sehr wichtiger Qualitätsfaktor ist [*Bogdanov* und Mitarbeiter (1987)], hat sich ihre Bestimmung in der Routine nicht durchgesetzt.

**Wassergehalt.** Dieser liegt in den meisten Fällen zwischen 15-20 g/100g Honig. Besonders wasserreich sind die Heidehonige, die Wasser bis zu 23 g/100 g Honig enthalten können. Aus Gründen der Haltbarkeit sollte der Wassergehalt nicht über 19 g/100 g Honig liegen, da sonst die Gefahr der Oberflächengärung besteht. Hohe Wassergehalte können entstehen durch vorzeitige Ernte und feuchtes Klima. Es besteht

ein Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt oder der Wasseraktivität und dem Hefegehalt [Stephen (1946)]. Danach nimmt, bei einer Erhöhung des Wassergehaltes um 1 g/100 g, der Gehalt an Hefen um das Fünffache zu. Unter einem Wassergehalt von 17 g/100 g ist der Hefegehalt so klein, dass nur eine minimale Fermentationsgefahr besteht. Siehe dazu auch Abschnitt "Mikrobielle Beschaffenheit".

In der Praxis hat sich zur Bestimmung des Wassergehaltes die refraktometrische Methode bewährt und durchgesetzt. Die Methode nach Karl Fischer liefert den wahren Wassergehalt. Verglichen damit liefert die refraktometrische Methode niedrigere Werte. Siehe dazu Zürcher und Mitarbeiter (1980) sowie Stephen (1946). Der Wassergehalt kann auch über die Dichtemessung mittels eines PAAR-Gerätes (z. B. DMA 48 mit 4 Dezimalen) bestimmt werden.

*Kohlenhydrate.* Die Hauptzuckerarten des Honigs sind Fructose und Glucose. Daneben sind kleinere Mengen von verschiedenen Disacchariden (Saccharose, Turanose, Maltose, Isomaltose etc.) und Trisacchariden (Melezitose, Erlöse und Raffinose) vorhanden [Donner(1977) und Siddiqui (1970)]. Ca. 95 g/100 g der Honigtrockenmasse besteht aus Zuckerarten.

Tab. 23A.3  
Gehalt an Zuckerarten in Blüten- und Honigtauhonigen

Zuckerarten	Blütenhonig (g/100 g)			Honigtauhonig (g/100 g)		
	IC* (m)	HPLC** (m)	Bereich***	IC* (m)	HPLC** (m)	Bereich***
	Anzahl 12	Proben 118		Anzahl 7	Proben 38	
Fructose	37,8	39,6	32,5 – 45,2	35,7	2,3	28,3 - 39,8
Glucose	30,2	30,9	24,3 - 39,9	25,0	23,9	19,0 - 31,5
Sacharose	0,05	0,7	0,05 - 6,2	0,07	0,5	0,05 - 1,0
Maltose <sup>1</sup>	0,9	0,6	0,1 - 2,3	--	1,4	0,5 - 2,5
Turanose	1,1	1,4	0,8 - 2,9	1,7	1,8	0,5 - 2,5
Trehalose	<0,05	0,3	0,05 - 1,5	0,5	1,1	0,1 - 2,4
Isomaltose <sup>2</sup>	1,3	0,3	0,2 - 2,2	4,1	0,3	0,1 - 10,8
div. Disaccharide	--	2,3	1,1 - 5,5	--	1,8	0,5 - 5,0
Erlose	0,4	0,7	0,1 - 6,0	0,4	1,4	0,1 - 5,3
Melezitose	0,1	0,2	0,1 - 1,0	1,8	5,3	0,3 - 22,0
Raffinose <sup>3</sup>	0,5	Nn	0,3 - 0,7	1,4	0,5	0,1 - 2,5
Melezitose + Raffinose	--	0,2	0,1 - 1,1	--	5,8	1,1 - 23,5
Maltotriose	0,2	--	0,1 - 0,4	0,6	--	0,1 - 1,3
Unbekannte Oligasaccharide	4	--	1 - 3	2	--	1 - 3
Zucker total	78,1	77	61,5 - 82,5	74,8	70,4	60,5 - 81,0

Legende:

\*IC: Mittels gepulstamperometrischer Detektion erhaltene Werte vom Kant. Laboratorium Basel-Stadt, siehe Methode 11.

\*\*HPLC: Siehe Methode 23A/8.1

\*\*\*Bereich: Dieser gilt für beide Methoden zusammen

m: arithmetische Mittelwerte

-- = nicht analysiert; nn = nicht nachweisbar; "div. Disaccharide = Zusammenfassung von Nigerose, Maltulose und Kojibiose.

<sup>1</sup>bei der HPLC-Methode wird oft auch Maltulose miterfasst

<sup>2</sup>bei der IC-Methode wird zusätzlich auch Maltulose miterfasst

<sup>3</sup>bei der IC-Methode wird zusätzlich auch Nigerose miterfasst.

Das Spektrum der Zuckerarten ist z.T. charakteristisch für gewisse Honigsorten (siehe *Tabelle 23A.3*). Melezitose und Raffinose sind nur in Honigtauhonigen vorhanden. Aufgrund des Zuckerartenspektrums kann man aber nicht mit Sicherheit auf die Honigsorte schliessen.

Zum Nachweis der Zuckerarten bedient man sich heute vor allem der HPLC auf aminogebundenem Silikagel [*Bogdanov* und Mitarbeiter (1988) und Methode nach DIN-Norm Nr. 10758 (1992)]. In letzter Zeit wurde die Ionenchromatographie mit gepulstamperometrischer Detektion angewandt [interne Methode des Kantonalen Laboratoriums Basel-Stadt; *Bogdanov* und Mitarbeiter (1997), siehe Anhang sowie *Swallow* und Mitarbeiter (1990)]. Der Vorteil dieser Methode gegenüber der herkömmlichen HPLC: Höhere Empfindlichkeit, bessere Trennung, Gebrauch von umweltverträglichem Eluent, längere Lebensdauer der Trennsäule. Nachteil: Erfordert korrosionsfeste Apparatur.

Die Zuckerarten können auch mittels Kapillargaschromatographie bestimmt werden [*Sabatini* und Mitarbeiter (1984) sowie *Mateo* und Mitarbeiter (1987)]. Die Methode ist aber viel aufwendiger als die flüssigchromatographische. Zudem können damit nicht mehr Zuckerarten bestimmt werden.

Bei den Honigtauhonigen können 10 bis 15 g/100 g der Zuckerarten nicht mit der flüssigchromatographischen oder kapillar-gaschromatographischen Methode bestimmt werden (siehe *Tabelle 23A.3*). Bei diesen damit nicht erfassbaren Zuckerarten handelt es sich wahrscheinlich um höhere Oligosaccharide.

Enzymatisch bestimmt man insbesondere Fructose und Glucose (Methode 23A/8.3). Für die dünnschichtchromatographische Bestimmung siehe *Gauch* und Mitarbeiter (1979).

**Säuregehalt.** Der Honig enthält viele organische Säuren. Die meisten von ihnen werden von den Bienen zugesetzt [*Echigo* und Mitarbeiter (1974)]. Die Hauptsäure ist die Gluconsäure. Daneben sind noch folgende Säuren nachgewiesen worden: Ameisen-, Wein-, Äpfel-, Citronen-, Bernstein-, Butter-, Milch- und Oxalsäure sowie verschiedene aromatische Säuren. In der EU ist die höchstzulässige Menge an Säuren auf 50 meq/kg festgelegt (Ausnahme: für Back-/IndustrieHonig gilt: 80 meq/kg).

**Mineralien, Spurenelemente und elektrische Leitfähigkeit.** Blütenhonige enthalten 0,1 - 0,35 g Mineralien und Spurenelemente/100 g Honig (Ausnahme Kastanienhonig mit mehr als 1 g/100 g), Honigtauhonige bis 1 g/100 g und mehr. Der Gehalt an Mineralien und Spurenelementen von Honig ist in *Tabelle 23A.4* angegeben. Die Werte wurden in Honig verschiedener Provenienz gemessen [*Morse* und Mitarbeiter (1980); *Petrov* (1970) sowie interne Angaben des Kantonalen Laboratoriums Zürich]. Der Hauptmineralstoff ist Kalium.

Heute wird anstatt des Aschegehaltes die elektrische Leitfähigkeit des Honigs bestimmt. Sie ist viel einfacher messbar und wird vor allem für die Charakterisierung der Sortenhonige gebraucht (siehe *Tabelle 23A.7*). Ursachen für die Unterschiede im

Aschegehalt und der Leitfähigkeit der verschiedenen Honige ist ihre unterschiedliche geographische und botanische Herkunft. Heute wird meistens die Leitfähigkeit bestimmt, die auch zur Bestimmung der Honigsorte herangezogen wird.

*pH-Wert.* Reine Blütenhonige besitzen meistens niedrige *pH*-Werte (3,3 bis 4,6). Eine Ausnahme bilden die Kastanienblütenhonige mit relativ hohem *pH*-Wert von 5 bis 6 (siehe *Tabelle 23A.7*). Honigtauhonige haben wegen ihres höheren Gehaltes an puffernden Salzen durchschnittlich höhere *pH*-Werte (4,2 bis 5,5).

*Tabelle 23A.4*

*Mineralien und Spurenelemente in Honig verschiedener Provenienz*

	mg/kg			mg/kg	
Kalium	200	- 1500	Mangan	0,2	- 10
Natrium	16	- 170	Chrom	0,1	- 0,3
Calcium	40	- 300	Kobalt	0,01	- 0,5
Magnesium	7	- 130	Nickel	0,3	- 1,3
Eisen	0,3	- 40	Aluminium	3	- 60
Zink	0,5	- 20	Kupfer	0,2	- 6,0
Blei <sup>3</sup>	<0,02	- 0,8	Cadmium <sup>1</sup>	<0,005	- 0,15

<sup>3</sup> Kontamination

*Stickstoffhaltige Substanzen.* Solche finden sich in Blütenhonigen zu ca. 0,3 g/100 g, in Honigtauhonigen zu 1 g/100 g und mehr. Für die Honigbeurteilung sind sie, abgesehen von den Enzymaktivitäten, bis jetzt ohne Bedeutung [Bogdanov (1981)]. Die stickstoffhaltigen Substanzen sind die Enzyme und Aminosäuren.

*Enzyme.* Die Hauptenzyme des Honigs sind: Invertase (1,4- $\alpha$ -Glucosidase), Diastase (Amylase;  $\alpha$ -Amylase), Glucoseoxidase, Katalase und Phosphatase. Sie stammen hauptsächlich von den Bienen [White und Mitarbeiter (1978)]. Wichtig für die Beurteilung des Honigs sind die Invertase und die Amylase; siehe dazu den 2. Abschnitt der Richtlinien, "Lager- und Wärmeschädigungen". Die Enzymaktivitäten variieren allerdings bereits in frischen Honigen innerhalb weiter Grenzen (siehe *Tabelle 23A.7*).

Die Diastase lässt sich am einfachsten mit einem modifizierten Phadebatest bestimmen [Bogdanov (1984)]. Die klassische Methode nach Schade [Methode 23A/6.2; Hadorn und Mitarbeiter (1972); Hadorn (1961)] ist die offizielle Methode im europäischen Raum (EU), ist aber weniger gut reproduzierbar wegen der Uneinheitlichkeit der gebrauchten Stärken. Die Werte aus beiden Methoden korrelieren gut, d.h. man kann aus Messungen mit der Phadebasmethode die Diastaseaktivität nach Schade berechnen.

*Aminosäuren.* Ein Teil der Honigaminosäuren stammt von der Biene, ein anderer aus dem Nektar [Bergner und Mitarbeiter (1972)]. Die Hauptaminosäure ist das Prolin. Der Aminosäuregehalt eines Honigs gibt Auskunft über die botanische Herkunft des Honigs [Bosi und Mitarbeiter (1978) sowie Davies (1975)]. Der Prolingehalt gibt Auskunft über die Honigreife und kann zum Nachweis der Honigfälschungen dienen [von der Ohe und Mitarbeiter (1991)]. Ein Honig wäre demnach erst ab einem Prolingehalt von mehr als 183 mg/kg als reif anzusehen. Niedrigere Werte weisen auf unreife oder verfälschte Honige hin.

*Hydroxymethylfurfural (5-[Hydroxymethyl]-furan-2-carbaldehyd; HMF).*

FrISCHE, sogleich nach der Tracht geerntete, aus gemäßigtem Klima stammende Honige enthalten kein oder nur Spuren von HMF (meistens unter 3 mg/kg). Während der Lagerung bildet sich aus Zucker unter dem Einfluss der Säuren je nach pH-Wert und Temperatur des Honigs verschieden schnell HMF. Bei normaler Lagerung in unserem Klima findet pro Jahr eine HMF-ErhöHUNG um ca. 5 bis 10 mg/kg statt. Bei der Lagerung in der Wärme und beim Umschmelzen bei höheren Temperaturen (50 bis 70 °C) steigt der HMF-Gehalt rascher an. Siehe Hadorn und Mitarbeiter (1962).

HMF-Werte über 40 mg/kg sind für Speisehonig qualitätsmindernd, da sie auf eine Lager- oder Wärmeschädigung hindeuten (siehe 2. Abschnitt, "Lager- und Wärmeschädigungen"). Unzweckmässig behandelte Honige können HMF-Gehalte von bis 100 mg/kg oder mehr enthalten.

Die photometrische Bestimmung von Winkler (Methode 23A/9.1; offizielle Methode im europäischen Raum) sollte wegen der Kanzerogenität des p-Toluidins nicht angewandt werden. Die photometrische Bestimmung nach White (23A/9.2) und die Bestimmung mittels HPLC (23A/9.3) erlauben eine schnelle und zuverlässige HMF-Bestimmung.

*Aromastoffe.* Es sind 100 bis 150 verschiedene Aromastoffe in Honig isoliert und zum Teil chemisch charakterisiert worden [Bousseta und Mitarbeiter (1992); Häusler und Mitarbeiter (1990); Maga (1983)]. Diese spielen für die sensorische Honigbeurteilung eine Rolle. Die Aromastoffe bleiben am besten erhalten, wenn der Honig verschlossen und kühl gelagert wird. Bei der Erhitzung des Honigs geht ein Teil der Aromastoffe verloren.

*Toxine.* Berichte über giftige Honige gibt es von White (1981), Culvenor (1986) sowie Lampe (1988). Es handelt sich dabei meistens um Honige von Pflanzen der Familie der Ericaceen. Vergiftungen beschränkten sich meistens auf Einzelfälle (Touristen, welche im Kaukasus oder in der Türkei giftigen Honig konsumiert oder dort gekauft haben). Es gibt auch Berichte über giftige Honige in Japan, Neuseeland, Australien und den USA. Solche aus Mitteleuropa sind nicht bekannt. Die Substanzen, die diese Wirkungen verursachen, sind charakterisiert worden [White (1981), wo auch die Originalliteratur entnommen werden kann].

Tabelle 23A.5 gibt eine Übersicht der wichtigsten Toxine mit den Honigen, in welchen sie gefunden worden sind.

Über Vergiftungen ist vor allem beim Konsum von solchen Honigen berichtet worden, die Substanzen der Andromedotoxingruppe und der Tutin-, Hyenanchingruppe enthalten [White (1981); Gösinger und Mitarbeiter (1983)]. Folgende Symptome sind beschrieben worden: Bewusstlosigkeit, Erbrechen, Sehschwäche, Delirium, Nausea, Magen- und Kopfschmerzen, schwacher Puls etc. Bei Konsumation von Honigen von *Echium plantagineum*, die Pyrrolizidinalkaloide enthalten, sind keine Vergiftungsfälle bekannt [Culvenor und Mitarbeiter (1981)].

Der Nachweis der Honigtoxine geschieht mit Dünnschichtchromatographie [White (1981)] sowie mit Hochdruckflüssigchromatographie und Gaschromatographie [Love (1990)].

*Antibakterielle Stoffe.* Die antibakterielle Wirkung des Honigs beruht auf dem hohem Zuckergehalt und dem Vorhandensein von spezifischen antibakteriellen Substanzen (Inhibine). Auch in sehr verdünnten Honigen sind diese Inhibine wirksam. Ein Teil der Inhibinwirkung ist auf das Wasserstoffperoxid zurückzuführen [White und Mitarbeiter (1963)], das von Glucoseoxidase gebildet worden ist. Dieses Inhibin ist wärme- und lichtempfindlich. Ein anderer Teil der Inhibine ist wärme- und lichtstabil [Bogdanov (1984) sowie Molan (1992)] und besteht in erster Linie aus Säuren, aber auch aus Basen, lipophilen, nicht-flüchtigen und flüchtigen Substanzen unbekanntem Ursprungs [Bogdanov (1997)].



Tabelle 23A.5  
*Honigtoxine, Herkunft*

<i>Toxische Substanz</i>	<i>Herkunft</i>	<i>Gehalt mg/kg</i>	<i>Literatur Angabe</i>
Acetylandromedol	Kalmia latifolia Thododendron thompsoni	100 108	White (1981)
Andromedol	Honig unbekannter Herkunft Rhododendronarten	7	White (1981); Gösinger u. Mitarbeiter (1983)
Anthydroandromedol	Honig unbekannter Herkunft	3	White (1981)
Desacetyl-Pieristoxin B	Honig unbekannter Herkunft	>7	White (1981)
Tuntin Hyenanchin	Honigtau Honig von Scolopyra aus Neuseeland	20 160	White (1981)
Pyrrolizidinalkaloide (Senecionin, Senscaphyline, Jacolin, Jacobin)	Senecio jacobea	0,3 - 3,9	White (1981)
Echimidine, 7-Acetylcopsamine, Achiu-mine, Uplandicine, Lycopsamin, Intermedine	Echium plantagineum	0,3 - 1,0	Culvenor (1981)

*Vitamine.* Diese kommen in Honig nur in unbedeutenden Mengen vor. Zur Bestimmung einzelner Vitamine siehe Kapitel 62 "Vitaminbestimmungen in Lebensmitteln und Kosmetika".

*Mikrobielle Beschaffenheit.* Honig stellt eine konzentrierte Zuckerlösung mit hohem osmotischem Druck dar. Mikroorganismen, die in den Honig gelangen, können sich nicht weiter vermehren. Man findet im Honig weniger Bakterien als in anderen rohen Tierprodukten [Tysset und Mitarbeiter (1981)], vor allem keine für den Menschen gefährliche Bacillusarten. Von Bedeutung ist aber Bacillus larvae, das die gefürchtete Bienenseuche (böartige europäische Faulbrut) verursacht. Honigbehälter und Honigabfälle dürfen für Bienen nicht zugänglich sein.

In einigen Publikationen ist vom Vorkommen von *Clostridium botulinum* in Honig [Arnon und Mitarbeiter (1979); Sugiyama und Mitarbeiter (1978)] berichtet worden. Untersuchungen in Europa [Hartgen (1980); Fleming und Mitarbeiter (1980)] bestätigen diese Befunde nicht, mit Ausnahme eines Befundes in italienischem Honig [Criseo und Mitarbeiter (1993)]. Toxine können zwar nicht gebildet werden, da ein Auskeimen und Wachstum durch tiefe Wasseraktivität verhindert wird; Sporen hingegen können überleben. [Wellford und Mitarbeiter (1978)]. In einer Übersicht über das Botulismus-Problem in Honig wird der gegenwärtige Stand des Wissens dargestellt [P. Vlaven (1995)]. Es hat Einzelfälle von Säuglingsbotulismus bei Säuglingen (bis zu 1 Jahr alt) nach Honigkonsum gegeben. Aus diesem Grund wird in den USA und in manchen europäischen Ländern vom Honigkonsum für bis zu 1 Jahr alten Säuglingen abgeraten. Da *Clostridium botulinum* ubiquitär, d.h. in vielen anderen Lebensmitteln auch anzutreffen ist, verzichten die Gesundheitsbehörden in der Schweiz gegenwärtig darauf, entsprechende Warnungen auf der Honigetikette vorzuschreiben. Honig enthält verschiedene osmotolerante Hefen [Tysset und Mitarbeiter (1981)], die für die Gärung verantwortlich sind (siehe auch Abschnitt über den "Wassergehalt").

Untersuchungen in mikrobiologischer Hinsicht können nach Kapitel 56 "Mikrobiologie" vorgenommen werden.

**Sortenhonige.** Als Sortenhonige gelten Honige, die überwiegend aus bestimmten Blüten oder Pflanzen stammen und somit bestimmte sensorische, mikroskopische und physiko-chemischen Eigenschaften besitzen. Für die Beurteilung der Honigsorten müssen die physiko-chemischen, sensorischen und pollenanalytischen Eigenschaften des Honigs berücksichtigt werden (Persano Oddo und Mitarbeiter, 2004, siehe Anhang).

Die sensorischen Eigenschaften der Sortenhonige sind in *Tabelle 23A.6* zusammengestellt. Für die Richtlinien zur und Methoden der sensorischen Analyse des Honigs siehe Anhang (Piana und Mitarbeiter, 2004). Die sensorische Analyse muss durch geübte Sensoriker bestimmt werden, am besten durch einen trainierten Sensorikpanel.

Die harmonisierten Methoden der Pollenanalyse von Honig, und auch der Sortenhonige sind im Anhang angegeben (Von der Ohe und Mitarbeiter, 2004). Die Pollenanalyse muss durch einen geübten Pollenanalytiker durchgeführt werden.

Die physiko-chemischen und die pollenanalytischen Kriterien für die wichtigsten 13 Blütensortenhonige Europas sind im Anhang beschrieben (Persano Oddo und Piro 2004) Die sehr umfassende Datensammlung der Honige stammt aus 11 europäischen Ländern, darunter auch von der Schweiz. Die in der Schweiz geernteten Sortenhonige, d.h. Akazien-, Alpenrosen-, Kastanien-, Lindenblüten-, Löwenzahn-, und Rapshonig, sind ebenfalls beschrieben (Bogdanov, 1997). Die Bedeutung der verschiedenen Qualitätskriterien für die Bestimmung der Honigsorten ist auch im Anhang angegeben (Bogdanov und Mitarbeiter, 2004).

Für trachtspezifische Honigtausortenhonige gibt es keine international anerkannte sensorische, pollenanalytische und physiko-chemische Qualitätskriterien. Die elektrische

Leitfähigkeit der Tannenhonige sollte mindestens einen Wert 0.95 mS/cm aufweisen (Talpay 1985). Unter Tannenhonige versteht man Honige aus Weiss- und Rottanne.

Es existieren auch neuere Methoden für die Sortenhonigbestimmung, diese sind jedoch noch bisher noch nicht international anerkannt (Bogdanov und Mitarbeiter, 2004, Anhang).

*Honiglagerung.* Die Honigqualität bleibt am besten erhalten bei kühler und trockener Lagerung. In undichten Verpackungen nimmt der Honig bei feuchter Lagerung Wasser auf wobei es zu einer Gärung des Honigs kommen kann.

#### *Honigverpackungen*

Industrie und Handel

*Grossgebände:* 150 - 300 kg Metallfässer, die innen eine intakte, lebensmitteltaugliche Schutzlackschicht haben.

Die Innenbeschichtung der Fässer muss intakt und vollständig sein. Gegenüber mangelhafter oder fehlender Beschichtung wirkt der Honig wegen seines tiefen *pH*-Wertes und der hohen Zuckerkonzentration korrosiv, wodurch sich der Eisengehalt im Honig erhöht.

Fässer die innen mit Paraffin beschichtet sind, sollten nicht mehr verwendet werden.

Laboratoriumsuntersuchungen haben gezeigt, dass der Honig durch diese Art von Verpackung mit Paraffin verunreinigt wird.

Der äussere Zustand eines Fasses sagt meistens nichts aus über die Innenbeschichtung.

*Eimer:* 25 - 30 kg aus Weissblech, Chromstahl, Aluminium und Kunststoff.

Detailhandel

*Konsumentenpackungen* aus Glas, Kunststoff, Metall. Paraffinierte Kartondosen sollten, wie oben erwähnt, nicht mehr verwendet werden.

## RAGENZIEN UND LÖSUNGSMITTEL

Wenn nicht anders angegeben,

- sind analysenreine Chemikalien zu verwenden
- ist Wasser destilliert, deionisiert oder von entsprechender Reinheit
- ist unter "Lösung" eine wässrige Lösung zu verstehen.

Gelöscht: .

Gelöscht: .

Bei einzelnen Methoden gelangen toxische organische Lösungsmittel zum Einsatz. Die SK 7 bemüht sich, giftige Reagenzien generell durch andere und umweltschonende zu ersetzen. Infolge des damit verbundenen hohen Arbeitsaufwandes wird dies aber nur beschränkt und längerfristig möglich sein. Methoden von internationaler Bedeutung (siehe Anhang) können nur im grossen Rahmen entsprechend modifiziert werden, was je nach Wichtigkeit der Methode mindestens angeregt werden kann.

Tab. 23A.6  
 Merkmale einiger Trachtenhonige von Blütentracht und Honigtautracht  
 Blütenhonige

Honigsorte	Haupterkunft	Geruch	Geschmack	Farbe	Konsistenz
Akazienhonig	Mittel- und Südeuropa, China	schwach fruchtig	sehr süß	Wasserhell-hellgelb (fl)	Bleibt längere Zeit flüssig (in der Regel mehr als 1 Jahr)
Alpenrosenhonig	Europa	Schwach fruchtig	süß, wenig ausgeprägt	Wasserhell (f)	Bleibt 3 - 6 Monate flüssig
Edelkastanie	Europa	Intensiv	bitter, herb	Braun-rot (fl)	Bleibt 6 - 12 Monate flüssig
Heidehonig	West- und Nordeuropa	intensiv	herb, sehr aromatisch	Rötlich-braun dunkelgelb (f)	Tixotrophe, gelatinartige Konsistenz
Kleehonig	Übersee	wenig ausgeprägt	mild süß	Hellbeige-weiss (f)	Sehr fein und schnell kristallisierend
Lavendelhonig	Mittelmeerraum	nach Lavendelblüten	Lavendel	Wasserhell (f)	Fein-kristallin
Lindenblütenhonig	Europa, China	ausgeprägt nach ätherischen Ölen	Leicht bitter lindengeschmack	Zartgelb-zartgrün (fl)	Flüssig oder mittel bis grob kristallin
Löwenzahnhonig	Europa	intensiv tierisch	fruchtig, intensiv	Hellgelb-dunkelgelb (f)	Fein- und schnell kristallisierend
Orangenblütenhonig	Mittelmeerraum, Australien, Mexico, USA	wenig ausgeprägt	zitrusgeschmack	Hellgelb-gelborange (fl)	Kristallisiert langsam Kristalle fein bis mittel

Honigsorte	Hauptherkunft	Geruch	Geschmack	Farbe	Konsistenz
Rapshonig	Europa Nordamerika	Mehr oder weniger Kohl	Typisch, weniger ausgeprägt als Geruch	Hell, weisslich (f)	Schnell kristallisierend, z. T. harte Konsistenz
Rosmarinhonig	Mittelmeerraum	Fein, aromatisch	fresch, vegetal	Hell (f)	Kristallisiert rasch, Kristalle fein bis mittel
Sonnenblumenhonig	Europa	Schwach	vegetal	Goldgelb (f)	Kristallisiert rasch, Kristalle fein bis mittel
Thymian	Mittelmeerraum	Intensiv tierisch	Fresch, fruchtig	Gelb-braun	Kristallisiert mittel-schnell
Eucalyptus	Mittelmeerraum, Übersee	Intensiv, aber nicht nach Eucalyptus	Intensiv, stark	Gelb-braun	Kristalle fein bis mittel

### Honigtauhonig

Honigsorte	Herkunft	Geschmack	Farbe	Konsistenz
Honig von Nadelhölzern (Weisstanne, Rottanne, Föhre, Pinie)	Osteuropa gemässigte Zone	Würzig, harzig	Weisstanne: tiefbraudunkel bis schwarz-grün am Glasrand bräunlichgrüner Schimmer  Honige anderer Nadelhölzer: braun oder rotstichig	Bleibt längere Zeit flüssig
Honige von Laubbäumen (Eiche)	Ganze Welt	Malzig bis würzig	Rötlich-braun	Bleibt längere Zeit flüssig
Honit von Metcalfa pruinosa	Italien, Frankreich	Malzig, würzig	Sehr dunkel	Bleibt längere Zeit flüssig

(f) = flüssig

(f) = fest kristallisiert

## LAGER- UND WÄRMESCHÄDIGUNGEN

Die Qualitätskriterien Hydroxymethylfurfural (HMF), Invertase- ( $\alpha$ -Glucosidase-, Saccharase-) und Diastase- ( $\alpha$ -Amylase-, Amylase-) aktivitäten werden zur Beurteilung von Lager- und Wärmeschäden herangezogen [*Hadorn* und Mitarbeiter (1962); *White* und Mitarbeiter (1964); *Sancho* und Mitarbeiter (1992)].

In *Tabelle 23A.8* sind hierzu die wichtigsten Kriterien zusammengefasst.

*Tabelle 23A.8*

*Beurteilungskriterien für frisch gewonnenen sowie wärmegeschädigten Honig*

Honig	HMF <sup>4</sup>	DZ <sup>5</sup>	IZ <sup>6</sup>
<b>1. Normen<sup>1</sup></b>			
Honig, allgemein	max. 40	min. 8	
Honig, enzymarm	max. 15	min. 3	
Honig, tropisch	max. 80	min. 8	
<b>2. Richtwerte<sup>2</sup></b>			
frisch gewonnener Honig, allgemein	<0,5 - 15	13 - 30	10 - 25
frisch gewonnener Honig, enzymarm	<0,5 - 15	4 - 8	8 - 12
Handelshonig, allgemein	10 - 40	8 - 14	4 - 10
Handelshonig, enzymarm	3 - 15	5 - 12	2 - 6
Geschädigt durch kurze Erwärmung	1 - 30	- <sup>3</sup>	<0,5 - 4
Geschädigt durch lange Erwärmung	40 - 150	- <sup>3</sup>	<0,5 - 4

## LEGENDE

<sup>1</sup> Die Normen nach EU und Codex Alimentarius nach *Tabelle 23A.1* gelten explizit für Honig nach der Behandlung und Mischung in Verkehr gebrachten Honig, also nicht für den Honig, der im Detailhandel angeboten wird.

<sup>2</sup> Werte nach *Duisberg* und Mitarbeiter (1966) sowie *Hadorn* und Mitarbeiter (1962).

<sup>3</sup> Der Einfluss der Erhitzung ist viel kleiner als bei der Invertase. Einschlägige Werte variieren produkt- und technologieabhängig sehr stark.

<sup>4</sup> Hydroxymethylfurfural

<sup>5</sup> Diastasezahl (Amylasezahl)

<sup>6</sup> Invertasezahl

Am aussagekräftigsten ist dabei der HMF-Gehalt. Frisch gewonnener Honig enthält praktisch kein HMF. Bei langer oder zu warmer Lagerung steigt dieser an (*Tabelle 23A.9*). Die HMF-Zunahme ist abhängig vom *pH*-Wert. Bei Honig mit tiefen *pH*-Werten (z.B.

Blütenhonig) erfolgt die Zunahme schneller als beim übrigen Honig (z.B. Honigtau-honig); siehe *Hadorn und Mitarbeiter (1962)*.

*Tabelle 23A.9*

*Zeitbedarf zur Bildung von 40 mg HMF/kg Honig in Abhängigkeit der Lagerungstemperatur [nach White und Mitarbeiter (1964), Hadorn und Mitarbeiter (1962) und Sancho und Mitarbeiter (1992)].*

Temperatur °C	Zeit für die Bildung von 40 mg HMF/kg
4	20 - 80 Jahre
20	2 - 4 Jahre
30	0,5 - 1 Jahr
40	1 - 2 Monate
50	5 - 10 Tage
60	1 - 2 Tage
70	6 - 20 Stunden

Die Invertase- und Diastase-Aktivitäten variieren von Honig zu Honig sehr stark und sind nur in beschränktem Masse für Lager- und Wärmeschäden aussagekräftig. Bei frisch gewonnenem Honig stehen die Enzymaktivitäten in einem bestimmten Verhältnis zueinander. Die Invertase ist wesentlich lagerungs- und hitzeempfindlicher als die Diastase (*Tabelle 23A.10*). *Kiermeier und Mitarbeiter (1954)* setzen deshalb den Quotienten zwischen der Invertase- und der Diastasezahl (Kiermeier Quotient, KQ) als Beurteilungskriterium ein. Der KQ von nicht geschädigtem Honig ist grösser als 0,5, ansonsten variiert er zwischen 0,2 und 0,5 [*Duisberg und Mitarbeiter (1966)*]. Da der KQ jedoch sehr breiten natürlichen Schwankungen unterworfen ist, kann er nicht als alleiniges Kriterium für die Beurteilung von Lager- und Wärmeschäden herangezogen werden.

In verschiedenen europäischen Ländern haben die Imkerorganisationen Mindestanforderungen für sogenannten "Qualitäts- oder naturbelassenen" Honig aufgestellt. Für diese Klasse sollte der HMF-Wert < 15 mg/kg und die Invertasezahl  $\geq 10$  sein [*Duisberg und Mitarbeiter (1966)*].



Tabelle 23A.10  
Lagerungstemperatur und Schädigung der Honigenzyme  
[nach White und Mitarbeiter (1964)].

Temperatur °C	Halbzeitwert			
	Amylase		Invertase	
10	12'600	Tage	9'600	Tage
20	1'480	Tage	820	Tage
30	200	Tage	83	Tage
40	31	Tage	9,6	Tage
50	5,4	Tage	1,3	Tage
60	1	Tag	4,7	Stunden
70	5,3	Stunden	47	Minuten
80	1,2	Stunden	8,6	Minuten

Eine thermische Behandlung wird durchgeführt, um die Hefen abzutöten oder um die Kristallisation zu verzögern. Je nach den technologischen Bedingungen wird die Invertase mehr oder weniger stark geschädigt, währenddem der HMF-Gehalt und die Diataseaktivität weniger beeinflusst werden [Gonnet und Mitarbeiter (1964); Hadorn und Mitarbeiter (1962)].

#### HONIGFÄLSCHUNGEN

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, Honig zu verfälschen. Am wahrscheinlichsten ist die Verfütterung oder Beigabe von Zucker. Zucker wird in den meisten Industrieländern als Winternahrung an die Bienen verfüttert. Verwendet werden reiner Zucker (Saccharose), Invertzucker oder zuckerhaltige Produkte aus Mais, Kartoffeln, Weizen, Reis u.a., die durch enzymatische Invertierung oder Hydrolyse gewonnen wurden. Von einer Fälschung kann jedoch erst dann gesprochen werden, wenn diese Produkte während der Tracht verfüttert oder dem Honig direkt beigemischt werden.

Weitere Fälschungsmöglichkeiten sind der Zusatz von Salz (Erhöhung der Leitfähigkeit von Waldhonig zur Vortäuschung von Tannenhonig), Wasser und Pollen, die jedoch von untergeordneter Bedeutung sind.

Falsche Angaben bzgl. botanischer und geographischer Herkunft gelten ebenfalls als Fälschungen.

Bei der Routinekontrolle des Honigs sollten die Enzymaktivitäten, der HMF-Gehalt, die Leitfähigkeit (Asche) und der Prolingehalt bestimmt werden. Im allgemeinen hat verfälschter Honig eine tiefere Enzymaktivität, eine niedrigere Leitfähigkeit und weniger Pollen als der authentische. Diese Kenngrößen können Hinweise auf eine Verfälschung geben, genügen aber nicht für einen stichhaltigen Nachweis, da die Variationsbreite dieser Parameter von Honig zu Honig sehr gross ist. Der HMF- und Prolingehalt sind aussagekräftiger, gelten aber auch nicht als sichere Beweise für eine Verfälschung.

*HMF*: Manche Stärkehydrolysatprodukte haben einen erhöhten HMF-Gehalt. Durch solche Produkte verfälschter Honig weist deshalb ebenfalls einen erhöhten HMF-Wert auf [White und Mitarbeiter (1980)]. Da ein hoher HMF-Wert auch durch Lagerung und Erhitzung des Honigs zustande kommen kann, ist dies ebenfalls kein eindeutiger Beweis für eine Verfälschung.

*Prolin*: Beim Prolingehalt eines unverfälschten, reifen Honigs wird ein Mindestwert von 180 mg/kg vorausgesetzt [Von Der Ohe und Mitarbeiter (1991)]. Tiefere Werte weisen auf Zuckerfütterungs- oder mit Zucker verfälschten Honig hin.

Geben die Resultate der Routinekontrolle einen Hinweis auf eine Verfälschung, sollte dieser mittels spezifischer Methoden erhärtet werden. Mit deren Hilfe werden Parameter erfasst, die für die Zuckerprodukte typisch sind, mit denen der Honig verfälscht worden ist.

*Zuckerspektrum*: Mit Ausnahme einiger enzymschwacher oder Massentrachthonigen wie Akazien-, Alpenrosen-, Orangen- und Lavendelhonig, ist der Erlöse- wie der Saccharosegehalt normalerweise tief (Saccharose <1g/100g). Zuckerfütterungshonig kann einen erhöhten Saccharose- und Erlösegehalt aufweisen. Beide Disaccharide werden mit der Zeit durch honigeigene Enzyme gespalten, weswegen auch sie sich für einen sicheren Verfälschungsnachweis nicht eignen [Deifel und Mitarbeiter (1985)].

Der Nachweis von Verfälschungen mit Stärkehydrolysaten über das Verhältnis von Isomaltose/Maltose gemäss Doner und Mitarbeiter (1979) hat sich in der bisherigen Praxis ebenfalls als zu unsicher erwiesen.

Lipp und Mitarbeiter (1988) verbesserten ein dünnschichtchromatographisches Verfahren von Kushnir (1979), mit dem eine wesentlich bessere Auftrennung von Oligosacchariden erreicht wird. Oligosaccharide sind ausserdem im Honig und in Stärkehydrolysaten vorhanden. Mit Hilfe dieser Methode kann zwischen den Oligosacchariden von Honigtauhonig und Stärkehydrolysaten unterschieden werden.

Dieselben Autoren entwickelten zudem ein HPLC-Verfahren, mit dem sich die typischen Oligosaccharide der Stärkehydrolysatprodukte und des Honigs ebenfalls unterscheiden lassen. In einem ersten Schritt wird die Oligosaccharidfraktion an Aktivkohle adsorbiert und anschliessend mittels der HPLC-Technik analysiert. Wird dabei die Ionenaustausch-HPLC mit gepulstamperometrischer Detektion angewandt, kann die Empfindlichkeit deutlich gesteigert werden [Swallow und Mitarbeiter (1994)]. Dieses Verfahren erlaubt einen Zuckerzusatz von 10 g/100g Honig sicher nachzuweisen.

*Isotopenmethode:* Die Bienen benützen nur Pflanzen vom sogenannten C<sub>3</sub>-Typ als Nektarlieferanten. Pflanzen wie Zuckerrohr und Mais sind hingegen vom C<sub>4</sub>-Typ. Das Isotopenverhältnis <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C ist spezifisch für beide Pflanzengruppen. Basierend auf diesem Sachverhalt entwickelten *White* und Mitarbeiter (1978) ein Verfahren zum Nachweis von Verfälschungen mit Zuckerprodukten aus Zuckerrohr und Mais [*Official Methods of AOAC*, Nr. 44.4.17 (1995)]. Mit der Einführung eines internen Protein-Standards wurde die Methode weiter verbessert [*White* und Mitarbeiter (1989); *White* (1992)]. Damit können Zuckerzusätze von  $\geq 7$  g/100 g Honig nachgewiesen werden [*Rossmann* und Mitarbeiter (1992)].

*Mikroskopische Methode:* Rohrzucker enthält Parenchym- und Epidermiszellen, sowie pflanzliche Gefäßringe, welche im unverfälschten Honig nicht vorhanden sind. In Honigen, welche mit Rohrzucker verfälscht sind, können solche Partikel mikroskopisch nachgewiesen werden [*Kerkvliet* und Mitarbeiter (1995)]. Die Mikroskopie ist eine leicht durchführbare Screening Methode. Zur Bestätigung kann der Isotopentest angewandt werden.

## VERUNREINIGUNGEN

Honig kann partikuläre Verunreinigungen und Kontaminationen verschiedener Fremdstoffe enthalten.

### *Partikuläre Verunreinigungen*

Durch Augenschein kann festgestellt werden, ob der Honig frei von Wachs-, Schmutz- und Insektenteilen, insbesondere Bienenbrut sowie anderen makroskopischen Verunreinigungen ist. Konsumfertiger, vorverpackter Honig, der optisch stark verunreinigt ist, kann beanstandet werden. Für den Gesamtgehalt an wasserunlöslichen Stoffen wird international ein Wert von maximal 0,1 g/100 g empfohlen (*Tabelle 23A.1*); für Presshonige ein solcher von maximal 0,5 g/100 g.

### *Verunreinigungen durch Fremdstoffe*

Fremdstoffe können durch die Sammeltätigkeit der Bienen in den Honig gelangen. Andere wiederum werden durch den Imker selbst in das Bienenvolk eingebracht [*Bogdanov* (1988)] oder sie gelangen nachträglich z. B. durch die Verpackung hinein.

### *Mineralien und Spurenelemente*

Honig enthält natürlicherweise viele Mineralien und Spurenelemente in unterschiedlicher Konzentration. Siehe *Tabelle 23A.4*. Einige Spurenelemente wie Blei, Cadmium, Quecksilber, Eisen, Zink, Aluminium u.a. können z.B. aus ungeeigneten Verpackungsmaterialien, Imkergeräten sowie direkt aus der Umwelt in den Honig gelangen. Bei Kontaminationen aus der Umwelt wirkt die Biene als "Filter", so dass der Honig schwach belastet ist (*Bogdanov* und Mitarbeiter 1991 und 1985; *Bogdanov* 1988).

Erhöhte Gehalte an Eisen und Zink, die für den Metallgeschmack von Honig verantwortlich sind, stammen hauptsächlich aus ungeeigneten Honiggefässen.

#### Schadstoffe

Es gibt Schadstoffe aus der Umwelt und aus der Landwirtschaft. Schadstoffe aus der Imkerei sind gefährlicher für die Honigqualität.

Tabelle 23A.11 führt die wichtigsten Stoffe auf, welche zur Zeit in der Bienenhaltung verwendet werden und die als Rückstände in Honig vorkommen können. Die vollständige Liste der weltweit verwendeten Wirkstoffe ist sehr umfangreich. Ein Review über die Kontaminanten der Bienenprodukte gibt ein Übersicht über das Thema (Bogdanov, 2005). Die wichtigsten Bienenseuchenbekämpfungsmittel sind Akarizide, bei denen es weltweit über 50 Wirksubstanzen gibt. Mit wenigen Ausnahmen (z. B. die organischen Säuren) sind dies meistens lipophile Stoffe, die den Honig wenig belasten und im Bienenwachs zu finden sind [Bogdanov (1988); Bogdanov und Mitarbeiter (1998a)]. Diejenigen organischen Säuren, die als Akarizide eingesetzt werden, sind bereits natürliche Bestandteile des Honigs [Horn und Mitarbeiter (1992)] und deren Gehalte variieren sehr stark von Honig zu Honig (siehe Tabelle 23A.7). Thymol, ein weiteres natürliches, nicht toxisches Akarizid wird ebenfalls eingesetzt, aber die Rückstände sind normalerweise weit unter dem Toleranzwert [Bogdanov und Mitarbeiter (1998b)].

Zur Bekämpfung von Bienenseuchen werden auch Antibiotika eingesetzt, vor allem im Ausland. In der Schweiz ist die Antibiotikaaanwendung verboten. Deshalb sind im Honig keine Antibiotikarückstände zu erwarten. Ca. 1/3 des weltweit-produzierten Honigs ist belastet während das Belastungsgrad des Schweizer Honigs ca. 5-10 % beträgt (Bogdanov, 2005).

Paradichlorbenzol wird zur Bekämpfung der Wachsmotten verwendet. Dieser Einsatz ist jedoch nicht gerechtfertigt, denn die Wachsmotte kann auch ohne Paradichlorbenzol (PDCB) bekämpft werden. Gegenwärtig enthält ca. 1/3 des Schweizer Honigs PDCB während das ausländische weniger belastet ist (Bogdanov und Mitarbeiter, 2004).

Deshalb werden nur minimale Rückstände toleriert (siehe Fremd- und Inhaltsstoffverordnung). Der Einsatz von Phenol als Repellent kann im Honig zu Rückständen bis 12 mg/kg führen [Daharu und Mitarbeiter (1985)].

Daneben gibt es auch Kontaminantien aus der Landwirtschaft. In erster Linie sind das Fungizide und Herbizide (Bogdanov, 2005).

*Tabelle 23A.11*  
*Mögliche Rückstände aus der Imkerei*

Wirkstoff und Handelsbeziehung
<p><i>Akarizide/Insektizide</i></p> <p>Amitraz (Apivet)            Brompropylat (Folbex VA)            Coumaphos (Perizin)            Dibrombenzophenon (Abbauprodukt von Brompropylat)            Flumethrin (Bayvarol)            Fluvalinat (Apistan, Klartan)            Thymol (ApiLife VAR, Thymovar)</p> <p><i>Organische Säuren mit akarizider Wirkung</i></p> <p>Ameisensäure            Milchsäure            Oxalsäure</p> <p><i>Antibiotika</i></p> <p>Amphenicole: Chloramphenicol            Aminoglycoside: Streptomycine, Dihydrostreptomycin            Sulfonamide: Sulfathiazole, Sulfamethazin, Sulfamethaxazol, Sulfadiazin,            Sulfamethoxypyridazin, Sulfadoxin, Sulfadimidin            Macrolide: Tylosine, Myrosamin            Nitrofurantoin Metabolite: 3-Amino-2-Oxazolidinon; Semicarbazid            Tetracycline: Tetracyclin, Oxytetracycline, Chlortetracyclin, Doxycyclin</p> <p><i>Andere</i></p> <p>Chlorethanol            Paradichlorbenzol (Waxviva, Imker-Globol), gegen Wachsmotten            Naphthalin, gegen Wachsmotten            Phenol, Repellent</p>

*Pestizide und halogenierte Kohlenwasserstoffe*

Neben den üblichen Pestiziden, welche hauptsächlich in der Landwirtschaft eingesetzt werden, gelangen auch Substanzen aus der Umwelt wie polychlorierte Biphenyle (PCB) in den Honig. Von imkerlicher Seite könnten Holzschutzmittel (z. B. Pentachlorphenol), die Bestandteil der Beutenfarben sind, in den Honig gelangen [Kalnis und Mitarbeiter (1984)]. Die meisten Pestizide und halogenierten Kohlenwasserstoffe sind lipophile Stoffe, die sich hauptsächlich im Bienenwachs anreichern und deswegen im Honig direkt nur in Spuren vorhanden sind [Bogdanov (1988)].

*Weitere Verunreinigungen*

Organische Substanzen können aus Verpackungsmaterialien wie Kunststoffen, Wachskarton u.ä. migrieren. Siehe dazu Kapitel 48 "Bedarfsgegenstände aus Kunststoff".

Die Bestimmung der verschiedenen Verunreinigungen wird nach Methoden folgender Kapitel durchgeführt:

- Toxische Metalle und Spurenelemente: Kapitel 45 "Spurenelemente".
- Pestizide und halogenierte Kohlenwasserstoffe: Kapitel 46 "Pestizidrückstände".
- Migrationsstoffe: Kapitel 47A "Materialien aus Papier, Karton und Pappe für Lebensmittel" sowie Kapitel 48 "Bedarfsgegenstände aus Kunststoff".
- Bienenseuchenbekämpfungsmittel: Kapitel 55 "Tierarzneimittelrückstände".
- Radionuklide: Kapitel 68 "Radionuklide in Lebensmitteln".

## LITERATUR (REIHENFOLGE DER ZITATE NACH ERSCHEINUNGSJAHR)

*Official Methods of Analysis of AOAC International*. Suite 500, 481 North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877 - 2417 USA (neue Auflage ca. alle 5 Jahre).

*Bogdanov, S.: Contaminants of the bee products, Apidologie, 36, (2005) im Druck.*

*Bogdanov S., Kilchenmann V., Seiler K., Pfefferli H., Frey T., Roux B., Wenk P., Noser J. Residues of p-dichlorobenzene in honey and beeswax, J. Apic. Res. 43, 14-16 (2004).*

*Bogdanov, S. und die Internationale Honigkommission: Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: review of the work of the International Honey Commission. Mitt. Lebensmittelunters. Hyg. 90, 108 - 125 (1999).*

*Bogdanov, S., Kilchenmann, V. and Imdorf, A.: Acaricide residues in some bee products, J. Apicult. Research 37, 57 - 67 (1998a).*

*Bogdanov, S., Imdorf, A. and Kilchenmann, V.: Residues in wax and honey after Api Life VAR treatment, Apidologie 29, 513 - 524 (1998b).*

*Bogdanov, S., Martin, P. and Lüllmann, C.: Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie (extra issue) 1 - 59, (1997).*

*Bogdanov, S.: Nature and origin of the antibacterial substances in honey. Lebensm.-Wiss. und Technol. 30, 748 - 753 (1997).*

*Bogdanov, S.: Charakterisierung von Schweizer Sortenhonigen. Agrarforsch. 4, 427 - 430 (1997).*

*Persano-Oddo, L., Sabbatini, A.G., Marcazzan, G.L. e Accorti, M.: Conoscere il miele. Edizioni, Avenue Media Bollogna (1995).*

*Kerkvliet, J.D., Shrestha, M., Tuladhar, K. and Manandhar, H.: Microscopic detection of adulteration of honey with cane sugar and cane sugar products. Apidologie 26, 131 - 139 (1995).*

*Vlayen, P.: Miel et Botulisme. Les Carnets du CARI, 46, 14 - 16 (1995).*

- Zander, E. und Koch, A.: Der Honig. 3. von J. Lipp völlig neubearbeitete und erweiterte Auflage. Ulmer Verlag, Stuttgart (1994).
- Swallow, K. and Low, N.: Determination of honey authenticity by anion-exchange liquid chromatography. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **77**, 695 - 702 (1994).
- Criseo, G. und Mitarbeiter: Isolation of C. botulisme typ B from Sicilian honey samples. Riv. sci. alim. **22** (2), 175 - 181 (1993).
- Codex Alimentarius Commission: Revised Codex Standards for Sugars and Honey; CX 5/10.2; CL (1993)/14-SH; Via delle Terme di Caracalla, Rome (1993).
- DIN-Norm Nr. 10756 (1993): Bestimmung des Gehalts an freier Säure. Beuth Verlag GmbH, Berlin; Vertretung Schweiz: Schweiz. Normen-Vereinigung (SNV), Zürich.
- Horn, H. und Lüllmann, C.: Das grosse Honigbuch. Verlag Ehrenwirth. München (1992).
- Rossmann, A., Lüllmann, C. und Schmidt, H.L.: Massenspektrometrische Kohlenstoff- und Wasserstoff-Isotopen-Verhältnismessung zur Authentizitätsprüfung bei Honigen; Z. Lebensm.-Unters. Forsch. **195**, 307 - 311 (1992).
- Bogdanov, S.: Wiederverflüssigung des Honigs, Schweiz. Bienen-Zeitung **115**, 519 - 525 (1992).
- Molan, P.: The antibacterial activity of honey, Bee world **73**, 5 - 28 und 59 - 76 (1992).
- Boussetta, A., Collins, S. and Dufour, J.P.: Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with dynamic headspace GC-MS system, J. Apic. Res. **31**, 96 - 109 (1992).
- White, J.: Internal standard stable carbon isotope ratio method for determination of C<sub>4</sub> plant sugars in honey: collaborativ study and evaluation of improved protein preparation procedure; J. Assoc. Off. Anal. Chem. **75**, 543 - 548 (1992).
- DIN-Norm-Vorlage Nr. 10758 (1992): Bestimmung des Gehaltes an Sacchariden (HPLC). Beuth Verlag GmbH, Berlin; Vertretung Schweiz: Schweiz. Normen-Vereinigung (SNV), Zürich.
- Sancho, M.T., Muniategui, S., Huidobro, J.F. and Simal, J.: Aging of honey. J. Agric. Food Chem. **40**, 134 - 138 (1992).
- Horn, H.: Die Kristallisation des Bienenhonigs. Teile 1 bis 4; 1991: Hefte **11**, 323 - 326 und **12**, 361 - 363; (1992): Hefte 1, 9 - 13 und 2, 44 - 48 (1991-2).
- Moore, P.D., Webb, J.A. and Collinson, M.E.: Pollen analysis. Blackwell Scientific Publications (1991).
- Von Der Ohe, W., Dustman, J. und Von der Ohe, K.: Prolin als Kriterium der Reife des Honigs, Dtsch. Lebensm.-Rundsch. **87**, 383-386 (1991).
- Bogdanov, S. und Kilchenmann, V.: Zink- und Aluminiumrückstände aus Varroagittern. Schweiz. Bienenztg. **114**, 197 - 199 (1991).
- Swallow, K. and Low, N.: Analysis and Quantitation of the carbohydrates in honey using HPLC. J. Agric. Food Chem. **38**, 1828 - 1832 (1990).
- Häusler, M. und Montag, A.: Minorbestandteile des Honigs mit Aromarelevanz. Dtsch. Lebensm.-Rundsch. **86**, 171 - 174 (1990).
- Love, J.L.: Toxic honey - a New Zealand story. Anal. Proc. **27**, 87 - 89 (1990).



- Bogdanov, S., Imdorf, A., Kilchenmann, V. und Gerig, L.:* Rückstände von Fluvalinat in Bienenwachs, Futter und Honig. Schweiz. Bienenztg. **113**, 130 - 134 sowie **113**, 250 - 254 (Rückstände von Folbex in Wachs, Futter und Honig) (1990).
- White, J. and Winters, K.:* Honey protein as internal standard for stable carbon isotope detection of adulteration of honey; J. Assoc. Off. Anal. Chem. **72**, 907 - 911 (1989).
- Bogdanov, S. und Baumann, E.:* Bestimmung von Honigzuckern mit HPLC. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **79**, 198 - 206 (1988).
- Bogdanov, B. und Lehnher, B.:* Honig kann fein umkristallisieren und cremig gemacht werden. Schweizerische Bienen-Zeitung **111**, 300 - 303 (1988).
- Lipp, J., Ziegler, H. and Conrady, E.:* Detection of high fructose- and other syrups in honey using high-pressure liquid chromatography; Z. Lebensm.-Unters. Forsch. **187**, 334 - 338 (1988).
- Lampe, K.F.:* Rhododendrons, mountain laurel and mad honey. JAMA **259**, 2009 (1988).
- Bogdanov, S.:* Bienenvolk und Schadstoffbelastung. Schweiz. Bienenztg. **111**, 571 - 575 (1988).
- Bogdanov, S.:* Honigkristallisation und Honigqualität. Schweizerische Bienen-Zeitung **110**, 84 - 92 (1987).
- Bogdanov, S., Rieder, K. und Rüegg, M.:* Neue Qualitätskriterien bei Honiguntersuchungen, Apidologie, **18**, 267 - 278 (1987).
- Mateo, R., Bosch, F., Pastor, A. and Jimenez, M.:* Capillar column gas chromatographic identification of sugars in honey as trimethylsilyl derivatives. J. Chromatogr. **410**, 319 - 328 (1987).
- Schley, P. und Schultz, B.:* Die Kristallisation des Bienenhonigs, Die Biene Nr.1, 5 - 10, Nr.2, 46 - 50, Nr.3, 114 - 118, Nr.4, 186 - 187, Nr. 5, 245-247 (1987).
- Accorti, M., Oddo, L.P., Piazza, M.G. e Sabatini, A.G.:* Schede di caratterizzazione delle principali qualità di miele Italiano. Apicoltura (appendice a) Nr. 2 (1986).
- Bogdanov, S.:* Honigsensorik und Honigdegustation. Schweizerische-Bienenzeitung **109**, 453 - 457 (1986).
- Gonnet, M. et Vache, G.:* Le goût du miel. Edition U.N.A.F. Paris (1985).
- Talpay, B.:* Spezifikationen für Trachtenhonige. Deutsch. Lebensm.-Rundsch. **81**, 148 - 151 (1985).
- Culvenor, C.C.J.:* Patterson's curse and toxic alkaloids. Search. Australia **16**, 219 - 223 (1985).
- Deifel, A., Gierschner, K. und Vorwohl, G.:* Saccharose im Honig: Saccharose und deren Transglykosidierungsprodukte in natürlichen und Zuckerfütterungshonigen; Dtsch. Lebensm.- Rundsch. **81**, 356 - 362 (1985).
- Bogdanov, S., Zimmerli, B. und Erard, M.:* Schwermetalle in Honig. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **77**, 153 - 158 (1985).
- Daharu, P. and Sporns, P.:* Residue levels and sensory evaluation of bee repellent phenol found in honey. Can. Inst. Food Sci. Technol. **18**, 63 - 66 (1985).

- Sabatini, A.G., Nanetti, A., Maurizi, M. e Lercker, G.:* Studio dell'origine botanica dei mieli attraverso il profilo gaschromatographico dei componenti neutri. *Rivista di merceologia* **23**, 71 - 81 (1984).
- Bogdanov, S.:* Honigdiastase; Gegenüberstellung verschiedener Bestimmungsmethoden, *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* **75**, 214 - 320 (1984).
- Bogdanov, S.:* Characterization of Antibacterial Substances in Honey, *Lebensm. Wiss. u. Technol.* **17**, 74 - 76 (1984).
- Crane, E., Walker, P. and Day, R.:* Directory of important world honey sources. Verlag International Bee Research Association, London (1984).
- Kalnins, M. and Detroy, B.:* Effect of Wood preservative treatment of beehives and hive products. *J. Agric. Food Chem.* **32**, 1176 - 1180 (1984).
- Maga, J.:* Honey flavour, *Lebensm. Wiss. u. Technol.* **16**, 65 - 68 (1983).
- Gössinger, H., Hruby, K., Pohl, A., Davogg, S., Sutterlüthi, G. und Mathis, G.:* Vergiftungen mit andromedolotoxinhaltigem Honig. *Dtsch. med. Wschr.* **108**, 1555 - 1558 (1983).
- Bogdanov, S.:* Bestimmung von Honigprotein mit Coomassie Brilliantblau G 250, *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* **72**, 411 - 417 (1981).
- Rüegg, M. and Blanc, B.:* The water activity of honey and related solutions, *Lebensmitt. Wiss. Technol.* **14**, 1 - 6 (1981).
- Tysset, C. et Rousseau, M.:* Le probleme du microbisme et de l'hygiene des miels du commerce, *Rev. Med. vet.* **132**, 591 - 600 (1981).
- White, J.:* Natural honey toxicants. *Bee world* **62**, 23 - 28 (1981).
- Zürcher, K. und Hadorn, H.:* Vergleichende Wasserbestimmungen in Honig nach Karl Fischer, aus Dichte, refraktometrisch und gravimetrisch. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* **71**, 396 - 403 (1980).
- Fleming, R. und Stojanovic, V.:* Untersuchungen von Bienenhonig auf Clostridium botulinum-Sporen, *Arch. Lebensm. Hyg.* **31**, 179 - 180 (1980).
- Hartgen, H.:* Untersuchungen von Honigproben auf Botulinustoxin, *Arch. Lebensm. Hyg.* **31**, 177 - 178 (1980).
- Morse, R. and Lisk, D.J.:* Elemental analysis of honeys from several nations, *Am. Bee J.* Nr. 7, 522 - 523 (1980).
- White, J. and Siciliano, J.:* Hydroxymethylfurfural and honey adulteration; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **63**, 7 - 10 (1980).
- Arnon, S., Midura, T., Damus, K., Thompson, B., Wood, R. and Chin, J.:* Honey and other enviromental risk factors for infant botulinism, *J. of Pediatrics* **94**, 331 - 336 (1979).
- Gauch, R., Leuenberger, U. and Baumgartner, E.:* Quantitative determination of mono-, di- and trisaccharides by thin-layer chromatography. *J. Chromatogr.* **174**, 195 - 200 (1979).
- Doner, L., White, J. and Philips, J.:* Gas-liquid chromatographic test for honey adulteration by high fructose corn syrup; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **62**, 186 - 189 (1979).

- Kushnir, I.*: Sensitive thin layer chromatographic detection of high fructose corn syrup and other adulterants in honey; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **62**, 917 - 920 (1979).
- White, J. and Rudyi, O.*: The protein content of honey, *J.apic.res.* **17**, 234 - 238 (1978).
- Bosi, G. and Battaglini, M.*: Gas chromatographic analysis of free and protein amino acids in some unifloral honeys, *J. apic. res.* **17**, 152 - 166 (1978).
- Louveaux, J., Maurizio, A. und Vorwohl, G.*: Internationale Kommission für Bienenbotanik der IUBS: Methods of Melissopalynology. *Bee World* **59**, 139 - 157 (1978).
- Sugiyama, H., Mills, D. and Kuo, K.*: Number of Clostridium botulinum Spores in Honey, *J. Food Protection* **41**, 848 - 850 (1978).
- Wellford, T., Eadie, T. and Liewellyn, G.*: Evaluation the Inhibitory action of Honey on Fungal Growth, Sporulation and Aflatoxin Production; *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **166**, 280 - 283 (1978).
- White, J. and Doner, L.*: Mass spectrometric detection of high fructose corn syrup in honey by use of <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C ratio; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **61**, 746 - 750 (1978).
- Doner, L.*: Sugar of honey. A review. *J. Sci. Fd. Agric.* **28**, 443 - 456 (1977).
- Journal Officiel*: Methodes officielles d'analyses du miel. Textes d'intérêt général No 77 - 79. Imprimerie des Journaux officiels, Paris (1977).
- Siegenthaler, U.*: Eine einfache und rasche Methode zur Bestimmung der Invertase im Honig, *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* **68**, 251 - 258 (1977).
- Davies, A.*: Amino acid analysis of honeys from eleven countries. *J. Apicultural research* **14**, 29 - 39 (1975).
- White, J.*: in "Honey"; Ed. E. Crane: Physical Characteristics of Honey. Heinemann, London (1975).
- Echigo, T.E. and Takenaka, T.*: Production of organic acids in honey by honeybees. *J. of the Agr. Chem. Soc. of Japan (japanisch)* **48**, 225 - 230 (1974).
- Hadorn, H. und Zürcher, K.*: Eine einfache kinetische Methode zur Bestimmung der Diastasezahl im Honig. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* **68**, 209 - 216 (1972).
- Bergner, K.G. und Hahn, H.J.*: Zum Vorkommen und zur Herkunft der freien Aminosäuren in Honig, *Apidologie* **3**, 5 - 34 (1972).
- Siddiqui, I.*: The sugars of honey. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry* **25**, 285 - 309 (1970).
- Petrov, V.*: Mineral constituents of some australian honeys as determined by atomic absorption. *J. Apic.Res.* **9**, 95 - 101 (1970).
- Louveaux, J., Maurizio, A. und Vorwohl, G.*: Internationale Kommission für Bienenbotanik der IUBS: Methodik der Melissopalynologie. *Apidologie* **1**, 193 - 209 (1970).
- Louveaux, J.*: Annexes Microphotographiques, Tome III. Atlas Photographique d'Analyse Pollinique des Miels. Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité (1970).
- Duisberg, H. und Hadorn, H.*: Welche Anforderungen sind an Handelshonige zu stellen. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* **57**, 386 - 407 (1966).

*Gonnet, M., Lavie, P. et Louveaux, J.:* La pasteurisation des miels. Ann. Abeilles **7**, 81 - 102 (1964).

*White, J., Kushnir, I. and Subers, M.:* Effect of storage and processing temperatures on honey quality. Food Technology **18**, 153 - 156 (1964).

*White, J., Subers, M. and Schepartz, A.:* The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose oxidase system; Biochim. Biophys. Acta **73**, 57 - 70 (1963).

*Hadorn, H. und Zürcher, K.:* Formolzahl von Honig. Gleichzeitige Bestimmung von Formolzahl, pH, freie Säure und Lactongehalt in Honig. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **54**, 304 - 321 (1963).

*Hadorn, H., Zürcher, K. und Doevelaar, F.:* Über Wärme- und Lagerschädigungen von Bienenhonig, Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **53**, 191 - 229 (1962).

*White, J.:* Composition of American honeys. Techn. Bull. No 1261. US Department of Agriculture (1962).

*Hadorn, H.:* Zur Problematik der quantitativen Diastasebestimmung in Honig. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **52**, 67 - 103 (1961).

*Erdtman, G.:* An introduction to pollen analysis. Chronica Botanica Company. Waltham, Mass. (1954).

*Kiermeier, F. und Köberlein, W.:* Über die Hitzeinaktivierung von Enzymen in Honig. Z. Lebensm.-Unters. Forsch. **98**, 329 - 347 (1954).

*Stephen, W.:* The relationship of moisture content and yeast count in honey fermentation. Scientific Agriculture **26**, 258 - 264 (1946).

*Zander, E.:* Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig. I. Pollengestaltung und Herkunftsbestimmung bei Blütenhonig. Verlag der Reichsfachgruppe Imkerei e.V., Berlin (1935).

## Spezialvorschriften

### PROBENAHMEN

Aus Fässern und Eimern, deren Inhalt nicht gemischt werden kann, müssen an verschiedenen Stellen Probenaliquote mit einem geeigneten Probenstecher entnommen werden. Die so gezogenen Probenaliquote werden in einem Gefäß durch intensives Rühren homogen zu einer Probe vermischt.

### PROBENVORBEREITUNG

Honige, die sich in einen flüssigen und einen festen Anteil getrennt haben, müssen vor der Entnahme für die Untersuchung gründlich homogenisiert werden.

Grobe Verunreinigungen müssen vor der Entnahme ohne Erwärmen für die weitere Untersuchung entfernt werden.

Wabenhonig: Falls die Wabenzellen noch verschlossen sind, werden sie zuerst abgedeckelt. Danach wird der Honig, wenn immer möglich ohne Aufwärmen, mit Hilfe eines Siebes (Maschenweite  $\geq 0,5$  mm) von den Waben getrennt. Ist der Honig in den Waben auskristallisiert, kann er kurzzeitig bei max. 40 °C erwärmt werden.

### HINWEIS

Die Probenvorbereitung soll wenn möglich ohne Aufwärmen erfolgen, damit der Honig nicht geschädigt wird (siehe Abschnitt 2, "Lager- und Wärmeschädigungen").

## Untersuchungsmethoden

### 1 Sinnenprüfung

Der Honig wird geprüft auf Aussehen (Farbe, Trübstoffe, Konsistenz), Geruch und Geschmack. Die Farbe des Honigs variiert von nahezu farblos über gelb, gelbbraun bis grau-, grün- oder braunschwarz.

Die Konsistenz kann dünnflüssig, zähflüssig, teilweise oder ganz kandierte sein, je nach Art des Honigs und der Lagerung.

Das Honigaroma kann stark verschieden sein. Gewisse Honige haben schwaches Aroma und schmecken rein süß (Alpenrosenhonig, KleeHonige). Andere Honige besitzen das mehr oder weniger typische Aroma der Trachtpflanzen (Lindenhonige, Edelkastanienhonige). Honige aus subtropischen Gebieten fallen oft durch ein aufdringliches, parfümartiges, betäubendes Aroma auf.

Artfremder Geruch oder Geschmack sind zu beanstanden.

Auffallende Farbe, mangelndes oder auffälliges Aroma sind allein kein Grund zur Beanstandung. Erst die chemische und mikroskopische Untersuchung ermöglichen es, einen Honig richtig zu beurteilen.

## 2 Bestimmung des Wassergehaltes

refraktometrisch

### PRINZIP

Es wird der Brechungsindex des homogenen, gegebenenfalls verflüssigten Honigs bei 20 °C bestimmt und mit Hilfe einer Tabelle der zum jeweiligen Brechungsindex gehörende Wassergehalt in g/100 g ermittelt.

### GERÄTE

- Stehkolben mit Stopfen (ca. 50 ml) oder Gläser mit Schraub- oder Schliffdeckel, bzw. Stopfen.
- Wärmeschrank, einstellbar auf  $50 \pm 2$  °C.
- Abbé-Refraktometer, ausgestattet mit Thermostat oder mit Thermometer zum Messen bei  $20 \pm 0,5$  °C, geeignet zum Ablesen des Refraktometerwertes auf die 4. Stelle nach dem Komma oder digitaler Refraktometer.

### AUSFÜHRUNG

#### *Verflüssigen des Honigs*

Kandierte Honig vor der Bestimmung verflüssigen:

- Eine gut durchmischte Probe in einem dicht verschlossenen Glas im Trockenschrank bei 50 °C stehen lassen, bis sich der Honig verflüssigt hat
- vor dem Öffnen des Glases auf Raumtemperatur abkühlen lassen (je nach Grösse des Gefässes 1 - 2 Tage)
- vor der Bestimmung die Probe mit Hilfe eines Spatels oder Glasstabes nochmals gut durchmischen.

#### *Messung des Brechungsindex*

Mit einem Glasstab einen Tropfen des völlig verflüssigten oder durch intensives Rühren gut homogenisierten flüssigen Honigs rasch auf das Prisma des Refraktometers bringen.

### BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

Der zum erhaltenen Brechungsindex zugehörige Wassergehalt wird aus *Tabelle 23A.12* abgelesen und auf 0,1 g/100 g gerundet angegeben.

Liegt die Messtemperatur über 20 °C, sind pro °C je 0,00023 Indexeinheiten zum Brechungsindex hinzuzurechnen.

Liegt die Messtemperatur unter 20 °C, sind pro °C je 0,00023 Indexeinheiten vom Brechungsindex abzuziehen.

Liegt der ermittelte Brechungsindex zwischen den Werten der Tabelle, ist der Wassergehalt durch Interpolation zu ermitteln.

Genauigkeit der Resultate: Siehe DIN-Norm 10752.

*Tabelle 23A.12*

*Ablesung des Wassergehaltes des Honigs aus dem Brechungsindex bei 20°C*

Refrakto- Meterwert	Wasser- gehalt g/100 g	Refrakto- meterwert	Wasser- gehalt g/100 g	Refrakto- meterwert	Wasser- gehalt g/100 g
1,5044	13,0	1,4935	17,2	1,4830	21,4
1,5038	13,2	1,4930	17,4	1,4825	21,6
1,5033	13,4	1,4925	17,6	1,4820	21,8
1,5028	13,6	1,4920	17,8	1,4815	22,0
1,5023	13,8	1,4915	18,0	1,4810	22,2
1,5018	14,0	1,4910	18,2	1,4805	22,4
1,5012	14,2	1,4905	18,4	1,4800	22,6
1,5007	14,4	1,4900	18,6	1,4795	22,8
1,5002	14,6	1,4895	18,8	1,4790	23,0
1,4997	14,8	1,4890	19,0	1,4785	23,2
1,4992	15,0	1,4885	19,2	1,4780	23,4
1,4987	15,2	1,4880	19,4	1,4775	23,6
1,4982	15,4	1,4875	19,6	1,4770	23,8
1,4976	15,6	1,4870	19,8	1,4765	24,0
1,4971	15,8	1,4865	20,0	1,4760	24,2
1,4966	16,0	1,4860	20,2	1,4755	24,4
1,4961	16,2	1,4855	20,4	1,4750	24,6
1,4956	16,4	1,4850	20,6	1,4745	24,8
1,4951	16,6	1,4845	20,8	1,4740	25,0
1,4946	16,8	1,4840	21,0		
1,4940	17,0	1,4835	21,2		

Präzision. Ein unter der Leitung der Subkommission 7 nach Kapitel 60B "Ringversuche" des SLMB (Methodenprüfung) mit 19 schweizerischen Teilnehmerlaboratorien an 4 verschiedenen Honigproben mit je 3facher Bestimmung durchgeführter Ringversuch ergab folgende Werte:



Honigart	Mittelwerte (m) g/100 g	Wiederhol- barkeit (r)	Vergleich- barkeit (R)
Akazienhonig, Schweiz	16,4	0,13	0,48
Blütenhonig	17,3	0,15	0,52
Wildblütenhonig	18,1	0,15	0,68
Yucatanhonig, Mexiko	20,0	0,11	0,68

Die Einzelresultate sowie die Zusammenstellung der gesamten Auswertung sind in der Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Sektionen Bienen, einzusehen (unveröffentlichte Arbeit von *Bogdanov, S.*<sup>4</sup> und *Lischer, P.*<sup>5</sup>: Inter laboratory trials; Diastase activity; Phadebas and Schade methods; Saccharose activity by Siegenthaler and water content by refractometry 1993).

#### LITERATUR

*Codex Alimentarius Commission*: Revised Codex Standards for Sugars and Honey; CX 5/10.2; CL (1993)/14-SH; Via delle Terme di Caracalla, Rome (1993).

*DIN Norm 10752* (Entwurf 1990): Bestimmung des Wassergehaltes von Honig.

*Zürcher K. und Hadorn H.*: Vergleichende Wasserbestimmungen in Honig nach Karl Fischer, aus Dichte, refraktometrisch und gravimetrisch. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **71**, 396 - 403 (1980).

*Grossfeld J.*: Anleitung zur Untersuchung der Lebensmittel. Springer Verlag, Berlin (1927), S. 231 und 356.

*Auerbach F. und Borries G.*: Die Bestimmung der Trockenmasse echter Honige. Z. für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel sowie der Gebrauchsgegenstände (ab 1943: Z. für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung). **48**, 272 - 277 (1924).

*Bogdanov S., Martin P.; Lüllmann C.*, Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie, extra issue, 1-59 (1997).

<sup>4</sup> Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, 3097 Liebefeld

<sup>5</sup> Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, 3097 Liebefeld

### 3 **Bestimmung des *pH*-Wertes und des Gehaltes an freier Säure** potentiometrisch

#### PRINZIP

Die in Wasser gelöste Probe wird potentiometrisch mit Natronlauge auf den *pH*-Wert von 8,3 titriert, wobei aus der hierfür verbrauchten Menge Lauge die entsprechende Menge an freier Säure berechnet wird.

#### REAGENZIEN

- Natriumhydroxid-Lösung 0,1 mol/l.

#### GERÄTE

- *pH*-Messgerät.

#### AUSFÜHRUNG

- 10,0 g Honig in ein Becherglas einwiegen und in 75 ml Wasser unter Rühren mit dem Magnetrührer lösen.
- Nach Eintauchen der Elektrode den *pH*-Wert ablesen und anschliessend unter ständigem Rühren (Magnetrührer) mit der Natronlauge bis zum *pH*-Wert von 8,3 titrieren. Dafür sollen nicht mehr als 60 Sekunden gebraucht werden.

#### BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

$$\text{Freie Säure, in meq/kg} = \frac{100 \cdot a}{E}$$

wobei

a = zur Titration verbrauchte Menge Natronlauge 0,1 mol/l, in ml

E = Einwaage, in g.

Angabe in meq/kg, mit 1 Dezimalen (1 meq/kg = 1 Milliäquivalent/kg = 1 mval/kg).

Präzision. Die Wiederholbarkeit ( $r$ ) und die Vergleichbarkeit ( $R$ ) wurden im Rahmen der DIN-Norm 10756 nach ISO 5725 berechnet und entsprechen den in folgender Tabelle dargelegten Werten:

Proben	M	R	$S_r$	R	$S_R$
Waldhonig	24,66	0,63	0,22	1,86	0,66
Akazienhonig	13,05	0,55	0,20	1,95	0,69
Yucatanhonig	26,41	0,51	0,18	2,54	0,90

Alle Angaben in meq/kg (mval/kg).

#### LITERATUR

*Official Methods of Analysis AOAC: Free Acidity of Honey.* 16. Ausgabe: 44.4.20 (1995).

*DIN Norm 10756 (1995): Bestimmung des Gehaltes an freier Säure.*

*Codex Alimentarius Commission: Revised Codex Standards for Sugars and Honey; CX 5/10.2; CL (1993)/14-SH; Via delle Terme di Caracalla, Rome (1993).*

**4 Bestimmung des Aschegehaltes**

aufgehoben

**5 Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit**

elektrometrisch

## PRINZIP

Die elektrische Leitfähigkeit einer definierten wässrigen Honiglösung wird mit einem Leitfähigkeitsmessgerät gemessen.

## GERÄTE

- Leitfähigkeitsmessgerät, Messbereich bis mindestens  $10^{-7}$  Siemens (S)
- Leitfähigkeits- bzw. Durchlaufmesszelle mit Platindoppelelektroden, temperierbar.
- Thermometer, Skalenteilungswert 0,1 °C.
- Wasserbad mit Thermostat für 20 °C, regelbar auf  $\pm 0,5$  °C.

## AUSFÜHRUNG

*Probenvorbehandlung*

- Eine genau 20,0 g Honigtrockenmasse (Methode 23A/2) entsprechende Menge Honig in frisch destilliertem Wasser lösen
- quantitativ in einen 100-ml-Messkolben überführen und mit frisch destilliertem Wasser zur Marke auffüllen.

*Messen*

- 40 ml dieser Messlösung in ein Becherglas überführen und bei 20 °C thermostatisieren
- mit dem Rest der Lösung sorgfältig die Leitfähigkeitselektrode spülen  
die Elektrode in die Lösung eintauchen und nach dem Temperatenausgleich die Leitfähigkeit der Messlösung in (S) ablesen.

*Bemerkung*

Die Mehrzahl der Messgeräte arbeitet mit Gleichspannung als Messspannung. Zur Vermeidung der Verfälschung der Messergebnisse durch Polarisationserscheinungen sollte der Messvorgang so kurz wie möglich sein.

## BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

$$L = K \cdot S$$

wobei

L = Elektrische Leitfähigkeit der Honiglösung in  $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$

K = Messzellenkonstante in  $\text{cm}^{-1}$

S = gemessener Leitwert in Millisiemens (mS).

Angabe in  $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ , mit 2 Dezimalen.

## PRÄZISION

Die Wiederholbarkeit (r) und die Vergleichbarkeit (R) wurden aus Ringversuchen erhalten. Diese wurden vom deutschen Institut für Normung nach DIN-Norm 10753 durchgeführt. Es wurden dabei folgende Werte (in  $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) erhalten:

Probe	Mittelwerte (m)	Wiederholbarkeit (r)	Wiederholstandard- Abweichung (S <sub>r</sub> )	Vergleichbarkeit (R)	Vergleichsstandard- Abweichung (S <sub>R</sub> )
A	1,5203	0,0296	0,0105	0,1220	0,0431
B	0,4486	0,0048	0,0017	0,0453	0,0160
C	0,2329	0,0025	0,0009	0,0233	0,0082

## LITERATUR

*DIN-Norm 10753* (Entwurf 1994).

Arrêté du 15 février 1977 relatif aux méthodes officielles d'analyse du miel. Journal officiel de la République française (1977-04-22).

*Vorwohl G.*: Messung der elektrischen Leitfähigkeit des Honigs und der Verwendung der Messwerte zur Sortendiagnose und zum Nachweis von Verfälschungen mit Zuckerfütterungshonig. Zeitschr. Bienenforsch. **7**, 37 - 47 (1964).

*Vorwohl G.*: Die Beziehungen zwischen der elektrischen Leitfähigkeit der Honige und ihrer trachtmässigen Herkunft. Ann. Abeille **7** (4), 301 - 309 (1964).

*Bogdanov S., Martin P., Lüllmann C.*, Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie, extra issue, 1-59 (1997)

## 6 Diastase ( $\alpha$ -Amylase)

### 6.1 Bestimmung der Diastaseaktivität

Phadebas-Methode, modifiziert

#### PRINZIP

Als Substrat für die Bestimmung der Diastasezahl im Honig wird ein blau gefärbtes, durch Quervernetzung wasserunlöslich gemachtes Stärkopolymer eingesetzt. Dieses wird durch das Enzym zu wasserlöslichen blauen Fragmenten hydrolysiert, deren Farbintensität bei 620 nm gemessen wird. Die Extinktion der blauen Lösung ist direkt von der Aktivität der Diastase in der Probe abhängig.

#### REAGENZIEN

- Phadebas-Tabletten: Pharmacia Biotech AG, Dübendorf.
- Essigsäure 100 % (Eisessig).
- Natriumhydroxid-Lösung. 0,5 mol/l.
- Natriumacetat-Trihydrat.
- Acetatpuffer-Lösung (0,1 mol/l; *pH* 5,2): 13,61 g  $\text{Na}(\text{CH}_3\text{COO})\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  in Wasser lösen, mit Essigsäure 100 % (ca. 1 bis 2 ml) den *pH*-Wert auf 5,2 einstellen und mit Wasser zu 1000 ml auffüllen.

#### GERÄTE

- Photometer, Wellenlänge 620 nm.
- Vibrator, z. B. Vortex.
- Pipetten: Wird ohne mechanische Hilfsmittel pipettiert, müssen die Pipetten oben mit einem Wattepfropfen versehen werden, um zu verhindern, dass Spuren von Speichel in die Lösungen gelangen.
- Wasserbad mit Thermostat ( $40,0 \pm 0,5$  °C).
- *pH*-Meter.

#### AUSFÜHRUNG

- 1,00 g Honig in ein kleines Becherglas einwiegen, mit Acetatpufferlösung lösen, quantitativ in einen 100-ml-Messkolben überspülen, mit Acetatpufferlösung zur Marke auffüllen und innerhalb 1 Stunde die im Folgenden beschriebene Reaktion durchführen

- 5 ml dieser Lösung in ein Reagenzglas überführen (nicht mit dem Mund pipettieren) und dieses darauf während 5 Minuten bei 40 °C halten (Probelösung)
- gleichzeitig 5 ml Acetatpufferlösung unter denselben Bedingungen als Blindprobe ansetzen (1 Blindprobe pro Serie)
- beiden Lösungen (Probe- und Blindlösung) mit Hilfe einer Pinzette je eine Phadebas-Tablette zugeben und gleichzeitig die Stoppuhr starten
- 10 Sekunden lang kräftig schütteln (Vibrator), bis die Tabletten zerfallen sind und weiter inkubieren lassen
- nach genau 15 Minuten (Stoppuhr) die Reaktion durch Zufügen von 1 ml Natriumhydroxidlösung 0,5 mol/l stoppen, erneut 5 Sekunden auf Vibrator schütteln
- die Reaktionsgemische sofort durch ein Faltenfilter filtrieren und anschliessend die Extinktionen der Filtrate in 1-cm-Küvetten bei 620 nm messen. Die Extinktion der Blindprobe von derjenigen der Probelösung abziehen (=  $\Delta E_{620}$ ).

#### BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

##### *Berechnung der Diastasezahl (DZ) in Schade Einheiten:*

Die Diastasezahl gibt an, wieviele g Stärke von den in 100 g Honig enthaltenen Enzymen in 1 Stunde unter Versuchsbedingungen (siehe Schade [1958]) bis zum vorgeschriebenen Endpunkt abgebaut werden. Im Vergleich der Phadebas-Methode mit der Berechnung der DZ nach Schade (Methode 23A/6.2) ergibt sich folgende Beziehung:

$$DZ = 28,2 \cdot \Delta E_{620} + 2,64$$

Die Faktoren 28,2 und 2,64 sind die Steigung bzw. der Schnittpunkt auf der Ordinate (Achsenabschnitt) der linearen Regression zwischen der Amylasezahl als y und  $\Delta E_{620}$  als x, bestimmt bei 57 Honigproben (Korrelationskoeffizient = 0,987).

Angabe, mit 1 Dezimalen.

Bei niedrigen Diastasezahlen (0 bis 6) gilt eine andere Beziehung (Persano, Pulcini, 1999)  
 $DZ = 35,2 \cdot \Delta E_{620} - 0,46$

Präzision. Ein unter der Leitung der SK 7 nach Kapitel 60B SLMB (Methodenprüfung) mit 35 Teilnehmerlaboratorien (11 aus EU-Ländern; 24 aus der Schweiz) an 9 verschiedenen Honigproben (je 3fache Bestimmung) durchgeführter Ringversuch ergab bei 620 nm in einem Extinktionsbereich von ca. 0,2 bis 1,3 folgende Werte:

$$\text{Wiederholbarkeit (r)} = 0,0325 \cdot E_{620} + 0,02$$

$$\text{Vergleichbarkeit (R)} = 0,316 \cdot E_{620} + 0,04$$



Die Einzelresultate sowie die Zusammenstellung der gesamten Auswertung sind in der Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Sektion Bienen, 3097 Liebefeld einzusehen (unveröffentlichte Arbeit von S. *Bogdanov*<sup>6</sup> und P. *Lischer*<sup>7</sup>: Inter laboratory trials; Diastase activity; Phadebas and Schade methods; Invertase activity by Siegenthaler and water content by refractometry 1993).

#### LITERATUR

*Bogdanov S.*: Honigdiastase: Gegenüberstellung verschiedener Bestimmungsmethoden. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **75**, 214 - 220 (1984).

*Siegenthaler U.*: Bestimmung der  $\alpha$ -Amylase im Bienenhonig mit einem handelsüblichen, farbmarkierten Substrat. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **66**, 393 - 399 (1975).

*Bogdanov S., Martin P.; Lüllmann C.*, Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie, extra issue, 1-59 (1997)

*L. Persano Oddo, P. Pulcini*; A scientific note on the Phadebas method for honeys with low enzyme content, Apidologie 30, 347-348 (1999)

---

<sup>6</sup> Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, 3097 Liebefeld

<sup>7</sup> Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, 3097 Liebefeld

## 6.2 Bestimmung der Diastaseaktivität

nach Schade

### DEFINITION

Unter der Diastaseaktivität von Honig wird die nach dem hier beschriebenen Verfahren ermittelte Reaktionszeit verstanden, in der von einer definierten Menge Honig eine definierte Menge an Stärke bis zu einem vorgegebenen Endpunkt abgebaut wird. Die Diastaseaktivität wird als Diastasezahl (DZ) angegeben. Einer Diastasezahleinheit entspricht unter den Bedingungen dieses Verfahrens die Enzymaktivität in 1 g Honig, welche eine definierte Stärkemenge von 0,01 g mit einem bestimmten Blauwert in 1 Stunde bei 40 °C zu einem vorgegebenen Extinktions-Endwert abzubauen vermag.

### PRINZIP

Definierte Volumina an Stärke- und Probenlösung werden in einem geeigneten Reaktionsgefäß mit seitlichem Schenkel voneinander getrennt auf 40 °C erwärmt und darauf im Hauptkolben des Reaktionsgefäßes miteinander vermischt. Dem Reaktionsgemisch werden von Zeit zu Zeit Proben entnommen und mit Iodlösung versetzt. Der Stärkeabbau wird photometrisch verfolgt. Aus der mit Hilfe der Zeit-Messwert-Paare festgelegten Reaktionskurve wird die Zeit abgelesen, die bis zum Erreichen der vorgegebenen, dem Abbau von 1 g Stärke entsprechenden Extinktion vergangen ist.

### REAGENZIEN

- Natriumacetat-Trihydrat.
- Natriumchlorid-Lösung: 2,9 g NaCl in Wasser lösen und auf 100 ml auffüllen.
- Essigsäure 100 % (Eisessig).
- Acetatpuffer-Lösung (pH 5,3): 43,5 g  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  in Wasser lösen, mit ca. 5 ml Essigsäure, 100 % auf pH 5,3 einstellen und mit Wasser auf 250 ml auffüllen.
- Stärke-Lösung

#### *Bestimmung der Trockenmasse der Stärke:*

- Ca. 2 g der lufttrockenen löslichen Stärke auf dem Boden eines vorgetrockneten und tarierten niedrigen Wäageglases mit Deckel ( $\varnothing$  ca. 5 cm; Höhe = 3 cm) gleichmässig in dünner Schicht verteilen
- auf 0,1 mg wägen und 90 Minuten bei 130 °C trocknen
- das mit dem Deckel verschlossene Wäageglas zum Abkühlen ca. 1 Stunde in den Exsikkator stellen und anschliessend auf 0,1 mg genau wägen.

### Herstellung der Stärkelösung

- Die einer Trockenmasse von 2,000 g entsprechende Menge Stärke in einen 250-ml-Erlenmeyerkolben einwiegen
- mit 90 ml Wasser versetzen und unter Schwenken mischen
- die dabei erhaltene Suspension unter ständigem Schwenken des Kolbens schnell zum Sieden erhitzen und insgesamt 3 Minuten am Sieden erhalten
- anschliessend die heisse Lösung sofort in einen 100-ml-Messkolben überführen
- unter fliessendem Wasser rasch auf Raumtemperatur abkühlen, mit Wasser zur Marke auffüllen und gründlich mischen.

### Bemerkungen

Die Lösung ist am Tage der Verwendung frisch herzustellen.

Für die Stärkelösung sind nur lösliche Stärken zu verwenden, die bei dem unter "Ausführung", Abschnitt "Kalibrierung der Reaktionsmischung" beschriebenen Kalibrierungsverfahren eine klare, rein blaue Lösung der im Photometer festgelegten Extinktionen liefern.

- Iod, doppelt sublimiert, z. B. Merck Nr. 4761.
- Kaliumiodid.
- Iod-Stammlösung: 11,0 g doppelt sublimiertes Iod und 22,0 g Kaliumiodid in 30 bis 40 ml Wasser lösen und auf 500 ml auffüllen. Die Stammlösung ist bei Aufbewahrung in einer verschlossenen, dunklen Flasche ca. 1 Jahr haltbar.
- Iod-Lösung, verdünnt: 20,0 g Kaliumiodid in Wasser lösen und nach Zugabe von 2 ml Stammlösung mit Wasser auf 500 ml auffüllen. Diese verdünnte Iodlösung ist am Tage der Verwendung frisch herzustellen und vor übermässigem Luftzutritt durch sofortiges Verschliessen des Vorratsbehältnisses nach Entnahme der benötigten Mengen zu schützen.

### GERÄTE

Alle für diese Bestimmung verwendeten Geräte müssen frei von Detergentien sein!

- Wasserbad mit Thermostat ( $40,0 \pm 0,5$  °C).
- Küvetten, Schichtdicke 1 cm.
- Spektro- oder Filterphotometer mit Schmalband-Interferenzfilter zur Messung bei 660 nm.
- Stoppuhr.
- pH-Meter.
- Reaktionsgefäss aus Glas, siehe Abb. 23A.1

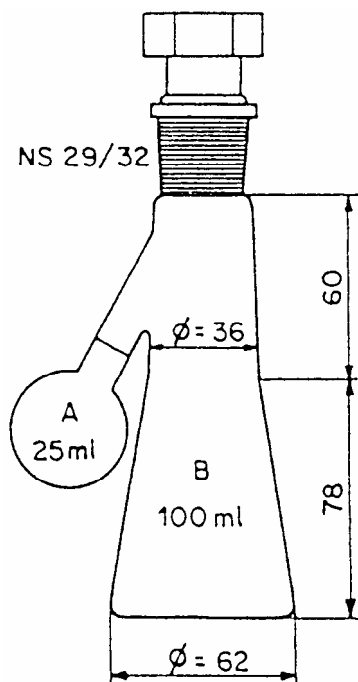


Abb. 23A.1  
Reaktionsgefäß mit Seitenarm (Masse in mm)

#### AUSFÜHRUNG

- 10,0 g Honig in ein Becherglas einwiegen und ohne Erwärmen in ca. 15 ml Wasser und 5 ml Acetatpufferlösung vollständig lösen
- diese Lösung anschliessend quantitativ in einen 3 ml Natriumchloridlösung enthaltenden 50-ml-Messkolben überführen und mit Wasser zur Marke auffüllen (Probenlösung).

#### Bemerkungen

Die Beigabe von Natriumchloridlösung darf erst nach Lösung des Honigs in Acetatpufferlösung erfolgen, weil die Diastaseaktivität in Gegenwart von Natriumchlorid bei  $pH$ -Werten unter 4,0 sehr schnell abnimmt. Die Probenlösung ist nur wenige Stunden unverändert haltbar. Es wird daher empfohlen, diese immer unmittelbar vor der Durchführung der Bestimmung anzusetzen.

*Kalibrieren der Reaktionsmischung - Blauwert-Einstellung*

(Dabei wird geprüft, welche Wassermenge der Reaktionsmischung beigefügt werden muss, damit von der Iod-Stärkelösung im Photometer eine Extinktion im Bereich von 0,745 bis 0,770 erhalten werden kann).

- In 6 geeignete Glasgefäße (Reagenzgläser) 20; 21; 22; 23; 24 und 25 ml Wasser und je 5 ml verdünnte Iodlösung geben
- beginnend mit dem ersten Gefäß 0,5 ml eines Gemisches aus 10 ml Wasser und 5 ml Stärkelösung hinzugeben, gut durchschütteln und sofort in einer 1-cm-Küvette die Extinktion bei 660 nm gegen Wasser messen
- mit den andern Gefäßen nacheinander in gleicher Weise verfahren, bis damit im Photometer eine Extinktion von 0,770 bis 0,745 erhalten wird. Die so ermittelte Wassermenge ist die Standardverdünnung für alle mit der Stärkelösung durchgeführten Bestimmungen.

*Bemerkungen*

Die Zeit zwischen Zugabe der verdünnten Stärkelösung und der Bestimmung der Extinktion soll wegen der zeitlichen Abhängigkeit der Farbintensität sowohl bei der Kalibrierung als auch der Bestimmung der Diastaseaktivität möglichst einheitlich sein. Wird bei der ersten Verdünnungsstufe (20 ml) eine Extinktion von weniger als 0,745 oder der letzten Verdünnungsstufe (25 ml) eine höhere Extinktion als 0,770 erhalten, so ist die verwendete Stärke für die Bestimmung der Diastaseaktivität mit diesem Verfahren ungeeignet.

*Bestimmung aus Probelösung*

- 10 ml der Probenlösung in den Hauptarm B und 5 ml der Stärkelösung in den Seitenarm A des Reaktionsgefäßes pipettieren
- das Reaktionsgefäß derart in das auf  $40 \pm 0,2$  °C temperierte Wasserbad stellen, dass eine gleichmässige Erwärmung beider Lösungen sichergestellt, eine vorzeitige Vermischung jedoch ausgeschlossen ist
- nach 15 minütigem Erwärmen das Reaktionsgefäß kurzzeitig aus dem Wasserbad entnehmen und die im Seitenarm des Reaktionsgefäßes befindliche Stärkelösung durch vier- bis fünfmaliges Kippen des Reaktionsgefäßes und anschliessendes kräftiges Schütteln mit der Probenlösung vermischen bei gleichzeitiger Ingangsetzung der Stoppuhr (Reaktionszeit  $t = 0$ )
- anschliessend das Reaktionsgefäß sofort wieder ins Wasserbad zurückstellen
- in periodischen Zeitabständen (erstmal nach 5 Minuten) jeweils 0,5 ml der Reaktionsmischung entnehmen und zwecks Stoppen der Reaktion schnell zu jeweils 5 ml verdünnter Iodlösung geben

- nach Zugabe der wie unter Abschnitt "Kalibrieren der Reaktionsmischung" ermittelten Wassermenge und anschließender guter Durchmischung die Extinktion der jeweiligen Lösung (Probenmesslösung) sofort in einer 1-cm-Küvette bei 660 nm gegen Wasser messen

#### Bemerkungen

Die Zeitabstände nach der ersten Entnahme aus dem Reaktionsgefäß sind so zu bemessen, dass 3 bis 4 Messwerte im Bereich zwischen den beiden Extinktionen 0,456 und 0,155 erhalten werden.

Als angenäherte Richtwerte für die Zeitabstände zwischen den Entnahmen aus dem Reaktionsgefäß gelten:

Extinktion bei t = 5 min	Zeitabstand
E > 0,658	10 min oder länger
0,658 > E > 0,523	5 bis 10 min
0,523 > E > 0,456	2 bis 5 min

Liegt die Extinktion bei t = 5 min unter ca. 0,350 ist es empfehlenswert, die Reaktionszeit für die erstmalige Messung entsprechend zu reduzieren.

#### Blindwertkontrolle

- 10 ml Probenlösung mit 5 ml Wasser versetzen und gründlich durchmischen
- anschließend 0,5 ml davon abpipettieren und zu 5 ml verdünnter Iodlösung geben
- nach Zugabe der nach Abschnitt "Kalibrieren der Reaktionsmischung" ermittelten Wassermenge und anschließender Durchmischung die Extinktion in einer 1-cm-Küvette bei 660 nm gegen Wasser messen. Ergibt sich hierbei eine messbare Extinktion, ist dieser Blindwert von den nach Abschnitt "Bestimmung aus Probenlösung" ermittelten Messwerten abzuziehen.

#### BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

Die Diastaseaktivität berechnet sich als Diastasezahl (DZ) wie folgt:

$$DZ = \frac{300}{t_x}$$

wobei

$t_x$  = die nach folgender Erklärung ermittelte Reaktionszeit, in Minuten.

Angabe, mit 1 Dezimalen.

Die Extinktionswerte der Probenmesslösungen werden, gegebenenfalls nach Abzug der Blindwertextinktion (siehe Abschnitt "Blindwertkontrolle"), auf Millimeterpapier gegen die entsprechenden Reaktionszeiten in Minuten aufgetragen. Für die im Bereich  $E = 0,155$  bis  $0,456$  liegenden Messpunkte wird die Ausgleichsgerade gezeichnet und mit Hilfe dieser der Zeitpunkt  $t_x$  für  $E = 0,235$  ermittelt.

#### Bemerkungen

Der Massstab für die t- und E-Achse ist so zu wählen, dass die leichte Krümmung der Reaktionskurve im Bereich  $E = 0,155$  bis  $0,456$  weitgehend kompensiert wird und dass ferner eine ausreichend genaue Ablesung des Schnittpunktes der Ausgleichsgeraden mit der

$E = 0,235$  Linie möglich ist.

Anstelle der graphischen Auswertung kann die Ausgleichsgerade und der Zeitpunkt für  $E = 0,235$  durch Regressionsrechnung (lineare Regression) ermittelt werden, wobei ebenfalls nur Messpunkte im Bereich  $E = 0,155$  bis  $0,456$  zu berücksichtigen sind.

Präzision. Ein unter der Leitung der Subkommission 7 nach Kapitel 60B "Ringversuche" des SLMB (Methodenprüfung) mit 11 Laboratorien aus dem EU-Bereich an 9 verschiedenen Honigproben (je 3fache Bestimmung) durchgeführter Ringversuch ergab für den Bereich zwischen 8,7 und 37,7 Diastasezahlseinheiten folgende Werte:

Wiederholbarkeit ( $r$ ) =  $-0,7 + 0,13 \cdot DZ$

Vergleichbarkeit ( $R$ ) =  $-0,06 + 0,59 \cdot DZ$

Der relative hohe Wert von  $R$  ist sehr wahrscheinlich auf die Uneinheitlichkeit der käuflichen Stärkepräparate zurückzuführen.

Die Einzelresultate sowie die Zusammenstellung der gesamten Auswertung sind in der Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Sektion Bienen, einzusehen (unveröffentlichte Arbeit von *Bogdanov, S.*<sup>8</sup> und *Lischer, P.*<sup>9</sup>: Inter laboratory trials; Diastase activity; Phadebas and Schade methods; Saccharase activity by Siegenthaler and water content by refractometry 1993).

<sup>8</sup> Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, 3097 Liebefeld

<sup>9</sup> Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, 3097 Liebefeld

## LITERATUR

*DIN Norm 10750* (Juli 1990): Bestimmung der Diastase-Aktivität.

*Hadorn, H. und Zürcher, K.:* Eine einfache kinetische Methode zur Bestimmung der Amylasezahl in Honig. Dt. Lebensmittel Rdsch. **68**, 209 (1972).

*Hadorn, H.:* Zur Problematik der quantitativen Amylasebestimmung in Honig. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **52**, 67 - 103 (1961).

*Schade, J.E., Marsh, G.L. and Eckert, J.E.:* Amylase activity and hydroxymethylfurfural in honey and their usefulness in detecting heat adulteration. Food Research **23**, 446 - 463 (1958).

*Bogdanov S., Martin P.; Lüllmann C.,* Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie, extra issue, 1-59 (1997)



## 7 Invertase ( $\alpha$ -Glucosidase, Saccharase)

### 7.1 Bestimmung der Invertaseaktivität

photometrisch

#### PRINZIP

Als Substrat für die Bestimmung der Invertasezahl im Honig wird p-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (pNPG) verwendet. Durch die im Honig vorhandene  $\alpha$ -Glucosidase (Invertase) wird pNPG in Glucose und p-Nitrophenol aufgespalten. Durch Einstellen des *pH*-Wertes auf 9,5 wird einerseits die enzymatische Reaktion gestoppt und andererseits das Nitrophenol in das Nitrophenolat-Anion überführt, welches der umgesetzten Menge Substrat entspricht und photometrisch bei 400 nm bestimmt wird.

#### REAGENZIEN

- Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan.
- Kaliumdihydrogenphosphat,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
- Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- p-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (pNPG).
- Puffer-Lösung(0,1 mol/l; *pH* = 6,0): 11,66 g Kaliumdihydrogenphosphat und 2,56 g Dinatriumhydrogenphosphat mit Wasser lösen und zu 1 L auffüllen.
- Salzsäure, 3 mol/l.
- Substrat p-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (pNPG)-Lösung, (0,02 mol/l): 6,0252 g pNPG (z. B. Fluka) in Pufferlösung lösen und zum Liter auffüllen. pNPG ist schlecht wasserlöslich; die zum Lösen verwendete Pufferlösung kann deshalb auf ca. 60 °C erwärmt werden. Die Substratlösung ist sofort wieder abzukühlen und ist in einer Braunglasflasche längere Zeit (2 Monate) im Kühlschrank haltbar.
- Sistier-Lösung (3 mol/l; *pH* = 9,5): 363,42 g Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan in Wasser lösen und auf 1 L auffüllen. Mit Salzsäure 3 mol/l auf einen *pH*-Wert von 9,5 einstellen.

#### GERÄTE

- Photometer, Wellenlänge 400 nm.
- Wasserbad mit Thermostat ( $40 \pm 0,5$  °C).
- Vibrator, z.B. Vortex.
- *pH*-Meter.

## AUSFÜHRUNG

- Honig-Lösung: 5,00 g Honig in ein kleines Becherglas einwiegen, mit Pufferlösung auflösen, quantitativ in einen 25-ml-Messkolben überführen und mit Pufferlösung zur Marke auffüllen. Diese Lösung ist im Kühlschrank 1 Tag haltbar
- 5,0 ml Substratlösung in einem Reagenzglas oder Plastikröhrchen im Wasserbad (40 °C) während 5 Minuten vorwärmen
- danach 0,50 ml Honiglösung zupipettieren (Startzeit)
- Inhalt mittels Vibrator kurz durchmischen und bei 40 °C inkubieren lassen
- nach genau 20 Minuten 0,50 ml SistirLösung zupipettieren und erneut mittels Vibrator durchmischen (Messlösung)
- für die *Blindprobe* 5,0 ml Substratlösung über die gleiche Zeitdauer bei 40 °C inkubieren; die Honiglösung wird jedoch hier erst *nach* der SistirLösung zupipettiert ( je 0,50 ml)(für jeden Honig eine separate Blindprobe herstellen)
- nach Abkühlen der Lösungen auf Raumtemperatur innerhalb 1 Stunde die Extinktionen der Mess- und der Blindlösung in 1-cm-Küvetten bei 400 nm messen. Die Extinktion der Blindlösung von derjenigen der Messlösung abziehen (=  $\Delta E_{400}$ ).

## BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

Die im Versuch produzierte Menge p-Nitrophenol in  $\mu\text{mol}$  entspricht genau der Menge des umgesetzten Substrates in  $\mu\text{mol}$ . Die im Honig vorhandene Invertaseaktivität kann deshalb aus der bei 400 nm gemessenen Extinktion berechnet und in U/kg angegeben werden:

$$\begin{aligned} 1. \text{ Invertaseaktivität, in U/kg} &= 6 \cdot 0,05 \cdot 0,05298 \cdot 10^4 \cdot \Delta E_{400} \\ &= 158,94 \cdot \Delta E_{400} \end{aligned}$$

wobei

- U = 1 internationale Einheit, nach welcher definitionsgemäss 1  $\mu\text{mol}$  pNPG pro Minute umgewandelt wird
- 6 = Faktor für die eingesetzte Anzahl ml Messlösung (Gesamtvolumen)
- 0,05 = Faktor für die Umrechnung der Reaktionszeit von 20 Minuten auf 1 Minute
- $10^4$  = Faktor für die Umrechnung der eingesetzten Menge Honig (0,1 g in 0,5 ml) auf 1 kg
- 0,05298 = 7,37/139,11; Umrechnungsfaktor von  $\mu\text{g}$  in  $\mu\text{mol}$  pro ml, wobei 7,37 = Faktor für p-Nitrophenol aus der Bezugskurve ist
- 139,11 = Molare Masse von p-Nitrophenol.

$$1 \text{ U/kg} = \frac{1 \mu\text{mol pNPG}}{\text{Minute} \cdot \text{kg}_{\text{Honig}}}$$

Auf Grund von einer Publikation (von der Ohe et al. 1999) wurde vorgeschlagen auf die Angabe in Invertasezahlen zu verzichten und die Invertase-Aktivität in internationalen Einheiten anzugeben. In dieser Publikation wurde auch vorgeschlagen auf die Bezeichnung Sacchase zu verzichten, zugunsten der richtigen Bezeichnung „Invertase“. Diese Vorschläge wurden international akzeptiert.

Präzision: Ein unter der Leitung der Subkommission 7 nach Kapitel 60B "Ringversuche" des SLMB (Methodenprüfung) mit 19 schweizerischen Teilnehmerlaboratorien an 4 verschiedenen Honigproben (schweiz. Akazienhonig; Honigtauhonig; schweiz. Blütenhonig; mexikanischer Yucatanhonig) mit je 3facher Bestimmung durchgeführter Ringversuch ergab folgende Werte:

Honigart	Mittelwerte (m)	Wiederholbarkeit (r)	Vergleichbarkeit (R)
Akazienhonig, Schweiz	6,5	0,26	1,8
Honigtauhonig	9,4	0,33	1,2
Blütenhonig, Schweiz	7	0,48	1,8
Yucatanhonig, Mexiko	17,7	0,58	1,3

Die Einzelresultate sowie die Zusammenstellung der gesamten Auswertung sind in der Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Sektion Bienen, einzusehen (unveröffentlichte Arbeit von *Bogdanov, S.*<sup>10</sup> und *Lischer, P.*<sup>11</sup>: Inter laboratory trials; Diastase activity; Phadebas and Schade methods; Saccharase activity by Siegenthaler and water content by refractometry 1993).

#### LITERATUR

*Siegenthaler, U.*: Eine einfache und rasche Methode zur Bestimmung der  $\alpha$ -Glucosidase (Saccharase) im Honig. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. 68, 251 - 258 (1977).

*Hadorn, H. und Zürcher, K.*: Eine verbesserte polarimetrische Methode zur Saccharasezahlbestimmung im Honig. Dt. Lebensm. Rdsch. 62, 195 - 201 (1966).

*von der Ohe, W., Raude-Roberg, R., Dustmann J.* Comparison of methods for determination of saccharase activity in honey, Apidologie 30 (5): 412-413, 1999.

*Bogdanov S., Martin P.; Lüllmann C.*, Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie, extra issue, 1-59 (1997)

<sup>10</sup> Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, 3097 Liebefeld

<sup>11</sup> Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, 3097 Liebefeld.

## 8 Zuckerarten

### 8.1 Bestimmung von Zuckerarten

mittels HPLC (Refraktionsindexdetektion)

#### PRINZIP

Von einer klarfiltrierten Honiglösung werden die Zuckerarten mittels HPLC auf einer aminomodifizierten Kieselgelsäule getrennt. Die Bestimmung erfolgt mit einem Refraktionsindex-Detektor.

#### REAGENZIEN

- Standards: Glucose; Fructose; Saccharose; Turanose; Maltose; Trehalose; Melezitose; Isomaltose; Raffinose; (alle z. B. Merck; Fluka); Erlöse (Senn Chemicals; Dielsdorf).
- Standardlösung: Je 70 g/l Glucose und Fructose sowie je 5 g/l Saccharose, Turanose, Maltose, Trehalose, Erlöse, Melezitose, Isomaltose und Raffinose in einer Mischung von Methanol in Wasser (1+3 Volumenteile); (Haltbarkeit: Bei -20 °C mehrere Monate.)
- Methanol, HPLC-rein.
- Acetonitril, HPLC-rein.
- Elutionsmittel: Acetonitril/Wasser (4+1 Volumenteile).

#### GERÄTE

- HPLC-Gerät mit Refraktionsindex-Detektor und Integrator.
- Trennsäule: 250 · 4 mm, NH<sub>2</sub>-modifiziertes Kieselgel (3 oder 5 µm), z. B. Spherisorb Amino (Phase Separation); Hypersil-APS (Shandon); Polygosyl (Macherey-Nagel) Vorsäule 20 · 4 mm mit gleicher Füllung wie Trennsäule.
- Membranfilter, 0,45 µm.

#### AUSFÜHRUNG

- 20,00 g Honig in ein Becherglas einwiegen, in einer Mischung von Methanol/Wasser (1 + 3 Volumenteile) lösen, quantitativ in einen 100-ml-Messkolben überführen und mit derselben Mischung zur Marke auffüllen
- ein Aliquot durch ein Membranfilter mit 0,45 µm Porenweite filtrieren und anschliessend chromatographieren.

Trennbedingungen (Beispiel, Abb. 23A. 2 - 4)

Einspritzmenge	10 $\mu$ l
Temperatur	Trennsäule und Refraktionsindex-Detektor thermostatisiert, 40 °C
Flussrate	1,0 ml/min

#### *Bemerkungen*

1. Vorgängig muss geprüft werden, ob der Response des Detektors im Messbereich linear ist. Ist er bis 70 g/l Fructose oder Glucose nicht linear, sollte für diese beiden Zuckerarten eine zweite Messung gemacht werden. Dabei werden die Standardlösung und die Honiglösung im Verhältnis 1 + 4 mit Methanol/Wasser (1 + 3 Volumenteile) verdünnt.
2. Zuckerarten, die in ihrer Retentionszeit nicht den Standardzuckerarten entsprechen, werden unter Verwendung des Responsefaktors für Maltose als Oligosaccharide zusammengefasst.
3. Vorliegende Methode beschränkt sich auf die Bestimmung der wichtigsten Zuckerarten. Für die Bestimmung weiterer Zuckerarten, unter Verwendung entsprechender Standards, siehe *Bogdanov, S. (1988)*.
4. Die Mischung von Methanol/Wasser (1 + 3 Volumenteile) hemmt die Honiginvertase vollständig.

#### BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

Die Gehalte der einzelnen Zuckerarten werden aus der Peakfläche oder Peakhöhe mit Hilfe eines Bezugschromatogrammes berechnet (externer Standard). Die unbekanntesten Zuckerarten werden mit dem Maltosestandard berechnet.

Angabe in g/100 g Honig, mit 1 Dezimalen.

Die Nachweisgrenze der einzelnen Zuckerarten liegt je nach Gerät und Zuckerart zwischen 0,1 und 0,5 g/100 g.

#### *Präzision*

Mittelwert ( $m$ ), Wiederholbarkeit ( $r$ ), Wiederholstandard-Abweichung ( $s$ ), Vergleichbarkeit ( $R$ ) und Vergleichsstandard-Abweichung ( $s_R$ ) wurden aus Ringversuchen erhalten. Diese wurden vom deutschen Institut für Normung nach DIN-Norm 10758 durchgeführt. Es wurden dabei folgende Werte (in g/100 g Honig) erhalten:

## Fructose

Proben	m	r	s <sub>r</sub>	R	s <sub>R</sub>
Waldhonig	31,20	0,82	0,29	1,60	0,57
Akazienhonig	42,39	0,88	0,31	2,34	0,83
Lavendelhonig	37,88	1,03	0,36	1,57	0,56

## Glucose

Proben	m	r	s <sub>r</sub>	R	s <sub>R</sub>
Waldhonig	23,04	0,88	0,31	2,09	0,74
Akazienhonig	28,54	0,80	0,28	1,78	0,63
Lavendelhonig	32,03	1,07	0,38	1,42	0,50

## Saccharose

Proben	m	R	s <sub>r</sub>	R	s <sub>R</sub>
Waldhonig	-	-	-	-	-
Akazienhonig	-	-	-	-	-
Lavendelhonig	2,83	0,43	0,15	0,93	0,33

## Turanose

Proben	m	R	s <sub>r</sub>	R	s <sub>R</sub>
Waldhonig	2,12	0,42	0,15	0,84	0,30
Akazienhonig	1,66	0,27	0,10	0,51	0,18
Lavendelhonig	1,26	0,28	0,10	0,84	0,30

## Maltose

Proben	m	R	s <sub>r</sub>	R	s <sub>R</sub>
Waldhonig	4,77	0,55	0,19	2,54	0,90
Akazienhonig	2,02	0,62	0,22	1,31	0,46
Lavendelhonig	2,34	0,50	0,18	0,74	0,26

## LITERATUR

*DIN NORM 10758* (3. Vorlage): Bestimmung des Gehaltes an Sacchariden.  
HPLC-Verfahren (April 1992).

*Bogdanov, S. und E. Baumann, E.*: Bestimmung von Honigzuckern mit HPLC. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. **79**, 198 - 206 (1988).

*Bogdanov S., Martin P.; Lüllmann C.*, Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie, extra issue, 1-59 (1997)

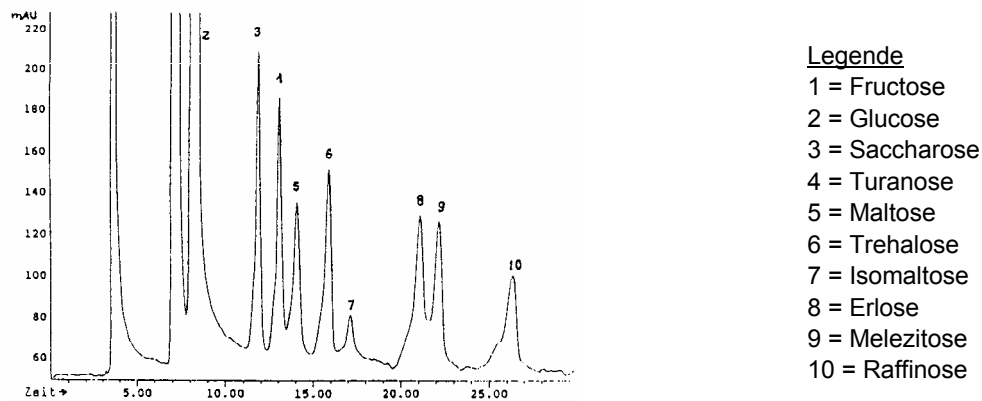


Abb. 23A.2  
Chromatogramm:  
Zuckerartenstandardgemisch

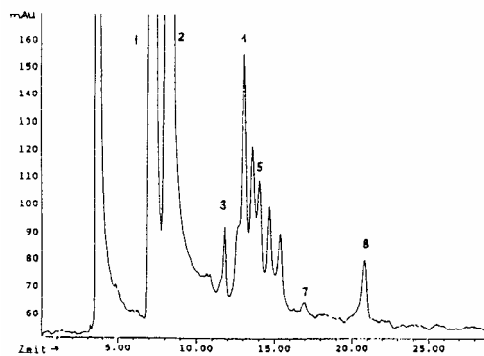


Abb. 23A.3  
Chromatogramm:  
Blütenhonig

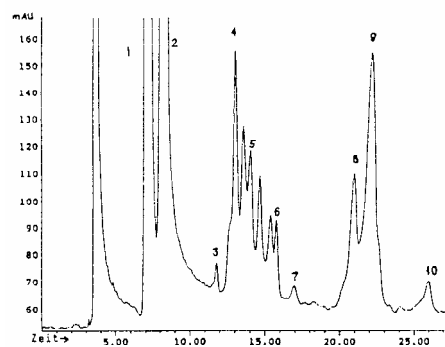


Abb. 23A.4  
Chromatogramm:  
Waldhonig

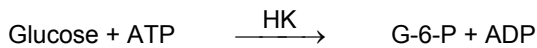
## 8.2 Bestimmung der D-Glucose und D-Fructose

enzymatisch

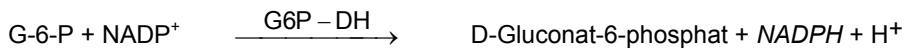
D-Fructose und D-Glucose können mit nachfolgenden Vorschriften quantitativ erfasst werden.

### PRINZIP

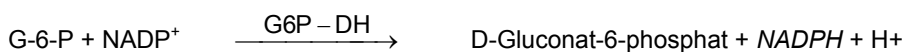
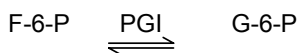
Die Bestimmung von D-Fructose erfolgt über die Umwandlung zu D-Glucose. D-Glucose und D-Fructose werden durch Hexokinase (HK) und Adenosin-5'-triphosphat (ATP) zu Glucose-6-phosphat (G-6-P) bzw. Fructose-6-phosphat (F-6-P) phosphoryliert. Mit Hilfe der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) wird das G-6-P durch Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADP) zu Gluconat-6-phosphat oxidiert. Dabei wird NADPH (reduziertes NADP) gebildet, welches der Glucose-Menge äquivalent ist. Nach vollständiger Umsetzung des G-6-P wird das F-6-P durch die Phosphoglucose-Isomerase (PGI) in G-6-P überführt. Dieses reagiert wiederum mit NADP. Die nun gebildete Menge NADPH ist der Fructose-Menge äquivalent.



Glucosebestimmung:



Fructosebestimmung:



Der Fructosegehalt berechnet sich aus der Differenz von Gesamtglucose nach der Isomerisierung und ursprünglich vorhandener Glucose.



## REAGENZIEN

- Enzym-Testkit zur Bestimmung verschiedener Zuckerarten wie Fructose, Glucose (z. B. Boehringer, Merck).

## AUSFÜHRUNG

- Honig mit einem Spatel gut homogenisieren
- davon ca. 1 g genau in ein kleines Becherglas einwiegen
- mit zunächst wenig Wasser lösen, quantitativ in einen 100-ml-Messkolben überführen, mit Wasser bis zur Marke auffüllen und im Verhältnis 1 + 9 mit Wasser verdünnen (Messlösung)
- die Messlösung nach Vorschrift des angewandten Testkits weiterbehandeln (Pipettierschema, Messung).

## BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

Der aus der Messlösung erhaltene Gehalt an Glucose bzw. Fructose wird unter Einbezug der Verdünnungsfaktoren auf die Probe umgerechnet und in g/100 g, mit 1 Dezimalen angegeben.

Angaben zur "Wiederholbarkeit" siehe *Gonnet* (1979).

## HINWEIS

Anstatt mit einem Enzymtestkit kann die Bestimmung auch mit Einzelreagenzien durchgeführt werden. Siehe dazu Kapitel "Enzymatische Bestimmungen", Methode 61B/1.2 .

## LITERATUR

*Boehringer Mannheim Biochemica*, Methoden der enzymatischen BioAnalytik und Lebensmittelanalytik (1994).

*Merck (SCHWEIZ) AG*: Enzymatische Analytik in Lebensmitteln; Bioquant, Zürich.

*Gonnet, M.*: Application au miel d'une méthode de dosage par voie enzymatique des monosaccharides réducteurs. *Apidologie* **10**, 395 - 401 (1979).

*Bergmeyer, H.U.* (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. II; *Bernt, E.* und *Bergmeyer, H.U.*: D-Fructose. Verlag Chemie, Weinheim (1974), S. 1349 - 1352.

**9 Hydroxymethylfurfural**

**9.1 Bestimmung des Hydroxymethylfurfurals (HMF)**

photometrisch, nach Winkler

aufgehoben

## 9.2 Bestimmung des Hydroxymethylfurfurals (HMF)

photometrisch, nach White

### PRINZIP

Die Ermittlung des HMF-Gehaltes beruht auf der Messung der UV-Absorption des HMF bei 284 nm. Zur Ausschaltung anderer störender Komponenten bei dieser Wellenlänge wird die Differenz zwischen den Absorptionen einer geklärten wässrigen Honiglösung und derselben mit Zusatz von Bisulfit bestimmt. Nach Abzug der Untergrundabsorption bei 336 nm wird der Gehalt an HMF berechnet.

### REAGENZIEN

- Carrez-Lösung I: 15 g Kaliumhexacyanoferrat (II),  $K_4 \cdot [FeCN_6] \cdot 3H_2O$  in Wasser lösen und auf 100 ml auffüllen.
- Carrez-Lösung II: 30 g *Zinkacetat*,  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  in Wasser lösen und auf 100 ml auffüllen.
- Natriumhydrogensulfit,  $NaHSO_3$  (z. B. Baker Nr. 0266).
- Natriumhydrogensulfit-Lösung 2 g/l: 2,0  $NaHSO_3$  in Wasser lösen und auf 1000 ml auffüllen. Falls nötig wird diese Lösung für die Referenzlösung im Verhältnis 1 + 1 verdünnt. Frisch zubereiten!

### GERÄTE

- Spektrophotometer, Wellenlänge 284 und 336 nm.
- Küvetten, 1 cm.
- Reagenzglas-Mischer.

### AUSFÜHRUNG

- ca. 5 g Honig genau in ein 50-ml-Becherglas einwiegen
- Probe in ca. 25 ml Wasser lösen und quantitativ in einen 50-ml-Messkolben überführen
- 0,5 ml Carrezlösung I zufügen und mischen
- 0,5 ml Carrezlösung II zufügen, mischen und Messkolben mit Wasser bis zur Marke auffüllen (die Zugabe eines Tropfen Ethanol verhindert allfälliges Schäumen).
- Durch Filterpapier filtrieren; die ersten 10 ml Filtrat verwerfen
- je 5,0 ml Filtrat in 2 Reagenzgläser (18 · 150 mm) pipettieren

- ein Reagenzglas mit 5,0 ml Natriumhydrogensulfitlösung versetzen, gut mischen (= Referenzlösung)
- innerhalb einer Stunde die Extinktionen der Probelösung in 10-mm-Quarz-Küvetten bei 284 und 336 nm gegen die Referenzlösung messen
- falls die Extinktion bei 284 nm den Wert 1 überschreitet, Probelösung mit Wasser und Referenzlösung mit der verdünnten Natriumhydrogensulfitlösung je um den gleichen Faktor verdünnen.

## Versuchsanordnung

	<i>Probelösung</i>	<i>Referenzlösung</i>
Honiglösung	5,0 ml	5,0 ml
Wasser	5,0 ml	-
Natriumhydrogensulfitlösung	-	5,0 ml

## BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

$$\text{HMF in mg/kg} = (\text{Ext}_{.284} - \text{Ext}_{.336}) \cdot 149,7 \cdot 5 \cdot F/E$$

wobei

Ext<sub>.284</sub> = Extinktion bei 284 nmExt<sub>.336</sub> = Extinktion bei 336 nm

149,7 = Faktor; Zusammensetzung

$$149,7 = \frac{126 \cdot 1000 \cdot 1000}{16830 \cdot 10 \cdot 5}$$

wobei

126 = Molare Masse von HMF

16830 = molarer Extinktionskoeffizient  $\epsilon$  von HMF bei  $\lambda = 284$  nm

1000 = Umrechnung von g in mg

10 = Umrechnung von 1 in 100 ml

1000 = Umrechnung von g Honig in kg

5 = theoretische Einwaage

F = Verdünnungsfaktor, falls verdünnt werden muss

E = Einwaage der Probe, in g.

Angabe in mg/kg, mit 1 Dezimalen.

Präzision. Ein unter der Leitung der Subkommission 7 nach Kapitel 60B "Ringversuche" des SLMB (Methodenprüfung) mit 19 Teilnehmerlaboratorien (12 aus der Schweiz, 7 aus der Europäischen Union) an 3 verschiedenen Honigproben (je 3fache Bestimmung) durchgeführter Ringversuch ergab folgende Werte:

Probe	Mittelwerte (m) mg/kg	Wiederholbarkeit (r) mg/kg	Vergleichbarkeit (R) mg/kg
A	3,8	0,9	2,3
B	22,3	1,2	3,9
C	42,1	2,9	4,4

Die Einzelresultate sowie die Zusammenstellung der gesamten Auswertung dieses Ringversuches können im Bundesamt für Gesundheitswesen, Sektion Lebensmittelbuch, Bern, eingesehen werden.

#### LITERATUR

*Official Methods of Analysis AOAC*: Hydroxymethylfurfural in honey. 16. Ausgabe: 44.4.15 (1995).

*DIN Norm 10751*, Teil 2 (1992): Bestimmung des Gehaltes an Hydroxymethylfurfural.

*White, J.W.*: Spectrophotometric Method for Hydroxymethylfurfural in Honey. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **62**, 509 - 514 (1979).

### 9.3 Bestimmung des Hydroxymethylfurfurals (HMF)

mittels HPLC

#### PRINZIP

In einer klarfiltrierten wässrigen Honiglösung wird HMF an einer Reversed-Phase-Säule mittels HPLC bestimmt. Die Bestimmung erfolgt durch einen UV-Detektor.

#### REAGENZIEN

- HMF: 5-(Hydroxymethyl)-furan-2-carbaldehyd (z. B. Merck Nr. 820 678 oder Fluka Nr. 55690).
- Methanol, HPLC-rein.
- Eluent: Wasser/Methanol (9 + 1 Volumenteile), beide HPLC-Qualität.
- Standard-Lösung: 25 mg HMF/l, als wässrige Lösung.

Gehaltsbestimmung des Standards: Es wird die Extinktion der zubereiteten Standardlösung in 1-cm-Quarz-Küvetten gegen Wasser bei 285 nm in einem UV-Spektrophotometer gemessen. Aus der gemessenen Extinktion und der Konzentration wird der molare Extinktionskoeffizient  $\epsilon$  oder die spezifische Extinktion  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  berechnet. Anhand des Literaturwertes (*White* [1979]) von  $\epsilon=16830$  kann der Gehalt des verwendeten Standards berechnet werden, wobei der errechnete Gehalt mindestens der durch den Lieferanten gegebenen Spezifikation entsprechen muss. Aufbewahrung des Standards bei 4 - 8 °C unter Stickstoff.

#### GERÄTE

- HPLC-Gerät (isokratisch) mit UV-Detektor und Integrator.
- Trennsäule: Hypersil ODS 5  $\mu\text{m}$ , 125 · 4 mm oder 250 · 4 mm (z.B. Shandon).
- Membranfilter, 0,45  $\mu\text{m}$ .

#### AUSFÜHRUNG

##### *Probenvorbereitung*

- Ca. 5 g Honig auf 10 mg in ein 50-ml-Becherglas einwiegen
- Probe in ca. 25 ml Wasser lösen, quantitativ in einen 50-ml-Messkolben überführen
- 0,5 ml Carrezlösung I zufügen und mischen

- 0,5 ml Carrezlösung II zufügen, mischen und Messkolben mit Wasser bis zur Marke auffüllen (die Zugabe eines Tropfen Ethanol verhindert allfälliges Schäumen).
- durch Filterpapier filtrieren; die ersten 10 ml Filtrat verwerfen
- durch einen 0,45- $\mu$ m-Membranfilter filtrieren (Probelösung).

Trennbedingungen (Beispiel, siehe Chromatogramme)

Flussrate	1,0 ml/Minute
Einspritzmenge	Probelösung: 20 $\mu$ l Standardlösung: 10; 20; 50 $\mu$ l
Detektion	UV-285 nm; Range: 0,2 AUFS.

#### BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

Der Gehalt der Probe an HMF wird aus den entsprechenden Peakflächen und anhand des externen Standards berechnet, unter Einbezug der vorgenommenen Verdünnung.

Angabe in mg/kg, mit 1 Dezimalen.

Präzision. Ein unter der Leitung der Subkommission 7 nach Kapitel 60B "Ringversuche" des SLMB (Methodenprüfung) mit 14 Teilnehmerlaboratorien (10 aus der Schweiz, 4 aus der Europäischen Union) an 3 verschiedenen Honigproben (je 3fache Bestimmung) durchgeführter Ringversuch ergab folgende Werte:

Probe	Mittelwerte (m) mg/kg	Wiederholbarkeit (r) mg/kg	Vergleichbarkeit(R) mg/kg
A	5,2	0,4	1,6
B	22,8	1,2	4,9
C	42,3	2,1	7,3

Die Einzelresultate sowie die Zusammenstellung der gesamten Auswertung dieses Ringversuches können im Bundesamt für Gesundheitswesen, Sektion Lebensmittelbuch, Bern eingesehen werden.

Bemerkung: Der erwähnte Ringversuch wurde ohne die nachträgliche Modifikation (zusätzliche Carrez-Fällung, analog wie bei Methode 9.2) durchgeführt.

## Hinweis

Mit der gleichen Methode kann auch Furfural bestimmt werden, das aber im Verhältnis zu HMF nur in sehr geringen Mengen im Honig vorkommt. Furfural eluiert bei der Verwendung einer 125 · 4-mm-Säule nach ca. 4,5 Minuten.

## LITERATUR

*Jeurings, H.J. and Koppers, F.:* High Performance Liquid Chromatography of Furfural and Hydroxymethylfurfural in Spirits and Honey. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **63**, 1215 (1980).

*White, J.W.:* Spectrophotometric method for Hydroxymethylfurfural in Honey. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **62**, 509 (1979).

*Bogdanov S., Martin P.; Lüllmann C.,* Harmonised methods of the European honey commission, *Apidologie*, extra issue, 1-59 (1997)

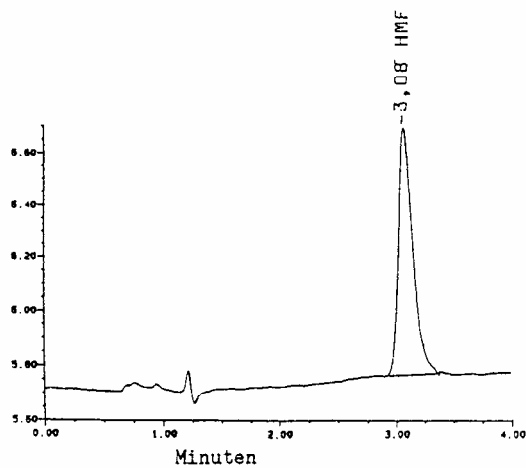


Abb. 23A.5  
Chromatographie: HMF-Standard-Lösung



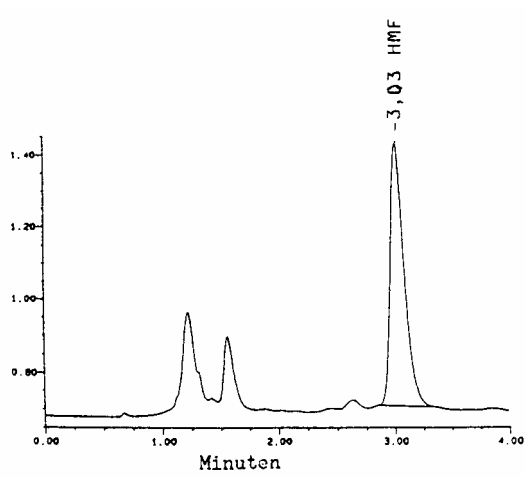


Abb. 23A.6  
Chromatogramm: Honiglösung

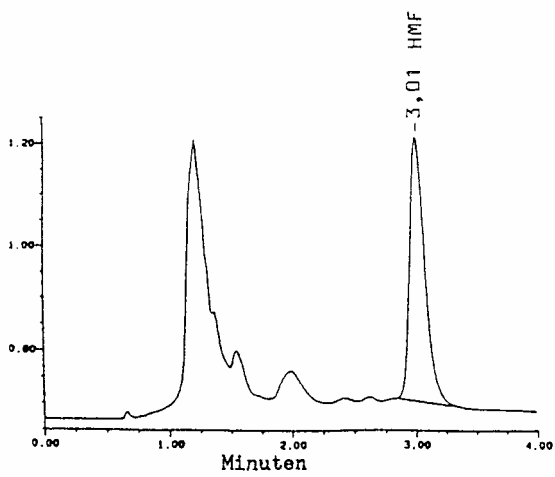


Abb. 23A.7  
Chromatogramm: Honiglösung

**10 Bestimmung des Prolins**

photometrisch

## PRINZIP

Prolin bildet mit Ninhydrin eine gefärbte Komplexverbindung, diese wird photometrisch bestimmt.

## REAGENZIEN

- Ninhydrin.
- Prolin.
- Ameisensäure, konz. (98 - 100 %).
- Ethylenglycolmonomethylether bzw. 2-Methoxyethanol (Methylcellosolve).
- Ninhydrin-Lösung: 3,0 g Ninhydrin in 100 ml Ethylenglycolmonomethylether lösen. Vor Gebrauch frisch ansetzen.
- Prolin-Stammlösung: 40 mg L-Prolin/50 ml Wasser.
- Prolin-Standardlösung: 1 ml der Prolin-Stammlösung mit Wasser auf 25 ml auffüllen (25 ml enthalten genau 0,8 mg Prolin).
- 2-Propanol/Wasser (1+1 Volumenteile).

## GERÄTE

- Spektrophotometer, Wellenlänge 500 bis 520 nm.
- Küvetten, Schichtdicke 1 cm.
- Reagenzgläser, 20 ml, mit Schraubverschluss oder Schliffstopfen.
- Wasserbad mit Thermometer (70 °C).

## AUSFÜHRUNG

- Ca. 5 g Honig auf 10 mg genau in ein kleines Becherglas einwiegen und mit ca. 50 ml Wasser lösen
- quantitativ in einen 100-ml-Messkolben überführen, mit Wasser zur Marke auffüllen
- Kolben verschliessen und anschliessend kräftig schütteln (Probelösung).
- 0,5 ml der Probelösung in ein Reagenzglas geben, 0,5 ml Wasser in ein zweites Reagenzglas geben sowie in drei weitere Reagenzgläser je 0,5 ml der Prolinstandardlösung einpipettieren.

**Bemerkung**

Der Extinktionskoeffizient unterliegt Schwankungen. Seine Ermittlung muss deshalb für jede Messreihe mindestens durch eine Dreifachbestimmung aus der Prolin-Standardlösung erfolgen (Mittelwert berechnen).

- In jedes Reagenzglas zusätzlich 1,0 ml Ameisensäure und 1,0 ml Ninhydrinlösung pipettieren und die Reagenzgläser anschliessend dicht verschliessen
- Reagenzgläser kräftig schütteln und für 15 Minuten in ein siedendes Wasserbad stellen, wobei der Wasserspiegel des Bades über dem Flüssigkeitsspiegel des Inhaltes der Reagenzgläser stehen soll
- Reagenzgläser hernach entfernen und für 10 Minuten in ein Wasserbad von 70 °C stellen und dabei in jedes Glas 5,0 ml der Propanol/Wassermischung hinzugeben und die Reagenzgläser sofort wieder verschliessen
- zur vollen Farbentwicklung auf Raumtemperatur abkühlen lassen
- 45 Minuten nach der Entnahme aus dem zweiten Wasserbad die Extinktionskurven der Probe- und Standardlösungen gegen die Blindprobe in 1-cm-Küvetten im Bereich von 500 - 520 nm registrieren. Es ist das Maximum der Extinktionen zu ermitteln.

**Bemerkung**

Die vorgegebenen Zeiten sind genau einzuhalten. Die maximale Extinktion liegt bei ca. 510 nm.

## BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE

$$\text{Prolin, in mg/kg} = \frac{\text{Ext}_p}{\text{Ext}_s} \cdot E_1 \cdot \frac{80}{E_2}$$

wobei

$\text{Ext}_p$  = Extinktion der Probelösung

$\text{Ext}_s$  = Extinktion der Prolinstandardlösung, ermittelt durch Mittelwertbildung

$E_1$  = Prolineinwaage für die Prolinstammlösung, in mg

$E_2$  = eingewogene Probemenge, in g

80 = Verdünnungsfaktor, bezogen auf 1 kg Honig.

Angabe in mg/kg, mit 1 Dezimalen.

Präzision. Die für die Wiederholbarkeit ( $r$ ) bzw. die Wiederholstandardabweichung ( $s_r$ ) sowie die Vergleichbarkeit ( $R$ ) bzw. die Vergleichsstandardabweichung ( $s_R$ ) dieser Methode höchstens zu erwartenden Werte wurden aus Ringversuchen gewonnen. Die Ringversuche wurden vom deutschen Institut für Normung DIN Norm 10754 durchgeführt. Die einzelnen Werte sind aus folgender Zusammenstellung ersichtlich (alle Angaben in mg/kg Honig):

Proben	m	r	$s_r$	R	$s_R$
Akazie	171	6,6	2,3	16,3	5,8
Yucatan	289	12,7	4,5	18,4	6,5
Eiche	762	24,4	8,6	58,4	20,7

m = Mittelwerte

r = Wiederholbarkeit

$s_r$  = Wiederholstandard-Abweichung

R = Vergleichbarkeit

$s_R$  = Vergleichsstandard-Abweichung

#### LITERATUR

*Official Methods of Analysis AOAC: Proline in honey.* 16. Ausgabe: 44.4.07 (1995).

*DIN Norm 10754* (Entwurf 1991): Bestimmung des Prolingehaltes von Honig.

*Speer, K. und Montag, A.:* Verteilung freier Aminosäuren in Honig unter besonderer Berücksichtigung der deutschen und der französischen Heidehonige. Dt. Lebensm. Rdsch. 82 (8), 248 - 253 (1986).

*Martin, P.G.:* Manuals of Food Quality Control. 3. Commodities ROMSE: Food and Agriculture Organization of the United Nations; (FAO Food and Nutrition Paper; 14/3), (1979), S. 162.

*Bogdanov S., Martin P.; Lüllmann C.,* Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie, extra issue, 1-59 (1997)

**11 Bestimmung von Zuckerarten mittels IC und PAD-Detektoren**

mittels IC und PAD-Detektoren

*Hinweis*

Die Anwender dieser Methoden/Angaben werden nachdrücklich ersucht, ihre Erfahrungen der Subkommission 7a oder der Sektion Lebensmittelbuch, Bundesamt für Gesundheit, Postfach 3003 Bern 14 mitzuteilen.

## PRINZIP

Von einer klarfiltrierten wässrigen Honiglösung werden die Zuckerarten von einer Anionenaustauschersäule mittels Ionenchromatographie (IC) getrennt. Die Bestimmung erfolgt mittels gepulst-amprometrischer Detektion (PAD).

## REAGENZIEN

- Standards: Glucose, Fructose, Saccharose, Maltose, Raffinose, Maltotriose, Trehalose, Melezitose, Arabinose, Melibiose und Nigerose (Merck); Isomaltose und Turanose (Sigma); Erlöse (Senn Chemicals; Dielsdorf) und Kojibiose (Koch & Light; Hartfield, Hertfordshire, England).
- Standardlösung: Glucose und Fructose je 150 mg/l, alle anderen Standards je 10 mg/l.
- Natronlauge, 50 %.
- Natriumacetat Trihydrat.
- Elutionsmittel (carbonatfrei, mit Helium begasen!):
  - A: 7,8 ml Natronlauge (50 %) zu 1 l mit Helium entgastem Wasser geben (150 mM NaOH).
  - B: 68 g Natriumacetat Trihydrat in 1 Liter Wasser lösen, mit Helium entgasen und 7,8 ml Natronlauge (A) zugeben (ca. 150 mM Natronlauge und 500 mM Natriumacetat).
  - C: 15,6 ml Natronlauge (50 %) zu 1 l mit Helium entgastem Wasser geben (300 mM NaOH).
- Nachsäulenaddition: 26 ml Natronlauge (50 %) zu 1 l mit Helium entgastem Wasser geben (500 mM NaOH).

## GERÄTE

- IC-Gerät (z.B. Dionex) mit Gradientenpumpe und zusätzlicher isokratischer Pumpe.
- OAD-Detektor mit Goldelektrode.
- Trennsäule: Dionex CarboPac PA1 (250 x 4 mm) Art. Nr. 39686 mit PA1-guard-column (3 x 25 mm) Art. Nr. 37141.

- Membranfilter, 0,45  $\mu\text{m}$ .

#### AUSFÜHRUNG

- Ca. 5 g Honig auf 10 mg genau in ein kleines Becherglas einwiegen, mit ca.20 ml Wasser lösen, quantitativ in einen 100-ml-Messkolben transferieren und mit Wasser zur Marke auffüllen
- mit Wasser 1:100 verdünnen
- ein Aliquot durch ein Membranfilter 0,45  $\mu\text{m}$  filtrieren und für die Analyse einsetzen.

#### *Trennbedingungen (Beispiel siehe Abbildungen)*

Flussrate. Bis 17 Minuten 0,5 ml/Minute, dann innerhalb von 5 Minuten den Flussrate auf 1 ml/Minute erhöhen.

#### *Bemerkung*

Je nach Säule muss der Startpunkt des Flussgradienten so gewählt werden, dass die Peaks von Saccharose, Kojibiose und des unbekanntes Zuckers vor der Kojibiose befriedigend getrennt werden.

Nachsäulenaddition: 500 mM NaOH; Flussrate 0,5 ml/Minute.

Detektor:  $E_1 = 50 \text{ mV}$        $t_1 = 480 \text{ msec.}$   
 $E_2 = 600 \text{ mV}$        $t_2 = 120 \text{ msec.}$   
 $E_3 = -600 \text{ mV}$        $t_3 = 60 \text{ msec.}$

Empfindlichkeit: 30  $\mu\text{A}$

Injektionsvolumen: 50  $\mu\text{l}$

Gradient: (min)	Time	% A	% B	% C
	0	100		
	20	100		
	30	80	20	
	35			100
	45			100
	46	100		
	56	100		

**BERECHNUNG UND ANGABE DER RESULTATE**

Die Gehalte der einzelnen Zuckerarten werden aus den entsprechenden Peakflächen und anhand des externen Standards unter Berücksichtigung der vorgenommenen Verdünnung berechnet.

Angabe in g/100 g Honig, mit 1 Dezimalen.

**HINWEIS**

Unter den angegebenen Trennbedingungen gibt es verschiedene Zuckerarten die koeluiern, z.B. Maltulose und Isomaltose sowie Raffinose und Nigerose. Bei der Saccharose ist keine Interferenz zu erwarten.

**LITERATUR**

*Pourtallier J., Rognone C. und Davico R.:* Une nouvelle technique d'analyse des sucres des miels par chromatographie liquide a haute performance. L'abeille de France, Nr. 754, 448 - 451 (1990).

*Swallow K.W. und Low N.H.:* Analysis and Quantitation of the Carbohydrates in Hones Using High-Performance Liquid Chromatography. J. Agric. Food Chem. **38**, 1828 - 1832 (1990).

*Bogdanov S., Martin P.; Lüllmann C.,* Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie, extra issue, 1-59 (1997)

## Anhang

### Determination of insoluble matter

#### SCOPE

The method can be applied to all honey samples.

#### DEFINITION

Insoluble matter is defined as that material found by the procedure to be insoluble in water. The result is expressed as a percentage by weight.

#### PRINCIPLE

The insoluble matter is collected on a crucible of specified pore size and the dried residue is weighed after being washed free of soluble material.

#### EQUIPMENT

Analytical balance, to 0.1mg.  
Sintered glass crucible, pore size 15 to 40 microns.  
Drying oven at  $135 \pm 1^\circ\text{C}$ .

#### PROCEDURE

Accurately weigh approximately 20 grams of honey and dissolve in about 200ml of water at about  $80^\circ\text{C}$ . Mix well.

Dry a crucible in the oven and leave to obtain ambient temperature in a desiccator containing an efficient desiccant such as silica gel. Weigh the crucible.

Filter the sample solution through the crucible. Wash carefully and extensively with warm water until free from sugars. Check by adding to some filtrate in a test tube some 1% phloroglucinol in ethanol. Mix and run a few drops of concentrated sulphuric acid down the sides of the tube. Sugars produce a colour at the interface.

Dry the crucible at  $135^\circ\text{C}$  for an hour, cool in the desiccator and weigh. Return to the oven for 30 minute intervals until constant weight is obtained.



## CALCULATION AND EXPRESSION OF RESULTS

$$\% \text{ Insoluble Matter in g/100 g} = \frac{m}{m_1} \times 100$$

where  $m$  = mass of dried insoluble matter and  
 $m_1$  = mass of honey taken

## PRECISION

The precision of the method was determined in the UK collaborative study. The values are in g/100 g.

Mean, $\bar{x}$	0.021	0.009	0.031	0.011
Repeatability (r)	0.016	0.016	0.023	0.010
Reproducibility (R)	0.021	0.016	0.023	0.026

## REFERENCES

1. Codex Alimentarius Commission: Recommended European regional standard for honey (CAC/RS 12-1969).
2. D.W. Lord, M. J.Scotter, A.D.Whittaker and R.Wood, The determination of acidity, apparent reducing sugar and sucrose, hydroxymethylfurfural, mineral, moisture, water-insoluble solids contents in honey; collaborative study, J.Assoc. Publ.Anal.(UK), 26, 51-76 (1988).
3. *Bogdanov S., Martin P., Lüllmann C.* (1997) Harmonised methods of the European honey commission, Apidologie 1-59, pp. 51-52