Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 28 (1937)

Heft: 3

Artikel: Die Bestimmung der Saccharose und Melezitose in Honig

Autor: Fellenberg, Th. von / Werder, J.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982894

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Die Bestimmung der Saccharose und Melezitose in Honig.*)

Von Dr. Th. von FELLENBERG.
(Aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Vorstand: Prof. Dr. J. Werder.)

An einer Sitzung, welche dieses Frühjahr von der Bienenabteilung der milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt Liebefeld einberufen wurde und an welcher ausserdem das Eidgenössische Gesundheitsamt, der Schweizerische Verein analytischer Chemiker, der Kantonschemikerverband und der Verein deutschschweizer. Bienenzüchter vertreten war und welche zum Zwecke hatte, die dieses Jahr in Angriff zu nehmende Honigstatistik vorzubereiten, wurde die Anregung gemacht, das Eidgenössische Gesundheitsamt möchte eine Methode zur Bestimmung der Melezitose in Honig ausarbeiten, die dann eventuell bei der Honigstatistik zur Anwendung zu empfehlen sei.

Da die Bestimmung der Melezitose mit der der Saccharose eng verknüpft ist — die Melezitose war bisher im Saccharosewert mit inbegriffen — musste die Bestimmung beider Zuckerarten zugleich bearbeitet werden.

Berthelot entdeckte 1859 in der Lärchenmanna von Briançon eine neue Zuckerart, welcher er den Namen Melezitose (von Melèze, Lärche) gab. Die Lärchenmanna ist der kristallisierte Honigtau, der durch eine Blattlaus, eine Lachnusart, auf den Nadeln ausgeschieden wird. In dem sehr heissen Sommer 1919 trat nach *C. Keller* Lärchenmanna im Kanton Wallis in einer Höhe von 1700—1800 m massenhaft auf.

L. Arnhart[1]) berichtet vom Vorkommen von Lärchenmanna in der Gegend von Salzburg und von Lärchenhonig, der in den Waben kristallisiert und daher von den Bienen nicht mehr verwendet werden kann. *E. Elser* suchte in dieser Manna die Melezitose zu bestimmen, indem er einerseits die Saccharose mit Hilfe von Saccharase, anderseits Saccharose und Melezitose zusammen mit Salzsäure invertierte und die Differenz als Melezitose annahm. Er fand 44,2% Invertzucker, 12,8% Saccharose und 6,1% Melezitose in der Manna.

Die Melezitose wurde schon öfters aus Manna oder aus Honig isoliert. Die Herstellung beruht immer auf ihrer Schwerlöslichkeit in Wasser und in Alkohol und geschieht im Prinzip so, dass man alle übrigen Kohlenhydrate weglöst, wonach die Kristalle der Melezitose zurückbleiben. Voraussetzung zu dieser Isolierung ist aber, dass die Melezitose bereits in kristallisierter Form vorliegt; aus klaren Sirupen ist sie bisher wohl noch nicht isoliert worden. Die Mengenangaben über die Ausbeuten bedeuten daher wohl stets nur die untere Grenze, geben aber nicht den wirklichen Gehalt eines Honigs an diesem Kohlenhydrat an. So fanden *Hudson* und *Sherwood*[2]) Melezitose

*) Nach einem Vortrag, gehalten an der 49. Jahresversammlung des Schweizerischen Vereins analytischer Chemiker in Baden am 11. Juni 1937.

[1]) Ztschr. f. angew. Entomologie, 12, 457, 1927.

[2]) C. 1919, I, 659.

in der Manna der Douglastanne in Mengen von 45%. *Tanret*[3]) isolierte aus Pappel-Honigtau 40% dieses Zuckers, *Swann Harding* berichtet, dass Melezitose in Gegenden mit Nadelwald vielfach in Honig gefunden werde, und zwar in Mengen von 5—20%.

Nottbohm und *Lucius*[4]) isolierten Melezitose aus einem Linden-Honigtauhonig, nachdem sie bereits früher[5]) im Lindenhonigtau gefunden worden war.

Melezitose ist ein Trisaccharid. Bei schwacher Hydrolyse zerfällt sie in 1 Molekül Glucose und 1 Molekül Turanose, welch letztere bei starker Hydrolyse in je 1 Molekül Glucose und Fructose gespalten wird.

Ich habe bereits früher[6]) einige Angaben über das analytische Verhalten der Melezitose gemacht, welches ich an einem durch Herrn *Elser* aus Lärchenhonig isolierten und mir gütigst zur Verfügung gestellten Präparat studierte.

Melezitose ist gegen Laugenbehandlung beständig, genau wie Saccharose. Sie enthält somit keine freie Aldehyd- oder Ketongruppe; daher reduziert sie auch nicht direkt Fehlinglösung. Durch die gewöhnliche Saccharoseinversion, halbstündiges Erhitzen im siedenden Wasserbad mit 2 cm^3 n-Salzsäure auf 100 cm^3 Flüssigkeit, wird sie in 1 Molekül Glucose und 1 Molekül Turanose gespalten, welch letztere ungefähr halb so stark reduziert wie Glucose. Nach der Inversion reduziert die Melezitose so, wie wenn sie in 68,8% Invertzucker übergegangen wäre.

Die starke Inversion, Erhitzen in normal-salzsaurer Lösung während 45 Minuten, ergab als Invertzucker berechnet 101, als Glucose berechnet 99,8%. Daraus ergibt sich, dass eine vollständige Spaltung eingetreten, wobei aber ein Teil der Fructose zerstört worden ist.

Bei der Behandlung mit Jod in carbonat-bicarbonatalkalischer Lösung, also bei der jodometrischen Glucosebestimmung nach *Auerbach* und *Bodländer* wird die Melezitose nicht angegriffen, nach der schwachen Inversion wird $^1/_3$, nämlich der der Glucose entsprechende Anteil oxydiert, während die Turanose nicht angegriffen wird. Die Turanose verhält sich somit in dieser Beziehung resistent, gleich wie Saccharose und im Gegensatz zu andern Disacchariden, wie Maltose und Lactose.

Zur Bestimmung der Melezitose fasste ich im Prinzip den von *Elser* versuchten Weg ins Auge, die Saccharose durch Saccharase, Saccharose und Melezitose zusammen durch Salzsäure zu invertieren, wonach sich aus der Differenz beider Bestimmungen ein Mass für die vorhandene Melezitose ergeben sollte.

Nun ist aber bei jedem Eingriff, den man mit dem im Honig vorliegenden Zuckergemisch vornimmt, damit zu rechnen, dass nicht nur ein einziges

[3]) C. 1920, I, 470.
[4]) Z. U. L., **57**, 549, 1929.
[5]) *Abderhalden*, Biochem. Handlexikon, **2**, 434.
[6]) Mitt., **24**, 376, 1933.

Kohlenhydrat verändert wird, sondern gleich mehrere. Solange wir nicht genau wissen, aus was der Honig besteht, tappen wir immer im Unsichern. Nehmen wir z. B. die schwache Inversion mit Salzsäure vor, so wird nicht nur Saccharose und allfällig vorhandene Melezitose aufgespalten, sondern auch das Honigdextrin, welches sich ja nicht nur in Waldhonigen, sondern auch in Blütenhonigen vorfindet, und zwar reduziert das Dextrin nach diesem Eingriff so stark, wie wenn daraus 30% Invertzucker entstanden wären. Ebenso wird auch eine von *E. Parisi*[7]) in rechtsdrehendem Honig aufgefundene Gluc0biose bereits partiell gespalten und vermehrt ihr Reduktionsvermögen, welches anfänglich ungefähr halb so stark ist wie das der Glucose. Ausser diesen sind gewiss noch weitere Saccharide im Honig, welche durch die schwache Inversion wenigstens teilweise gespalten werden. Ich erinnere daran, dass *E. Elser* Anhaltspunkte für das Vorhandensein von Maltose in Honig gefunden hat.

Würden wir also die Differenz zwischen der Säureinversion und der Saccharoseinversion auf Melezitose umrechnen, so müssten wir unbedingt zu hohe Resultate finden, sicherlich sogar Resultate, die vollständig unbrauchbar wären. Ebenso unbrauchbar sind die bisherigen Angaben über den Saccharosegehalt der Honige, weil die genannten Kohlenhydrate alle hier mitspielen.

Um unsere beiden Zuckerarten, die Saccharose und die Melezitose zu bestimmen, ist es daher notwendig, sie vorerst von den andern Zuckerarten abzutrennen.

Ich habe seinerzeit[8]) für Kindermehle ein Verfahren angegeben, um die direkt reduzierenden Kohlenhydrate und auch das Dextrin durch Erhitzen mit Natronlauge zu zerstören, um nachher die Saccharose zu bestimmen. Dieses Verfahren gab befriedigende Resultate bei Anwesenheit von sehr viel Saccharose neben nur wenig direkt reduzierendem Zucker. Bei Honig[9]), wo wir gerade das umgekehrte Verhältnis haben, wenig oder sehr wenig Saccharose neben sehr viel direkt reduzierendem Zucker, erhält man stark braune Lösungen, die sich auch mit Bleiessig nicht befriedigend reinigen lassen und ein nicht unbedeutendes Reduktionsvermögen besitzen.

Ich suchte einen Weg, diese Bräunungen zu vermeiden. Es ist Ihnen allen bekannt, dass bei der Zuckerbestimmung nach Fehling sofort gelbe bis bräunliche Töne und unangenehmer Geruch auftreten, wenn einmal die Fehlinglösung in ungenügender Menge zugegen ist, dass dies aber bei Ueberschuss an Fehlinglösung nicht der Fall ist. Es lag somit nahe, den Zucker durch das Cupriion in alkalischer Lösung zu oxydieren. Bei den ersten Versuchen kochte ich einfach die Zuckerlösungen mit Cuprisulfat und Natronlauge. Später setzte ich etwas Glyzerin zu, um die Ausscheidung von Cupri-oxyd, die zum Stossen der Flüssigkeit Anlass geben kann, zu verhüten.

---

7) Rendiconti della R. Academia Nazionale dei Lincei, **14**, 125, 1931.

8) Mitt., **3**, 334, 1912.

9) Mitt., **24**, 379, 1933.

Die Reaktionsbedingungen wurden genau ausprobiert. Die Kupfer- und Laugemenge richtet sich nach dem vorhandenen direkt reduzierenden Zucker. Nach dem Verkochen wird der grösste Teil der überschüssigen Lauge mit Schwefelsäure neutralisiert; es wird eine bestimmte, kleine Menge Bleiessig zugegeben und filtriert. Das überschüssige Kupfer wird durch den Bleiessig bei richtigem Arbeiten merkwürdigerweise nahezu vollständig ausgefällt. Das Filtrat wird mit Schwefelsäure und Methylorange als Indikator bis zur Orangefärbung neutralisiert, wobei der letzte Rest des Bleis mit dem letzten Kupferrest ausfällt. Man filtriert davon ab und hat nun die analysenfertige Lösung. Damit werden drei Bestimmungen ausgeführt, die direkte Reduktion, die Reduktion nach der Saccharase- und nach der Salzsäureinversion.

Die direkte Bestimmung sollte zwar den Wert Null ergeben, gibt aber in der Regel doch eine kleine Reduktion, welche über die Selbstreduktion der Fehlinglösung hinausgeht und etwa 0,2—0,3 mg Invertzucker ausmacht.

Zur Saccharaseinversion benützte ich ein «Invertasepräparat» der Firma Carl Brandenberger, Limmatplatz, Zürich, welches sich durch grosse Reinheit und ausserordentliche Wirksamkeit auszeichnet. 1 Tropfen invertiert die in 20 cm³ wässriger Zuckerlösung enthaltene Saccharosemenge innert 30 Minuten bei gewöhnlicher Temperatur. Da die Inversionsbedingungen in unserm Filtrat etwas ungünstigere sind, verwende ich 3 Tropfen des Präparates und erwärme 30 Minuten auf 40°.

Die Säureinversion führte ich anfänglich nach Vorschrift des Lebensmittelbuchs mit 2 cm³ n-Salzsäure auf 100 cm³ bzw. 0,4 cm³ auf 20 cm³ Flüssigkeit aus. Es zeigte sich dann, dass diese Säuremenge in unserm Fall längst nicht genügt, da durch die Zuckerzersetzung Säuren aufgetreten sind, deren Salze starke Pufferwirkung ausüben. Während eine reine Saccharoselösung mit steigendem Säurezusatz infolge beginnender Zerstörung der Fructose schwach sinkende Reduktionswerte aufweist, steigen die Werte bei der Inversion unseres Filtrates aus zerstörter Invertzuckerlösung bis zu einem Maximum an. Aehnlich verhält sich auch Melezitose.

20 cm³ wässrige Saccharoselösung mit 3 mg des Zuckers ergaben folgende Invertzuckermengen als Saccharose berechnet:

cm³ n-HCl .	0,4	0,6	0,8
mg Saccharose	3,00	2,91	2,85
% »	100,0	97,0	95,0

Je 20 cm³ Filtrat mit 64 mg zerstörtem Invertzucker ergaben nach Zusatz von 2 mg Saccharose bzw. 2,5 mg Melezitose und 30 Minuten langer Inversion im siedenden Wasserbad mit steigenden Säuremengen nach Abzug der direkten Reduktion der Lösung folgende Resultate:

cm³ n-HCl .	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0
mg Saccharose	1,60	1,86	1,98	2,00	2,00
% »	80,2	93,0	98,8	100,0	100,0
mg Melezitose	1,20	1,88	2,16	(1,89)	2,32
% »	48,0	75,2	86,5	75,7	93,0

Die Melezitose wurde hier auf Grund der Feststellung (l. c.) berechnet, dass bei der gewöhnlichen schwachen Hydrolyse daraus 68,8% reduzierender Zucker als Invertzucker berechnet entstehen.

Bei der Saccharose wird der richtige Wert mit 1,6 cm³ n-Salzsäure erreicht, bei Melezitose noch nicht ganz mit 2 cm³. Höher als 2 cm³ n-Säure auf 20 cm³ wollte ich aber nicht gerne gehen. Es empfiehlt sich daher, einfach den Umrechnungsfaktor entsprechend höher zu wählen. Als richtiger Umrechnungsfaktor, mit dem die gefundene Saccharose multipliziert werden muss, um Melezitose zu erhalten, erwies sich 1,43.

Es wurden nun zwei Zuckermischungen untersucht und folgende Werte erhalten:

	vorhanden	gefunden	vorhanden	gefunden
% Invertzucker	64,0	—	64,0	—
% Saccharose .	10,50	10,50	6,28	6,20
% Melezitose .	5,54	5,35 5,64	10,24	10,30

Die Resultate stimmen sehr befriedigend.

Herrn Dr. *Morgenthaler*, Vorstand der Bienenabteilung der milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt Liebefeld, verdanke ich eine Anzahl authentischer Honige des Jahrgangs 1935, die von Frl. Dr. *Maurizio* pollenanalytisch untersucht worden sind. Daneben hatte ich Gelegenheit, einen Lindenhonigtau zu untersuchen, den ich vor einigen Jahren gewinnen konnte. Nach einer Trockenperiode fing es leicht zu regnen an. Ich sammelte die ersten Regentropfen, die von einer Linde auf einen eisernen Tisch fielen, reinigte die Lösung mit Kieselgur und dampfte sie auf dem Wasserbad ein.

Tab. 1.

Untersuchung von 6 Honigen und einem Honigtau.

Nr.	Bezeichnung	Herkunft	Pollenanalyse, Mengenverhältnis der häufigsten Sporen
288	Löwenzahn	Gwatt	Löwenzahn 18, Sauerampfer 33, Gras 31
294	Löwenzahn	Dürrenast b. Thun	Löwenzahn 46, Sauerampfer 7, Gras 7
510	Vergissmeinnicht	Crana, Tessin	Vergissmeinnicht 87
89	Kastanien	Cavaglia, Puschlav	Edelkastanie 96
328	Klee, Wald, Algen	Heimberg	Hornklee 12, Klee 36, Algen 35, Pilzsporen 26
467	Klee, Bärenklau, Wald, Algen	Dornach	Obst 9, Klee 25, Bärenklau 14, Kreuzblütler 11, Algen 12, Pilzsporen 69
	Lindenhonigtau	Muri bei Bern	Linde

Gehaltszahlen	288	294	510	89	328	467	Lindenhonigtau
Wasser	14,60	12,96	17,00	15,00	17,92	17,52	11,80
direkt reduz. Zucker	66,01	75,13	74,87	64,80	62,54	66,52	21,61
Saccharose	5,61	1,48	0,57	1,32	3,54	2,35	0,28
Melezitose	0,27	1,76	1,62	4,55	0,90	1,36	44,20
Unbestimmter Rest .	13,51	8,67	5,94	14,33	15,10	12,25	22,11

Der Saccharosegehalt schwankt bei diesen 2 Jahre alten Honigen von 0,57—5,61%, der Melezitosegehalt von 0,27—4,55. Der Saccharosegehalt

ist nicht etwa bei den beiden Waldhonigen Nr. 328 und 467 am höchsten, sondern bei dem Löwenzahnhonig Nr. 288, welcher viel Sauerampfer- und Grassporen enthält. Der Melezitosegehalt ist wiederum nicht bei den Waldhonigen am höchsten, sondern beim Kastanienhonig.

Interessant ist der hohe Melezitosegehalt von 44,2% Honigtau. Saccharose kommt daneben nur in Spuren vor.

Der unbestimmte Rest, der bei den Honigen 5,9—15,1% ausmacht, würde sich nur um 1—1,5% vermindert haben, wenn wir Mineralstoffe, Säure und Protein bestimmt hätten. Die Differenz ist darauf zurückzuführen, dass die Berechnung des direkt reduzierenden Zuckers als Invertzucker ungenau ist. Wie oben angedeutet, sind ja noch Kohlenhydrate mit geringerem Reduktionsvermögen im Honig enthalten.

Man könnte nun gegen unsere Saccharose- und Melezitosebestimmung den Einwand erheben, dass auch hier noch eine Täuschung durch andere Zuckerarten, die sich im Honig vorfinden könnten, nicht ausgeschlossen sei. Falls etwa noch andere Di- oder Trisaccharide vorhanden wären, die gegen Lauge beständig wären und nach der Inversion reduzierten, müssten sie, je nachdem sie durch Saccharase gespalten würden oder nicht, als Saccharose oder Melezitose mitbestimmt werden. So sind beispielsweise Raffinose und Trehalose gegen Lauge und Fehlinglösung beständig und werden durch Säure, Raffinose bereits auch durch die Enzyme der Hefe, auch durch unser Invertasepräparat gespalten. Aus Raffinose entsteht dabei 1 Molekül Fructose und 1 Molekül der aus Fructose und Galactose aufgebauten Melibiose, aus Trehalose entstehen 2 Moleküle Glucose.

Durch Bestimmung der Spaltstücke sollte es nun möglich sein, festzustellen, ob die gesuchten Zuckerarten wirklich vorliegen oder nicht. Auf die Bestimmung des Galactosegehaltes der Raffinose musste allerdings verzichtet werden, da genügend empfindliche Methoden dazu nicht bekannt sind. Auch die Glucosebestimmung mit Jod in alkalischer Lösung etwa nach *Kolthoff* oder *Auerbach* und *Bodländer* bot Schwierigkeiten, da die durch die Zerstörung der direkt reduzierenden Zucker entstandenen Säuren ebenfalls Jod verbrauchten. Hingegen gab die Fructosebestimmung einigermassen befriedigende Resultate. Die Bestimmung geschah durch Bildung von Oxymethylfurfurol und Fällung dieses Aldehyds mit Phloroglucin nach *Fiehe*[10]) und Verbrennen des Niederschlags mit Bichromat nach meinem Verfahren[11]). Da mit etwas grössern Flüssigkeitsmengen gearbeitet werden musste und die nach der Zerstörung der direkt reduzierenden Zuckerarten erhaltenen Filtrate infolge ihres ziemlich hohen Salzgehaltes etwas andere Lösungsverhältnisse zeigen als reine Salzsäure derselben Konzentration, musste der Fehler für das in Lösung gebliebene Oxymethylfurfurol-Phloroglucid besonders bestimmt werden. Angesichts der kleinen Zuckermengen in unsern Filtraten wurde auch überall eine bestimmte Menge Saccharose zugesetzt

[10]) Z. U. L., **63**, 288, 1932.
[11]) Mitt., **25**, 252, 1934.

und die entsprechende Menge Fructose vom Resultat abgezogen. Ohne diesen Zusatz übersteigen die erhaltenen Phloroglucidmengen die Löslichkeitsgrenze so wenig, dass die Bestimmung unsicher wird.

Die folgende Zusammenstellung gibt die berechneten und gefundenen Fructosemengen wieder. Die Berechnung geschieht so, dass wir der Theorie gemäss annehmen, dass aus der Saccharose 52,5, aus der Melezitose 35% Fructose entstehen müssen.

Ausser 4 der bereits besprochenen Honige und dem Lindenhonigtau wurde die Bestimmung auch mit Saccharose, Melezitose und Raffinose ausgeführt. Die Raffinose, $C_{18}H_{32}O_{16} + 5\,H_2O$, müsste der Theorie gemäss 30,5% Fructose liefern.

Man fand folgende Werte:

Tab. 2.

Fructosebestimmungen.

	294	510	89	467	Honigtau	3 mg Sacch.	3 mg Melez.	3 mg Raffin.
Berechnet aus Saccharose	0,78	0,30	0,69	1,23	0,15	1,58	—	—
» » Melezitose	0,62	0,57	1,59	0,48	15,47	—	1,05	—
Berechnete Fructose . .	1,40	0,87	2,28	1,71	15,62	1,58	1,05	0,92
Gefundene Fructose . .	1,58	1,24	2,04	1,66	13,50	1,60 mg	0,87 mg	0,76 mg
Differenz	+0,18	+0,37	−0,24	−0,05	−2,1	+0,02	−0,18	−0,16

Obschon die Genauigkeit der Bestimmungen zu wünschen übrig lässt, geht doch aus den Resultaten mit grosser Wahrscheinlichkeit hervor, dass wenn nicht ausschliesslich, so doch vorwiegend nur die beiden Zuckerarten Saccharose und Melezitose nach der Zerstörung des direkt reduzierenden Zuckers übriggeblieben sind, dass also unsere Bestimmungen innert einer gewissen Fehlergrenze richtig sind. Die Methodik wird sich immerhin noch etwas präzisieren lassen und es sollen anlässlich der Bearbeitung der Honigstatistik noch weitere Honige auf den Fructoserest untersucht werden.

Die Einzelheiten der Fructosebestimmung sollen an dieser Stelle im Hinblick auf eine weitere Ueberarbeitung nicht gegeben werden, hingegen bleibt noch einiges über die Saccharose- und Melezitosebestimmung zu ergänzen.

Es handelt sich hier um sehr kleine Zuckermengen, da nur je 10 cm³ des nach der Zuckerzerstörung erhaltenen Filtrats entsprechend 50 mg Honig zur Bestimmung gelangen. Der Saccharose- bzw. Melezitosegehalt darin beträgt höchstens einige mg, oft sogar weniger als 1 mg. Es liegt auf der Hand, dass eine gravimetrische Methode hier nicht in Betracht fällt, falls man nicht etwa die Mikrowaage verwenden will. Ich gehe denn auch titrimetrisch vor in Anlehnung an meine bereits bestehende Zuckertitrationsmethode[12]), verwende aber die gewöhnliche gravimetrische Fehlinglösung, da wegen der puffernden Wirkung der aus dem direkt reduzierenden Zucker entstandenen Salze schwacher Säuren eine stärker alkalische Lösung notwendig ist. Selbstverständlich musste eine besondere Berechnungstabelle ausgearbeitet werden. Sie gilt direkt für Saccharose, obschon ja eigentlich Invertzucker bestimmt wird.

[12]) Mitt., **11**, 129, 1920.

Methodik der Saccharose- und Melezitosebestimmung.

Reagentien: Cuprisulfatlösung, 100 g des kristallisierten Salzes zum *l*, 5 n-Natronlauge, 2 n-Schwefelsäure, n-Salzsäure, 10%ige Essigsäure, Bleiessig nach Pharm. Helv. V.

Fehlinglösung I und II, wie bei der gravimetrischen Zuckerbestimmung.

NaCl-HCL-Lösung, 800 cm³ gesättigte Kochsalzlösung + 70 cm³ konzentrierter HCL zum *l*.

Bicarbonat-Seignettelösung, 80 g Bicarbonat und 50 g Seignettesalz zum *l*.

Saccharase. Sehr gut eignet sich das «Invertasepräparat» der Firma Carl Brandenberger, Söhne, Limmatplatz, Zürich. Die Prüfung des Präparates geschieht wie folgt:

100 mg Saccharose werden in 200 cm³ Wasser gelöst und mit 10 Tropfen des Präparates versetzt. Man lässt bei gewöhnlicher Temperatur stehen und bestimmt von Zeit zu Zeit die Reduktion. Nach höchstens 30 Minuten muss der volle Wert erreicht sein; sonst müsste die vorgeschriebene Menge entsprechend vermehrt werden.

2 g des gut gemischten Honigs werden in einem 50-cm³-Kölbchen genau abgewogen, mit ungefähr 10 cm³ siedendem Wasser übergossen und sofort unter Aufkochen gelöst, um die Enzyme zu zerstören. Man kühlt die Lösung ab, führt sie in einen 200-cm³-Masskolben über, füllt zur Marke auf, schüttelt mit etwas Kieselgur und filtriert.

In einem Teil der Lösung wird der direkt reduzierende Zucker bestimmt. Sein Prozentgehalt, als Invertzucker berechnet, sei p.

50 cm³ der Honiglösung werden zwecks Zerstörung des direkt reduzierenden Zuckers in einem 200-cm³-Erlenmeyerkolben mit 1 cm³ Glyzerin (d 1,23), p . 0,35 cm³ der 10%igen Cuprisulfatlösung und p . 0,1 cm³ 5 n-Natronlauge versetzt, unter Zugabe von etwas Bimssteingranula zum Sieden erhitzt und 15 Minuten ziemlich lebhaft gekocht.

Wenn der Invertzuckergehalt bereits bekannt ist, kann man auch gleich 0,5 g Honig in dem Erlenmeyerkolben abwägen, mit den Reagentien versetzen und nach Verdünnen mit etwas Wasser kochen.

Nach dem Kochen kühlt man die Flüssigkeit ab und setzt unter kräftigem Umschwenken p . 0,09 cm³ 2 n-Schwefelsäure zu, um den grössten Teil der Lauge zu neutralisieren. Sollte die Reaktion gegen Azolithmin sauer sein, so müssten wieder einige Tropfen Lauge zugesetzt werden. Man fügt nun p . 0,02 cm³ Bleiessig zu, wieder unter kräftigem Umschütteln, führt die Flüssigkeit in einen 100-cm³-Masskolben über, füllt zur Marke auf und filtriert durch ein Faltenfilter.

Das Filtrat wird in einem Messzylinder aufgefangen und gemessen. Man fügt Methylorange hinzu und neutralisiert mit 2 n-Schwefelsäure auf Orange, d. h. gegen die Färbung, die man erhält, indem man 100 cm³ destilliertes Wasser mit 0,5 cm³ 10%iger Essigsäure ansäuert und mit Methylorange versetzt. Die Vergleichung geschieht vorteilhaft in Reagensgläsern in der Aufsicht, wobei ein Komparator benützt werden kann. Die verbrauchte Schwefelsäure wird aufnotiert.

Beim Neutralisieren trübt sich die Flüssigkeit meist infolge Ausscheidung eines Restes von Bleisulfat. Man setzt, um das Filtrieren zu erleichtern, etwas Kieselgur zu und filtriert.

Mit dem Filtrat wird die direkte Reduktion, die Reduktion nach Saccharaseinversion und nach Salzsäureinversion ausgeführt. Ausserdem wird die Selbstreduktion der Fehlinglösung durch einen Blindversuch festgestellt. Dieser Blindversuch ist von Zeit zu Zeit zu wiederholen, da die Fehlinglösung nicht ganz unverändert bleibt. Ausser dem Blindversuch mit Wasser allein wird ein solcher mit Zusatz von 3 Tropfen Saccharaselösung vorgenommen, um ein- für allemal festzustellen, ob und wieviel Fehlinglösung das Enzym selbst verbraucht.

Das Erhitzen mit Fehlinglösung geschieht im siedenden Wasserbad. In einem Emailtopf von 750 cm^3 Inhalt können bis 4 Proben zugleich erhitzt werden.

Direkte Reduktion: 10 cm^3 Filtrat werden in einem 50 cm^3 fassenden Reagensglas mit 10 cm^3 Wasser verdünnt und wie unten angegeben mit 5 cm^3 Fehlinglösung in Reaktion gebracht.

Reduktion nach Saccharaseinversion: 10 cm^3 Filtrat werden in einem 50-cm^3-Reagensglas mit 3 Tropfen Saccharaselösung versetzt und 30 Minuten in einem auf 40° erwärmten Wasserbad gehalten. Man verdünnt mit Wasser auf 20 cm^3, setzt 5 cm^3 Fehlinglösung zu und fährt fort, wie unten angegeben.

Reduktion nach Salzsäureinversion: 10 cm^3 Filtrat werden in einem 50-cm^3-Reagensglas mit 2 cm^3 n-Salzsäure und 7,6 cm^3 Wasser versetzt und in ein siedendes Wasserbad gestellt. Nach Wiederbeginn des Siedens erhitzt man 30 Minuten, kühlt ab, versetzt mit 5,4 cm^3 einer Fehlinglösung, welcher man auf je 5 cm^3 0,4 cm^3 5 n-Natronlauge zugesetzt hat und fährt fort, wie angegeben. Man darf nicht etwa die invertierte Lösung zunächst mit der Natronlauge neutralisieren und dann erst mit der gewöhnlichen Fehlinglösung versetzen, da es bei diesem Vorgehen kaum ausbleiben kann, dass an einzelnen Stellen der Lösung vorübergehend alkalische Reaktion herrscht und damit Zucker zerstört wird.

Das Erhitzen mit Fehlinglösung geschieht folgendermassen:

Nachdem die auf 20 cm^3 verdünnte Zuckerlösung in einem 50 cm^3 fassenden Reagensglas mit 5 cm^3 Fehlinglösung versetzt worden ist, wird sie in ein siedendes Wasserbad gestellt und vom Wiederbeginn des Siedens an genau 5 Minuten erhitzt. Man kühlt mit kaltem Wasser und zentrifugiert in einer Gerber-Zentrifuge 5 Minuten bei einer Umdrehungszahl von 1200 pro Minute. Die Flüssigkeit wird nun abgegossen und das zurückbleibende Cuprooxyd in 1 cm^3 NaCl-HCl-Lösung gelöst, sogleich mit 2 cm^3 Bicarbonat-Seignettelösung versetzt und mit Jod titriert. Bei sehr hohen Zuckergehalten entsteht bei Zusatz der Bicarbonat-Seignettesalzlösung eine Trübung. In diesem Fall fügt man nochmals 1—1,5 cm^3 NaCl-HCl und die doppelte Menge Bicarbonat-Seignettesalzlösung zu.

Bei der Jodtitration gibt man zunächst so viel Jodlösung zu, dass die Flüssigkeit ausgesprochen grün wird. Bei höhern Gehalten entsteht bei Beginn des Zusatzes eine weissliche Fällung von Cuprojodid, die sich bei

weiterm Jodzusatz wieder auflöst. Die grüne Färbung soll der einer Fehlingschen Kupferlösung entsprechen, welcher man auf 20 cm³ 0,5 cm³ 0,02 n-Jod zugesetzt hat.

Man fügt nun einen Tropfen Stärkelösung zu und nimmt die entstehende Dunkelblaufärbung durch Thiosulfatlösung in geringem Ueberschuss wieder weg. Nun titriert man mit der Jodlösung wieder auf Dunkelblau, und zwar ist nach dem ersten Schimmer von Dunkelblau in der Regel noch 0,01 cm³ Jod zuzufügen, damit die Färbung einige Zeit bestehen bleibt.

Bei den grössten Mengen, die hier in Betracht kommen — die Methode geht bis zu 20 mg Saccharose — ist das Titrieren in den Reagensgläsern nicht mehr bequem. Man giesst dann die Flüssigkeit nach Zusatz der Hauptmenge der Jodlösung in einen Erlenmeyerkolben und titriert darin zu Ende.

Berechnung: Man zieht zunächst vom Jodverbrauch vor der Inversion und nach Salzsäureinversion den Wert des Blindversuchs ab, vom Jodverbrauch nach der Saccharaseinversion den mit Saccharasezusatz erhaltenen Blindwert. Aus der Differenz berechnen wir nach Tabelle 3 den Zuckergehalt als mg Saccharose.

Es sei a = Zucker bei der direkten Reduktion,
b = Zucker nach der Salzsäureinversion.
c = Zucker nach der Saccharaseinversion,

Es ist dann: Saccharose = b—a,
Melezitose = 1,43 (c—b).

Die verwendeten 10 cm³ Filtrat entsprechen etwas weniger als 0,05 g Honig, da das erste Filtrat bei der Neutralisation mit Schwefelsäure etwas verdünnt worden ist. Die Werte müssen daher mit $\frac{F + s}{F}$ multipliziert werden, wobei F = Anzahl cm³ des 1. Filtrates, s = cm³ zugesetzte Schwefelsäure. Durch Verdoppelung des Wertes erhalten wir dann die beiden Zuckerarten in Prozenten.

Tab. 3.

Berechnung der mg Saccharose aus dem Verbrauch an 0,02 n-Jodlösung.

cm³ 0,02 n-J	mg Saccharose	cm³ 0,02 n-J	mg Saccharose	cm³ 0,02 n-J	mg Saccharose	cm³ 0,02 n-J	mg Saccharose
0,1	0,12	1,4	1,07	3,6	2,49	24,0	16,67
0,2	0,23	1,6	1,18	3,8	2,63	24,5	17,07
0,3	0,32	1,8	1,30	4,0	2,76	25,0	17,50
0,4	0,40	2,0	1,41	4,2	2,89	25,5	17,89
0,5	0,48	2,2	1,55	4,4	3,03	26,0	18,31
0,6	0,55	2,4	1,68	21,0	14,50	26,5	18,76
0,7	0,62	2,6	1,82	21,5	14,83	27,0	19,25
0,8	0,69	2,8	1,95	22,0	15,20	27,5	19,74
0,9	0,76	3,0	2,08	22,5	15,55	28,0	20,25
1,0	0,82	3,2	2,22	23,0	15,92		
1,2	0,95	3,4	2,36	23,5	16,29		

Liegt der Jodverbrauch zwischen 4,4 und 21 cm^3, so wird der Saccharosegehalt daraus durch Multiplikation mit 0,69 berechnet.

Wenn wir nun auf den eigentlichen Zweck der vorliegenden Arbeit zurückkommen, eine Melezitosebestimmung und zugleich eine einwandfreie Saccharosebestimmung auszuarbeiten, so dürfte dieses Ziel erreicht sein. Ob damit für die Beurteilung der Honige bezüglich Echtheit etwas gewonnen ist, lässt sich heute noch nicht sagen; das wird sich erst erweisen, wenn eine grössere Anzahl einwandfrei echter Honige, die zugleich pollenanalytisch untersucht sind, analysiert sein werden. Es dürfte sich dann vielleicht zeigen, dass sich der Gehalt an Saccharose und Melezitose je nach den einzelnen Honigtypen in gewissen Grenzen hält. Es wird sich dann wohl auch ergeben, dass der Saccharosegehalt stets viel kleiner ist, als man bisher angenommen hatte. Ich möchte daher die Herren Kantonschemiker einladen, soweit es ihre Zeit erlaubt, bei der Analyse der Statistik-Honige auch die vorliegende Methode zu berücksichtigen. Die Mehrarbeit ist keine sehr grosse, die Methode eignet sich gut für Serienarbeiten.

Zusammenfassung.

Im Hinblick auf die in den Jahren 1937 und 1938 auszuführende schweizerische Honigstatistik wurde eine Methode der Saccharose- und Melezitosebestimmung ausgearbeitet.

In dem bisherigen Saccharosewert ist die Melezitose mit inbegriffen, und zwar reduziert sie dabei 0,7mal so stark wie Saccharose. Auch das Honigdextrin, die von *Parisi* in Koniferenhonig aufgefundene Glucobiose und möglicherweise noch andere Kohlenhydrate beeinflussen und fälschen den auf übliche Weise erhaltenen Saccharosewert.

Es wird ein Verfahren beschrieben, welches darauf beruht, dass der direkt reduzierende Zucker durch Verkochen mit Cuprisulfat und Natronlauge zerstört und dass die dabei unverändert bleibenden Zuckerarten Saccharose und Melezitose durch Inversion bestimmt werden. Durch Saccharase wird die Saccharose, durch Salzsäure werden Saccharose und Melezitose invertiert; die Differenz, mit 1,43 multipliziert, ergibt die Melezitose.