

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Band: 51 (1960)
Heft: 5

Artikel: Zur Untersuchung und Beurteilung von ausländischem Bienenhonig auf Grund des Hydroxymethylfurfurol- und Diastasegehaltes
Autor: Hadorn, H. / Kovacs, A.S.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982929>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 19.11.2024

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

Zur Untersuchung und Beurteilung von ausländischem Bienenhonig auf Grund des Hydroxymethylfurfurol- und Diastasegehaltes

Von *H. Hadorn* und *A. S. Kovacs*

(Laboratorium des VSK, Basel, und Zentrallabor der GEG, Hamburg)

In den letzten Monaten sind öfters amerikanische, vorwiegend mexikanische Bienenhonige importiert worden, die den hiesigen Vorschriften nicht entsprechen. Ein beträchtlicher Teil dieser Honige gab eine deutlich positive Farb-reaktion nach *Fiehe*, was die Anwesenheit von Hydroxymethylfurfurol (HMF)*) beweist. Bei einzelnen Honigen war auch der Diastasegehalt stark vermindert. In Deutschland werden Honige, die eine positive *Fiehe*-Reaktion geben, beanstandet. Auch nach dem Schweiz. Lebensmittelbuch¹⁾ sind derartige Honige als verfälscht anzusehen, da bei Anwesenheit von Hydroxymethylfurfurol auf einen Zusatz von künstlichem Invertzucker zu schliessen ist.

Die Lieferanten dieser fraglichen Honige beteuerten mehrfach, dass die Ware garantiert echt und unverfälscht sei. Eine Vermischung des Honigs mit Invertzucker sei bei mexikanischen und kalifornischen Honigen ganz ausgeschlossen. Die übrige Zusammensetzung des Honigs war durchaus normal, und bei der Sinnenprüfung wurden oft Honige mit stark erhöhtem HMF-Gehalt besonders aromatisch und gut beurteilt, so dass eine Verfälschung recht unwahrscheinlich erschien. Die Vermutung lag nahe, dass die erhöhten HMF-Gehalte auf eine Wärmeeinwirkung zurückzuführen sind.

Im Zentrallabor der GEG, Hamburg, sowie im VSK-Labor, Basel, wurden zu gleicher Zeit ziemlich eingehende Untersuchungen mit diesen fraglichen, von verschiedenen Amtsstellen beanstandeten überseeischen Bienenhonigen durchgeführt. Inzwischen haben wir auch die interessante Arbeit von *Schade, Marsh* und *Eckert*²⁾ erhalten, die an der Universität von Kalifornien durchgeführt worden ist. Sie befasst sich mit der Diastaseaktivität und den Hydroxymethylfurfurolgehalten der Honige und deren Nützlichkeit beim Nachweis einer Hitzealterung des Honigs. Unsere Untersuchungen bestätigten in vollem Umfang die Befunde von *Schade, Marsh* und *Eckert*. Da jene Arbeit in Europa noch wenig bekannt ist und sowohl in Deutschland als auch in der Schweiz aus der *Fiehe*-Reaktion gelegentlich unrichtige Schlüsse gezogen werden, möchten wir unsere Ergebnisse an dieser Stelle veröffentlichen.

*) Im deutschen Schrifttum war bis vor kurzem die heute veraltete Bezeichnung Oxymethylfurfurol (OMF) üblich.

I. Nachweis und Bestimmung von Hydroxymethylfurfurol

a) Bemerkungen zur Fiehe-Reaktion

Die seit Jahren in zahlreichen Laboratorien zur Honiguntersuchung benutzte Farbreaktion nach *Fiehe* ²⁾ ist eine qualitative Nachweisreaktion für HMF und beruht auf der Rotfärbung des mit Aether aus dem Honig extrahierten HMF mit Resorcin-Salzsäure. Bei niedrigen Gehalten an HMF (unter 5 mg^{0/0}) ist die Reaktion nicht immer eindeutig. Man erhält mehr oder weniger kräftige Rotfärbungen, die bei längerem Stehen wieder verschwinden. Bereits *Fiehe* weist darauf hin, dass solche rosa bis orange-roten Färbungen, die wieder verschwinden, nicht berücksichtigt werden sollen. Nach Angaben von *Fiehe* gelangen stets Spuren von Fructose in den Aetherauszug und verursachen diese schwachen Färbungen.

Die Empfindlichkeit der *Fiehe*-Reaktion wurde im GEG-Labor sowohl an wässrigen HMF-Lösungen sowie an einem echten, direkt vom Imker stammenden Heidehonig überprüft. Dem echten Honig, mit negativer *Fiehe*-Reaktion, wurden bekannte Mengen HMF zugesetzt. In Tabelle 1 sind die Resultate der *Fiehe*-Reaktion sowie eines papierchromatographischen Nachweises ⁴⁾⁵⁾ zusammengestellt. Die papierchromatographische Nachweisgrenze liegt bei 1 mg^{0/0} HMF. In reinen wässrigen HMF-Lösungen lässt sich mittels der *Fiehe*-Reaktion ein Gehalt von 2 mg^{0/0} HMF noch deutlich nachweisen. Bei Honig dagegen ist die *Fiehe*-Reaktion weniger empfindlich. Erst bei 5 mg^{0/0} ist sie deutlich positiv, während bei 3 mg^{0/0} zweifelhafte Deutungen entstehen können.

b) Quantitative Bestimmung von HMF nach Winkler

Schon *Winkler* ⁶⁾ war der Ansicht, dass die an sich wertvolle *Fiehe*-Reaktion nicht ganz befriedigen könne, da sie besonders bei Honigen mit geringen HMF-Gehalten nicht eindeutig ausfalle und auch keine Schätzung der vorhandenen Menge erlaube. So könne gelegentlich bei älteren oder erhitzten, unverfälschten Honigen ein positiver Ausfall der *Fiehe*-Reaktion eine Verfälschung mit Kunsthonig oder Invertzucker vortäuschen ⁷⁾. *Winkler* hat daher zwei quantitative Methoden zur Bestimmung des HMF-Gehaltes von Honig ausgearbeitet. Eine spektralphotometrische Methode geht auf *Schou* und *Abildgaard* ⁸⁾ zurück und beruht auf der Messung der Lichtabsorption im ultravioletten Bereich. HMF besitzt eine charakteristische Absorptionsbande mit einem Maximum bei 282 m μ . Da diese Methode nur in Laboratorien durchführbar ist, die im Besitze eines UV-Spektralphotometers sind, hat *Winkler* noch eine zweite, allgemein anwendbare kolorimetrische Methode ausgearbeitet. Sie gründet sich auf eine Farbreaktion, die HMF in wässriger Lösung mit p-Toluidin und Barbitursäure gibt und die in jedem Kolorimeter quantitativ ausgewertet werden kann. Das Absorptionsmaximum der entstehenden Färbung liegt bei 550 m μ . Die Farbe ist aber nicht beständig. Die grösste Farbtiefe wird 3 bis 4 Minuten nach Zugabe der Reagenzien erreicht, dann verblasst die Farbe allmählich wieder. Man muss

Tabelle 1
Qualitativer Hydroxymethylfurfurolnachweis

HMF-Gehalt mg%	Reine wässrige Lösung		Deutscher Heidehonig mit HMF-Zusätzen	
	<i>Fiebe</i> -Reaktion	Papier- chromato- graphisch	<i>Fiebe</i> -Reaktion	Papierchromatographisch
1,0	sehr schwach positiv	positiv	negativ, schwache Rotbraunfärbung, die nach spätestens 20 Minuten fast vollständig verblasst ist.	deutlich positiv
3,0	schwach, aber deutlich positiv	positiv	leichte Rotfärbung, die nach ca. 20 Minuten schwächer wird und nach 1 Stunde noch sehr schwach sichtbar ist. Bei dieser Färbung: Zweifel.	deutlich positiv
5,0	sehr stark positiv	positiv	Rotfärbung, die in ihrer Intensität nach ca. 20 Minuten nachlässt, aber noch nach 1 Stunde in Form einer Rotbraunfärbung vorhanden ist. Diese Rotfärbung: positiv.	deutlich positiv
7,0	sehr stark positiv	positiv	starke Rotfärbung, die in ihrer Intensität nach ca. 20 Minuten nachlässt, aber noch nach 1 Stunde in Form einer Rotbraunfärbung vorhanden ist. Diese Rotfärbung: positiv.	deutlich positiv
9,0	sehr stark positiv	positiv	starke Rotfärbung, die trotz Ausflockung noch nach 1 Stunde deutlich sichtbar ist.	deutlich positiv

daher ziemlich rasch arbeiten, hat aber genügend Zeit für genaue Messungen, da die Extinktion während etwa einer Minute konstant bleibt.

Reproduzierbarkeit der Eichkurve

Die Eichkurven haben wir mit verdünnten wässrigen Lösungen von reinem Hydroxymethylfurfurol (Fa. Schuchardt) aufgenommen. Im VSK-Labor wurde genau nach der Vorschrift von *Winkler* gearbeitet. Die Messung der Extinktion erfolgte in einem *Beckman*-Spektralphotometer Modell B bei 550 m μ in 1 cm-Küvetten. Die Eichkurven verlaufen linear und sind gut reproduzierbar. In einer ersten Versuchsserie, bei welcher ein technisches p-Toluidinpräparat verwendet wurde, erhielten wir Werte, die genau mit den von *Winkler* angegebenen übereinstimmten, so dass zur Berechnung die von *Winkler* angegebene Formel benützt werden kann. Bei späteren Versuchen mit chemisch reinem p-Toluidin verlief die Eichkurve ebenfalls linear, aber etwas steiler, so dass zur Berechnung ein anderer Proportionalitätsfaktor benutzt werden musste (nach *Winkler* Faktor = 19,2; nach eigenen Versuchen mit chemisch reinem p-Toluidin Faktor = 18,3). Wichtig ist, dass für die Eichkurven reinstes HMF verwendet und die Lösungen ganz frisch benützt werden. In verdünnter wässriger Lösung kann der Gehalt an HMF infolge Zersetzung oder Oxydation rasch abnehmen.

Im GEG-Labor wurden die Extinktionen mit einem *Lange*-Kolorimeter gemessen (Grünfilter max. 525 m μ). Um genügend Reaktionslösung für die Füllung der Küvetten (10 ml) zu erhalten, wurde der Ansatz etwas abgeändert. Anstatt 5 ml p-Toluidinlösung, wie es *Winkler* vorschreibt, wurden 7 ml zugesetzt. Die Eichkurve verlief bis zu einer Konzentration von 14 mg⁰/₀ HMF im Honig (oder 280 γ HMF im Ansatz von 10 ml) streng linear. Bekannte Mengen HMF, die einer Honiglösung zugefügt wurden, fand man zu 98 ⁰/₀ wieder, womit die Befunde von *Winkler* bestätigt sind.

Die genaue Arbeitsvorschrift nach *Winkler* wird am Schluss dieser Arbeit mitgeteilt.

II. Verhalten des Honigs beim Erwärmen

a) Zunahme des HMF-Gehaltes

Schade, Marsh und *Eckert* haben durch Erwärmungsversuche verschiedener Honige bei Temperaturen zwischen 35 und 55⁰ C bewiesen, dass der HMF-Gehalt beim Erwärmen ansteigt. Bei 35⁰ C ist der Anstieg sehr langsam, nach zehnwöchiger Erwärmung ist der HMF-Gehalt je nach Honig von ursprünglich 0,4 bis 0,5 mg⁰/₀ auf 3,5 bis 4,7 mg⁰/₀ angestiegen. Bei höheren Temperaturen erfolgt der HMF-Anstieg viel rascher. Bei 45⁰ C wird bereits nach zwei Wochen ein Wert von 2,5 mg⁰/₀ erreicht, und bei 55⁰ beträgt der HMF-Gehalt schon nach einer Woche 5 bis 6 mg⁰/₀. Obige Autoren sind der Ansicht, dass in gewissen Gegenden Kaliforniens an der Sonne Lufttemperaturen von 45 bis 55⁰ C erreicht

werden und deshalb analoge Veränderungen des Honigs während des Transportes und der Lagerung durchaus möglich sind.

Bevor wir im Besitze der Publikation von *Schade, Marsh* und *Eckert* waren, hatten wir ganz ähnliche Versuche mit europäischen und amerikanischen Honigen durchgeführt. Einige dieser Versuche, die, wie bereits erwähnt, die Ergebnisse obiger Autoren vollständig bestätigen, sollen hier mitgeteilt werden.

Intermittierende Erwärmung auf 50°

Um die Verhältnisse der Lagerung von Honig in tropischen Gebieten zu imitieren, wurde ein echter, in jeder Hinsicht einwandfreier deutscher Heidehonig in einem verschlossenen Gefäß auf 50° erwärmt (Aufwärmungszeit 3 Std.) und während des Tages (12 Std.) im Brutschrank bei 50° aufbewahrt. Ueber Nacht wurde die Honigprobe herausgenommen und bei Zimmertemperatur gelagert, am nächsten Morgen wieder aufgewärmt und während 12 Stunden bei 50° bebrütet. Schon nach zwei Tagen dieser intermittierenden Erwärmung zeigte der Honig deutliche Veränderungen, wie aus Tabelle 2 hervorgeht. Es haben sich nachweisbare Mengen HMF gebildet, und die Diastasezahl war vermindert. Auf die Wiedergabe der weiteren Resultate wird verzichtet, da die Temperatur bei der intermittierenden Erwärmung am dritten Tag versehentlich während längerer Zeit 65° betrug. Der HMF-Gehalt stieg dabei stark an, und die Diastasezahl sank auf 23,8.

Tabelle 2

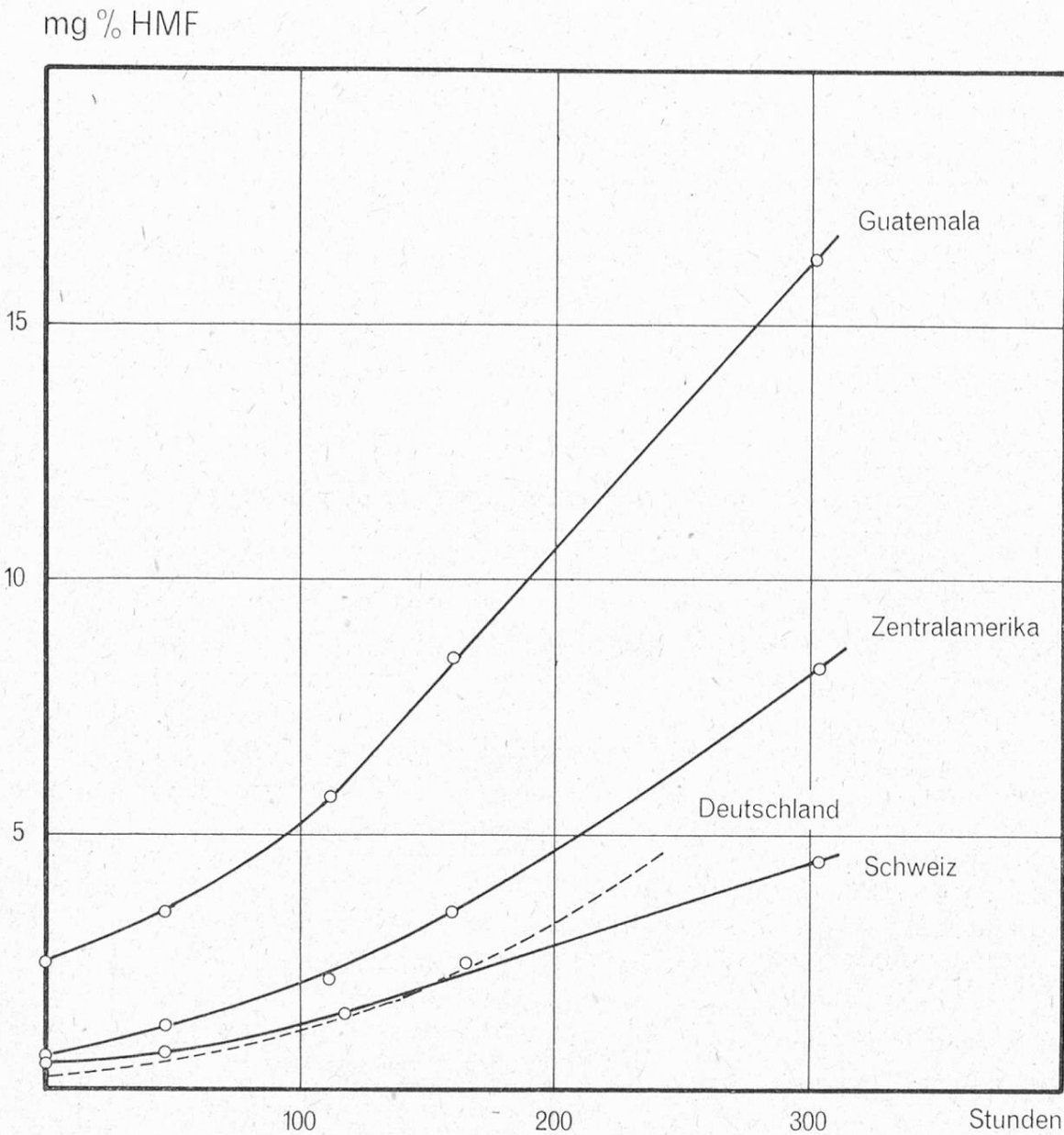
Intermittierende Erwärmung von deutschem Heidehonig auf 50°

Wärmebehandlung des Honigs	Papierchromatographischer Nachweis von HMF	Fiehe-Reaktion	HMF-Gehalt Barbitursäure-Methode	Diastasezahl nach <i>Gothe</i>
1. Vor dem Erwärmen	negativ	negativ	mg% 0,3	50,0
2. In 3 Stunden von 22° C auf 50° C erwärmt (Probe nach 3 Stunden)	negativ	negativ (schwache Orangefärbung, die nach 2 Minuten verschwindet)	0,3	50,0
3. 12 Stunden bei 50° erwärmt, dann über Nacht abgekühlt	negativ	negativ (wie unter 2)	0,3	50,0
4. Am nächsten Tag erneut während 12 Stunden bei 50° erwärmt	positiv	zweifelhaft (deutliche Rotfärbung, die etwa 20 Minuten anhält, dann von der Mitte her verblasst. Aussenränder bleiben etwa 30 Minuten rot.)	1,2	38,5

Diese im GEG-Labor ausgeführten Versuche mit intermittierender Erwärmung entsprechen einigermaßen den Verhältnissen in den Tropen, sie eignen sich jedoch nicht gut für die graphische Darstellung der thermischen Veränderungen. Es wurden daher einige Versuche mit kontinuierlicher Erwärmung durchgeführt.

Kontinuierliche Erwärmung

Die Honigproben wurden in geräumigen, gut verschlossenen Wägegläsern im Trockenschrank bei der gewünschten Temperatur erwärmt und von Zeit zu Zeit Proben davon untersucht.



Figur 1
HMF-Zunahme bei kontinuierlicher Erwärmung der Honige auf 50° C

In Figur 1 ist die HMF-Zunahme beim Erwärmen auf 50° C für 4 Honige dargestellt. Beim Schweizer Honig mit anfänglich niedrigem HMF-Gehalt (0,5 mg⁰/o) steigt der HMF-Gehalt beim Erwärmen am langsamsten an. Während der ersten 40 Stunden nimmt er nur wenig zu. Später biegt die Kurve nach oben ab und steigt steiler an. Das letzte Kurvenstück nach ca. 120 Stunden verläuft linear. Ganz ähnlich verhält sich der deutsche Heidehonig beim Erwärmen auf 50° C. Die Kurve steigt etwas steiler an als beim Schweizer Honig. Aus diesem Kurvenverlauf ist zu schliessen, dass Honige, die bereits einen etwas erhöhten HMF-Gehalt (2 bis 5 mg⁰/o) aufweisen, schon bei relativ schonender Wärme- einwirkung eine starke Erhöhung des HMF-Gehaltes erfahren. In Figur 1 wird dieses Verhalten durch die beiden amerikanischen Honige veranschaulicht. Beim Honig aus Zentralamerika mit einem ursprünglichen HMF-Gehalt von 0,6 mg⁰/o steigt die Kurve viel weniger steil an als beim Guatemala-Honig, der zu Beginn der Versuche bereits 2,5 mg⁰/o HMF enthielt.

Bei einem kalifornischen Bienenhonig, der mit einem extrem hohen HMF-Gehalt von 18,8 mg⁰/o importiert wurde, verlief die Kurve während 200 Stunden ziemlich steil und praktisch linear (in Figur 1 nicht eingezeichnet). Der HMF-Gehalt betrug nach 200stündiger Erwärmung auf 50° C 38,5 mg⁰/o.

Tabelle 3

Kontinuierliche Erwärmung bei 50° C von deutschen und überseeischen Honigen

Erwärmungszeit in Stunden	HMF-Gehalt in mg ⁰ /o			Diastasezahl nach <i>Gothe</i>		
	Deutschland	Kalifornien	Mexiko	Deutschland	Kalifornien	Mexiko
0	—	1,6	—	50	29,4	29,4
12	0,3	1,8	0,1	42,7	20,4	23,8
24	0,4	2,3	0,25	42,7	20,4	23,8
36	0,5	2,9	0,3	42,7	20,4	23,8
48	0,6	3,0	0,4	42,7	20,4	23,8
60	0,6	3,2	0,4	42,7	20,4	23,8
72	0,75	3,7	0,5	38,5	20,4	23,8
84	0,9	3,7	0,5	38,5	17,9	20,4
96	1,1	4,2	0,7	38,5	15,9	17,9
108	1,2	4,4	1,0	34,0	15,9	15,9
120	1,4	4,6	1,1	38,5	17,9	17,9
132	1,5	4,9	1,3	34,0	13,9	15,9
144	1,8	5,4	1,5	29,4	13,9	15,9
156	2,4	6,7	1,6	29,4	13,9	13,9
168	2,4	7,2	2,0	26,6	10,9	13,9
180	2,5	7,3	2,3	26,6	10,9	13,9
192	2,6	7,6	2,4	26,6	10,9	13,9
204	3,1	8,0	2,6	26,6	10,9	10,9
216	3,9			23,8		
228	4,1			23,8		
240	4,3			20,4		

Zu ganz ähnlichen Ergebnissen führten im Zentrallabor der GEG analog durchgeführte Erwärmungsversuche mit einem deutschen Heidehonig und mit zwei ausländischen Honigen. Den bei 50° bebrüteten Honigen wurden alle 12 Stunden Proben entnommen und darin der Gehalt an HMF sowie die Diastasezahl nach *Gothe* bestimmt. Die Resultate sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Die beiden Honige mit anfangs niedrigen HMF-Gehalten (deutscher Heidehonig und mexikanischer Honig) ergeben Kurven, die ziemlich flach und während ca. 140 Stunden ungefähr parallel zur Kurve des Schweizer Honigs verlaufen. (In Figur 1 ist nur die Kurve des deutschen Honigs eingezeichnet.)

Der kalifornische Honig mit einem Anfangswert von 1,6 mg⁰/_o HMF zeigte einen ziemlich raschen Anstieg des HMF-Gehaltes.

Temperaturabhängigkeit der HMF-Zunahme

Die Bildung des HMF ist stark von der Erwärmungstemperatur abhängig, worauf schon *Schade*, *Marsh* und *Eckert* hingewiesen haben. Bei der Lagerung des Honigs bei Zimmertemperatur bleibt der HMF-Gehalt nicht etwa konstant, sondern er nimmt sehr langsam zu. Nach 13 bis 15 monatelanger Lagerung haben obige Forscher bei verschiedenen Honigen Erhöhungen des HMF-Gehaltes von 0,6 bis 3,3 mg⁰/_o beobachtet. Bei höheren Temperaturen nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit stark zu, was durch einige Versuche bei verschiedenen Temperaturen gezeigt wird (vgl. Tab. 4 und 5).

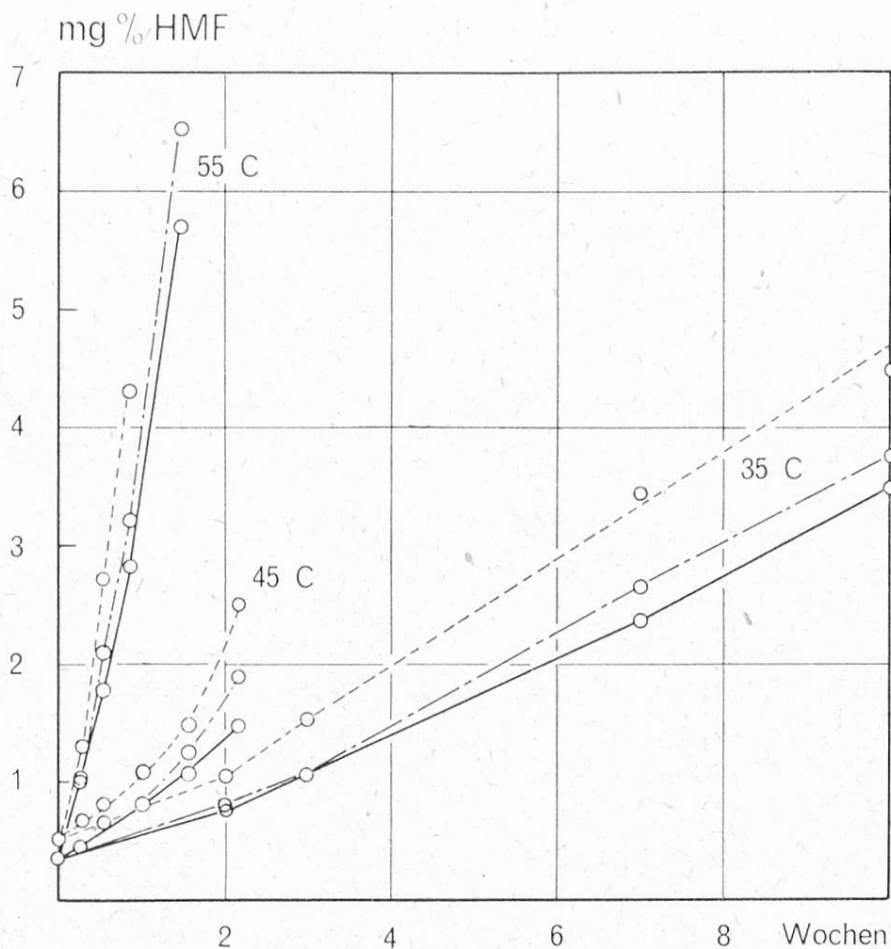
Tabelle 4
Zunahme des HMF-Gehaltes bei Erwärmung auf 35° C

Erwärmungszeit in Stunden	Yucatan-Bienenhonig	Mexikanischer Bienenhonig Oro de Yucatan light amber
0	5,6 mg ⁰ / _o HMF	0,58 mg ⁰ / _o HMF
91	5,95 mg ⁰ / _o HMF	—
241	6,35 mg ⁰ / _o HMF	—
431	—	1,25 mg ⁰ / _o HMF

Tabelle 5
Zunahme des HMF-Gehaltes bei Erwärmung auf 60° C

Erwärmungszeit in Stunden	Yucatan-Bienenhonig	Mexikanischer Bienenhonig Oro de Yucatan light amber
0	5,6 mg ⁰ / _o HMF	0,58 mg ⁰ / _o HMF
45	13,8 mg ⁰ / _o HMF	3,46 mg ⁰ / _o HMF
117	34,9 mg ⁰ / _o HMF	13,6 mg ⁰ / _o HMF

Die Temperaturabhängigkeit der HMF-Bildung wird sehr anschaulich durch eine Kurvenschar dargestellt, welche *Schade, Marsh* und *Eckert* mit 3 Alfalfa-Honigen erhielten, die sie bei 35, 45 und 55° C bebrütet hatten. In der Figur 2, die der Arbeit von *Schade* entnommen wurde, erkennt man, dass bei 35° C die HMF-Bildung relativ langsam erfolgt, sehr viel rascher bei 45 und 55° C.



Figur 2

HMF-Zunahme beim Erwärmen von Honig auf verschiedene Temperaturen

Schade, Marsh und *Eckert* haben durch ihre Versuche bewiesen, dass auch der Wassergehalt des Honigs einen Einfluss auf die HMF-Bildung hat. In wasserreichen Honigen (16 bis 18 % Wasser) erfolgt die HMF-Bildung wesentlich rascher als in wasserarmen Honigen mit 12,5 bis 14 % Wasser.

b) Rückgang der Diastaseaktivität infolge Wärmeeinfluss

Die Honigdiastase wird meistens nach der Methode von *Gothe*⁹⁾ oder *Auzinger*¹⁰⁾ bestimmt. Bei diesen Methoden erfasst man vorwiegend die Wirkung der α -Amylase. Diastase gilt allgemein als ziemlich wärmeresistent. Nach Angaben des Handbuches der Lebensmittelchemie¹¹⁾ hemmt einstündiges Erhitzen

des Honigs bis 60° die diastatische Kraft nicht, von 65° ab wird sie geschwächt, und bei 85 bis 90° ist die Honigdiastase zerstört. *Fiehe*¹²⁾ war der Meinung, dass bei der im Grosshandel üblichen Behandlung des Honigs, wenn die Temperatur von 60° nicht überschritten wird, eine Schwächung der diastatischen Fermente nicht oder nur in geringem Umfange stattfindet. Nach *Kiermeier* und *Köberlein*¹³⁾ kann auf Grund der Diastasezahl nach *Gothe* überhaupt nicht mit Sicherheit entschieden werden, ob ein Honig erhitzt worden ist oder nicht, weil die Diastasezahl im Honig von Natur aus sehr stark variiert und sich naturreine Honige beim Erwärmen unterschiedlich verhalten, was möglicherweise auf verschiedene pH-Werte zurückzuführen ist.

Eigene Versuche im GEG-Labor haben eindeutig ergeben, dass bei längerem Erhitzen des Honigs auf 50° die Diastase geschwächt wird (siehe Tab. 3). Sowohl bei einem deutschen Heidehonig als auch bei kalifornischen und mexikanischen Honigen war bereits nach 12stündiger Erwärmung ein deutlicher Rückgang der Diastasezahl festzustellen. Nach 204 Stunden war die Wirksamkeit auf 37 bis 53 % des ursprünglichen Wertes gesunken. Aus diesen Versuchen muss geschlossen werden, dass bei ungünstiger, langer Lagerung des Honigs in tropischen Gebieten neben einem starken Anstieg des HMF-Gehaltes auch mit einem Verlust an Honigdiastase zu rechnen ist. Bei Zimmertemperatur ist dagegen die Diastase im Honig sehr beständig. *Schade* und Mitarbeiter haben in 9 von 10 verschiedenen Honigen, die während 13 bis 15 Monaten bei 20° aufbewahrt worden waren, nur ganz unbedeutende, statistisch nicht gesicherte Abnahmen der Diastaseaktivität beobachtet. Ein einziger Honig zeigte einen Rückgang der Diastasezahl von 20,0 auf 16,6.

III. Besprechung der Untersuchungsergebnisse von Honigen des Handels

Im Laufe der letzten Monate sind in unseren Laboratorien zahlreiche Honige untersucht worden. Bei den meisten Proben handelte es sich um ausländische Offertmuster, die hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung und auch geschmacklich in Ordnung waren, aber oft wegen zu hohem HMF-Gehalt den in Deutschland und in der Schweiz geltenden Anforderungen nicht entsprachen. In der Tabelle 6 sind 38 ausländische Honige, die im Zentrallabor der GEG in Hamburg untersucht worden sind, zusammengestellt und nach steigendem HMF-Gehalt geordnet. Die Werte schwanken zwischen 0,2 und 11,7 mg⁰/₀ HMF. Neben dem HMF-Gehalt wurde in sämtlichen Honigen auch die Diastasezahl nach *Gothe* bestimmt. Zwischen HMF-Gehalt und Diastasezahl besteht keine Korrelation. Man findet Honige mit sehr geringem HMF-Gehalt (0,2 bis 1,3 mg⁰/₀), deren Diastasezahl von 6,5 bis 38,5 variiert. Die niedrige Diastasezahl des Honigs Nr.10 ist sicher nicht auf eine Schädigung durch Wärme oder zu lange Lagerung zurückzuführen, weil der HMF-Gehalt sehr niedrig ist. Vermutlich handelt es sich um einen von Natur aus diastasearmen Honig.

Tabelle 6
Analysen von ausländischen Honigen (aus dem GEG-Labor)

Nr.	Provenienz	HMF mg‰	Diastase- zahl nach <i>Gothe</i>	Nr.	Provenienz	HMF mg‰	Diastase- zahl nach <i>Gothe</i>
1	Mittelamerika	0,2	38,5	20	Mittelamerika	3,1	6,5
2	Mittelamerika	0,2	29,4	21	Kalifornien	3,1	6,5
3	Kalifornien	0,5	23,8	22	Mittelamerika	3,2	8,3
4	Mittelamerika	0,7	23,8	23	Unbekannt	3,2	10,9
5	Mittelamerika	0,8	29,4	24	Kalifornien	4,8	17,9
6	Südamerika	0,9	8,3	25	Kalifornien	5,5	17,9
7	Mittelamerika	1,0	23,8	26	Südamerika	5,8	17,9
8	China	1,1	23,8	27	Mittelamerika	5,9	8,3
9	Südamerika	1,1	10,9	28	Mittelamerika	5,9	6,5
10	Südamerika	1,3	6,5	29	China	6,6	10,9
11	China	1,4	17,9	30	China	7,3	17,9
12	Mittelamerika	2,1	8,3	31	China	7,4	17,9
13	Südamerika	2,1	6,5	32	China	7,4	17,9
14	Kalifornien	2,2	17,9	33	China	7,5	17,9
15	Mittelamerika	2,3	23,8	34	Südamerika	7,8	17,9
16	Mittelamerika	2,4	10,9	35	China	7,9	13,9
17	Mittelamerika	2,9	23,8	36	China	9,4	17,9
18	Mittelamerika	2,9	23,8	37	Mittelamerika	9,6	23,8
19	Mittelamerika	3,0	23,8	38	Südamerika	11,7	13,9

Diastasearme Honige kommen in der Natur öfters vor und sind nach unseren Erfahrungen unter den Uebersee-Honigen häufiger als bei europäischen Honigen.

Die Diastase stammt zum weitaus grössten Teil aus dem Bienenkörper (Speicheldrüsen) und nur zu einem unbedeutenden Teil aus dem Nektar und den Pollen. Nach Angaben des Handbuches ¹¹⁾ (S. 332) sollen bei reichen Trachtquellen diastaseärmere Honige entstehen, weil die Bienen den Nektar sofort in die Wabenzellen ablegen und der Honig weniger mit Speichelsäften vermischt wird als bei wenig ergiebigen Trachtquellen. Damit wäre die Erklärung gegeben für die gelegentlich auftretenden diastasearmen ausländischen Honige aus subtropischen Gebieten, wo häufiger sehr gute Trachtquellen zu erwarten sind als in Mitteleuropa.

Unter den untersuchten Proben findet man auch Honige mit auffallend hohem HMF-Gehalt, deren Diastasezahl noch durchaus im normalen Rahmen liegt (Beispiele: Tabelle 6, Honige Nr. 30–38). Solche Honige haben sich zweifellos unter dem Einfluss der Wärme verändert. Dabei hat sicher auch die Diastaseaktivität abgenommen. Es folgt daraus, dass solche Honige im frischen Zustand recht hohe Diastasezahlen aufgewiesen haben.

In der Tabelle 7 sind die Resultate von Honigmustern zusammengestellt, die im VSK-Labor analysiert wurden. Da zwischen HMF-Gehalt und Diastasezahl keine Korrelation besteht, wurden die Honige nach Provenienz geordnet. Die

Tabelle 7
Analyse von Bienenhonigen des Handels (USK-Labor)

Nr.	Herkunft Bezeichnung	HMF nach <i>Winkler</i> mg%	Reaktion <i>Fiehe</i>	Diastasezahl nach <i>Schade</i>	Reaktion <i>Auzinger</i>
1	Kalifornischer Alfalfa extra light amber	2,4	—	7,7	—
2	Kalifornischer Alfalfa light amber	2,6	—	9,1	—
3	Kalifornischer Honig White Mixed Flowers	2,7	—	11,5	—
4	Mexikanischer Bienenhonig Oro de Yucatan light amber	0,58	—	18,1 18,5	—
5	Mexikanischer Bienenhonig Oro de Yucatan	0,7	—		—
6	Yucatan Honig light amber neue Ernte	0,9	negativ		normal
7	Mexikanischer Bienenhonig Oro de Yucatan	0,96	—	17,9	—
8	Mexikanischer Bienenhonig Yucatan	1,0	—	16,5 15,8	—
9	Mexikanischer Bienenhonig Yucatan	1,15	—	20,0	—
10	Mexikanischer Bienenhonig Oro de Yucatan	2,1	—	13,0	normal
11	Bienenhonig Yucatan	2,1	—	16,7	—
12	Mexikanischer Bienenhonig Oro de Yucatan	2,3	—		normal
13	Yucatan Bienenhonig H 218	3,4	—	14,4	—
14	Yucatan Bienenhonig H 181	3,8	—	15	—
15	Mexikanischer Bienenhonig Yucatan light amber				
	1. Muster	3,9	—	13,4	normal
	2. Muster	4,1		14,3	

16	Yucatan Bienenhonig Typmuster 3066	4,05	—	14,3	—
17	Mexikanischer Bienenhonig Yucatan light amber	4,55	—		normal
18	Mexikanischer Yucatan Schleuderhonig	6,7	—	10,0	normal
19	Mexikanischer Bienenhonig high grown Nr. 4391	0,5	negativ	17,3	normal
20	Mexikanischer Bienenhonig	6,1	positiv		normal
21	Mexikanischer Bienenhonig light amber	7,5	positiv		normal
22	Guadelaja Honig Nr. B 469	0,37	—	21,4	normal
23	Argentinischer Honig white	0,4	—	12,5	—
24	Chile Honig	0,5	—	4,1	normal
25	Tampico Honig light amber	2,1	—	14,4	normal
26	Tampico Honig light amber	2,1	—	14,3	normal
27	Ausländischer Bienenhonig 1. Muster	4,3			
	2. Muster	7,2	positiv	10,7	normal
28	Ausländischer Bienenhonig auf 50° C aufgewärmte Ware	6,5	—	10,4	normal
29	Ausländischer Bienenhonig wurde nicht über 40° C erwärmt 1. Muster	8,3	—	9,6	
	2. Muster	12,1	—	7,5	normal
30	Schweizer Bienenhonig		—	18,2	normal
31	Schweizer Bienenhonig Marchissy	0,2	—	22	normal
32	Schweizer Bienenhonig Etzgen	0,6	—	17,6	normal
33	Schweizer Bienenhonig Schaffhausen	0,65	—	18,8	normal
34	Schweizer Bienenhonig Baden	1,15	—	16,9	normal
35	Kastanienhonig, Kt. Tessin	0,18	negativ	11,4	normal
36	Lindenhonig, Ringgenberg, Kt. Bern	0,37	negativ	19,5	normal
37	Alpenhonig, Mürren, Kt. Bern	0,27	negativ	13,3	normal

Zahlen bewegen sich innerhalb ähnlicher Grenzen wie bei den in Hamburg untersuchten Honigen und streuen ebenfalls stark.

Neben der Bestimmung des HMF-Gehaltes wurden verschiedene Honige auch nach *Fiehe* auf HMF geprüft. Bei Honigen mit mehr als 4 mg⁰/₀ war die *Fiehe-Reaktion* positiv, was sich mit der in Hamburg festgestellten Empfindlichkeit der *Fiehe-Reaktion* deckt.

Im VSK-Labor wurde die Diastasezahl nach *Schade* und Mitarbeitern bestimmt. Ausserdem wurden die Honige nach der im Lebensmittelbuch angegebenen Methode von *Auzinger* auf Diastase geprüft. Diese Reaktion wird als normal bezeichnet, wenn nach 1 Stunde die Stärke vollständig abgebaut ist. Wie man aus den Zahlen der Tabelle 7 ersieht, geben selbst Honige mit niedrigen Diastasezahlen (um 4) noch eine normale *Auzinger-Reaktion*.

Zu erwähnen sind die am Schluss aufgeführten Schweizer Honige, die durchwegs niedrige HMF-Gehalte und ziemlich hohe Diastasezahlen aufweisen. Dies deckt sich mit den Resultaten, die *Winkler* ⁶⁾ an unverfälschten deutschen Honigen gefunden hat.

In Tabelle 8 sind die Analysen einiger Honige zusammengestellt, die wir im Detailhandel z.T. in Warenhäusern, in Läden von Grossverteilerorganisationen und bei privaten Lebensmittelhändlern gekauft hatten. Mehrere dieser Honige fallen durch sehr hohe HMF-Gehalte und ziemlich niedrige Diastasezahlen auf und sind sicher nicht mehr als echte naturreine Honige anzusehen. Honig Nr. 8 in Tabelle 8 ist eindeutig überhitzt worden, da die Diastase fast vollständig zerstört und der HMF-Gehalt stark angestiegen ist.

Tabelle 8

Analyse von ausländischen Bienenhonigen der Konkurrenz (USK-Labor)

Nr.	Herkunft Bezeichnung	HMF nach <i>Winkler</i> mg ⁰ / ₀	Reaktion <i>Fiehe</i>	Diastasezahl nach <i>Schade</i>	Reaktion <i>Auzinger</i>
1	Ausländischer Bienenhonig	0,68	negativ	15	normal
2	Guatemala Bienenhonig	2,4	—	15,3	normal
3	Mexikanischer Bienenhonig	2,7	—	13,2	normal
4	Ausländischer Bienenhonig	5,4	—	1,8	Diastase abgeschwächt
5	Zentralamerikanischer Bienenhonig	5,4 5,4	positiv	12,7 12,8	normal
6	Echter Zentralamerikanischer Bienenhonig	7,0	—	5,7	normal
7	Ausländischer Bienenhonig	10,4	—	7,7	normal
8	Ausländischer Bienenhonig	11,8	—	—	Diastase abgeschwächt
9	Kalifornischer Bienenhonig	18,7	—	5,4	normal

Diastasezahlen, die in verschiedenen Laboratorien ermittelt wurden, dürfen übrigens nie streng miteinander verglichen werden. Im GEG-Labor wurde die Diastasezahl nach *Gothe* bestimmt, im VSK-Labor nach der etwas genaueren kolorimetrischen Methode von *Schade* und Mitarbeitern. Nach der Methode von *Gothe* wird bekanntlich eine grössere Anzahl von Proben mit steigenden Honigmengen (0,1 bis 1 g) und je 4 ml 1%iger Stärkelösung während 1 Stunde bei 40° gehalten. Nachher wird zu sämtlichen Proben Jodlösung zugesetzt und visuell beurteilt, in welchem Glas die Stärke eben noch vollständig abgebaut wurde.

Bei der Methode *Schade* wird nur *eine* Probelösung von Honig und Stärke bei 40° inkubiert. In regelmässigen Zeitabständen entnimmt man mittels einer Pipette Proben und versetzt sie mit Jodlösung. Die Blaufärbung wird photometrisch gemessen und der Endpunkt des Stärkeabbaues graphisch ermittelt.

Im Prinzip sollten beide Methoden übereinstimmende Resultate liefern, was auch der Fall ist, wenn die Bestimmungen im gleichen Labor und mit der gleichen Stärke ausgeführt werden. Die in verschiedenen Laboratorien ermittelten Diastasezahlen weichen oft recht beträchtlich voneinander ab. Bei der *Gothe*-Methode können subjektive Fehler gemacht werden bei der Beurteilung der Jodfärbung, wenn entschieden wird, ob in den verschiedenen Gläsern die Stärke vollständig oder nur teilweise abgebaut ist. Daneben ist auch die Qualität der verwendeten löslichen Stärke von grossem Einfluss auf die Diastasezahl. *Von Fellenberg*¹⁴⁾ hat bereits darauf hingewiesen, dass sich bei seinen enzymatischen Versuchen zwei verschiedene Sendungen «löslicher Stärke nach *Zulkowsky*» ganz unterschiedlich verhielten. Er gibt daher eine eigene Vorschrift zur Herstellung löslicher «Standardstärke» an. Wir haben mit 2 Präparaten löslicher Stärke *Riedel de Haën* für den gleichen Honig ebenfalls ganz verschiedene Diastasezahlen erhalten.

Mexikanischer Honig

Diastasezahl mit altem Stärkepräparat	= 13,1
Diastasezahl mit neuem Stärkepräparat	= 6,1

Das alte Präparat «löslicher Stärke» war bedeutend weiter abgebaut (dextriniert) als das neue und gibt daher viel höhere Diastasezahlen.

Um wirklich vergleichbare Diastasezahlen zu erhalten, muss unbedingt die lösliche Stärke standardisiert und vor dem Gebrauch kontrolliert werden. Wir beabsichtigen, in einer späteren Veröffentlichung über derartige Versuche zu berichten.

IV. Vorschläge zur Beurteilung ausländischer Honige

Die Diastasezahl echter, naturreiner Honige variiert innerhalb weiter Grenzen. Die Diastasezahl allein ist daher kein sicheres Kriterium zur Beurteilung, ob ein Honig überhitzt worden ist oder nicht, worauf schon *Kiermeier* und *Köberlein*¹³⁾ hingewiesen haben. Diese Autoren empfehlen daher auch noch die Saccharaseaktivität zu ermitteln.

Bei länger dauernder Erwärmung oder Lagerung des Honigs bei höherer Temperatur (40 bis 50°) steigt der ursprünglich verschwindend kleine Gehalt an HMF stark an. Gleichzeitig sinkt auch die Diastasezahl etwas. Erst beim Erhitzen auf 70 bis 80° wird die Diastase praktisch vollständig inaktiviert. Nach Untersuchungen von *Winkler* beträgt der HMF-Gehalt von echten, naturreinen Honigen nicht mehr als 4 mg⁰/₀. Auf Grund unserer Untersuchungen an europäischen und überseeischen Honigen dürften etwa folgende in Tabelle 9 aufgestellten Beurteilungsnormen gelten.

Tabelle 9
Vorschlag über Beurteilungsnormen für Bienenhonig

	HMF-Gehalt mg ⁰ / ₀	Diastasezahl (Diastase- Einheiten)
1. Einwandfreie, naturreine Honige	0,1—4,0	über 8
2. Von Natur aus diastasearme, jedoch naturreine Honige ohne Wärmeschädigung	nicht über 4,0	4—8
3. Honige mit leichter Wärmeschädigung infolge leichter Ueberhitzung oder langer Lagerung bei subtropischen Temperaturen (35—50°)	4—8	über 8
4. Ueberhitzte Honige	über 4,0	unter 4

Methode zur kolorimetrischen Bestimmung des Hydroxymethylfurfurols (HMF) nach Winkler

Reagentien

Barbitursäurelösung: 500 mg bei 105° C getrocknete Barbitursäure werden mit etwa 70 ml Wasser in ein 100 ml-Messkölbchen gespült, durch Erwärmen im Wasserbad gelöst und nach dem Erkalten zur Marke aufgefüllt.

p-Toluidin-Reagens: 10,0 g p-Toluidin (Smp. 45° C) werden in etwa 50 ml Isopropanol, evtl. durch schwaches Erwärmen auf dem Wasserbad, gelöst, unter Nachwaschen mit etwas Isopropanol in ein 100 ml-Messkölbchen übergeführt und mit 10,0 ml Eisessig versetzt. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wird mit Isopropanol zur Marke aufgefüllt. Die anfangs farblose oder schwach gelbliche Lösung färbt sich bald bräunlich, was ihre Brauchbarkeit jedoch nicht beeinträchtigt. In brauner Flasche aufbewahrt, ist die Lösung etwa ein halbes Jahr haltbar.

Analysenvorschrift

In 2 Reagensgläser werden je 2,0 ml Honig-Grundlösung 1 : 5 (z.B. 2,00 g Honig in 10 ml) einpipettiert und je 5,0 ml p-Toluidinreagens zugegeben. In das eine Reagensglas gibt man nun 1,0 ml Wasser (Blindprobe), in das andere

1,0 ml Barbitursäurelösung und schüttelt um. Die Zugabe der Reagentien soll ohne lange Zwischenpause geschehen und in etwa 1 bis 2 Minuten beendet sein. 3 bis 4 Minuten nach Zugabe der Barbitursäure wird die Extinktion der Probe gegen die Blindprobe in einem Photometer bei 550 m μ oder im Stufenphotometer mit Filter S 55 gemessen. Zur Berechnung dient die maximale Extinktion, die nach etwa 3 bis 4 Minuten erreicht wird.

Der HMF-Gehalt des Honigs in mg je 100 g Honig errechnet sich dann nach *Winkler*:

$$\text{mg/100 g HMF} = 19,2 \cdot \frac{\text{Extinktion}}{\text{Schichtdicke (in cm)}}$$

Anmerkung. Eine Eichkurve mit reinsten Reagentien gab in obiger Formel den Proportionalitätsfaktor 18,3.

Zusammenfassung

1. Die *Fiehesche* Reaktion zum Nachweis von Hydroxymethylfurfurol (HMF) im Honig wurde überprüft. Die Reaktion ist nicht sehr empfindlich und erlaubt keine Abschätzung der vorhandenen HMF-Menge. Bei Gehalten unter 5 mg⁰/₀ ist die *Fiehesche* Reaktion unsicher und lässt verschiedenartige Deutungen zu.
2. Die quantitative Methode von *Winkler*, die auf der Farbreaktion des HMF mit p-Toluidin und Barbitursäure beruht, wurde überprüft. Sie ist rasch und einfach durchführbar und liefert zuverlässige Resultate.
3. Mit verschiedenen einheimischen und ausländischen Honigen wurden Erwärmungsversuche angestellt und die Zunahme an HMF und die Abnahme der Diastasezahl verfolgt.
Bei längerer Erwärmung bei relativ niedrigen Temperaturen 35 bis 50⁰ ist ein deutlicher Anstieg des HMF-Gehaltes und eine Abnahme der Diastasezahl feststellbar. Bei Honigen aus subtropischen Gebieten sind daher erhöhte HMF-Gehalte durchaus möglich, ohne dass es sich um sogenannte «überhitzte» oder verfälschte Ware handeln muss.
4. Ueber 80 Honige des Handels wurden untersucht und die HMF-Gehalte und die Diastasezahlen mitgeteilt.
5. Es werden Normen zur Beurteilung der Honige auf Grund des HMF-Gehaltes und der Diastasezahl vorgeschlagen.

Résumé

1. La réaction de *Fiehe*, pour déceler l'hydroxyméthylfurfurol (HMF) dans le miel, a été examinée. Cette réaction n'est pas très sensible et ne permet pas d'estimer la quantité de HMF présente; pour des teneurs en HMF inférieures à 5 mg⁰/₀, elle n'est pas sûre.
2. On a examiné la méthode quantitative de *Winkler*, basée sur la réaction colorée donnée par le HMF avec la p-toluidine et l'acide barbiturique. Cette méthode est rapide, d'exécution simple et donne des résultats sûrs.

3. Divers miels indigènes et étrangers ont été chauffés et l'on a suivi l'augmentation de la teneur en HMF et la diminution du pouvoir diastasique.
Un chauffage prolongé, effectué à des températures relativement basses (35—50°), conduit à une nette augmentation de la teneur en HMF et à une diminution du pouvoir diastasique. Il s'ensuit que des miels provenant de régions subtropicales peuvent présenter naturellement des teneurs élevées en HMF sans avoir été «surchauffés» ou falsifiés.
4. Plus de 80 miels du commerce ont été examinés et on y a dosé leur teneur en HMF et mesuré leur pouvoir diastasique.
5. En conclusion, des normes sont proposées pour l'appréciation des miels; ces normes reposent sur leur teneur en HMF et leur pouvoir diastasique.

Summary

1. Critical examination of *Fiehe's* reaction and of *Winkler's* quantitative reaction for the determination of hydroxymethyl furfuraldehyde (HMF) in honey; the latter, based on the coloured reaction given by HMF with p-toluidine and barbituric acid, was found to be simple, quick and sure.
2. By heating honey, its HMF content increases and its diastasic power diminishes; this also occurs at relatively low temperatures (30—50°). It follows that honeys from subtropical countries may naturally have a high HMF content, without having been «overheated» or adulterated.
3. More than 80 commercial honeys have been examined and their HMF content and diastasic power determined. Norms are proposed for the values given by these two determinations.

Literatur

- 1) Schweizerisches Lebensmittelbuch, IV. Auflage, S. 160 (1937), Verlag: Zimmermann & Co., Bern.
- 2) *J. E. Schade, G. L. Marsh und J. F. Eckert*, Food Research **23**, 446 (1958).
- 3) *J. Fiehe*, Z.U.L. **15**, 492 (1908), **16**, 75 (1908).
- 4) *A. Mehlitz und H. Drews*, Industrielle Obst- und Gemüseverwertung **44**, 141 (1959).
- 5) *B. Weger*, Fruchtsaftindustrie **2**, 128 (1957).
- 6) *O. Winkler*, Z.U.L. **102**, 161 (1955).
- 7) *O. Lüning*, Z.U.L. **29**, 117 (1915).
- 8) *S. A. Schou und J. Abildgaard*, Z.U.L. **68**, 502 (1934).
- 9) *F. Gothe*, Z.U.L. **28**, 286 (1914).
- 10) *A. Auzinger*, Z.U.L. **19**, 72 und 353 (1910).
- 11) Handbuch der Lebensmittelchemie Bd. V, 331 (1938), Verlag J. Springer, Berlin.
- 12) *J. Fiehe*, Z.U.L. **61**, 420 (1931).
- 13) *F. Kiermeier und W. Köberlin*, Z.U.L. **98**, 329 (1954).
- 14) *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **43**, 88 (1952).

Wir möchten an dieser Stelle unseren Mitarbeitern, Herrn Dr. *H. Suter* (Basel) und Herrn *P. Denker* (Hamburg), für die Durchführung der zahlreichen Versuche bestens danken.