

| | |
|---------------------|--|
| Zeitschrift: | Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène |
| Herausgeber: | Bundesamt für Gesundheit |
| Band: | 65 (1974) |
| Heft: | 2 |
| Artikel: | Gaschromatographische Bestimmung der Zuckerarten in Honig |
| Autor: | Hadorn, H. / Zürcher, K. / Strack, Ch. |
| DOI: | https://doi.org/10.5169/seals-983686 |

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: 28.01.2026

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

Gaschromatographische Bestimmung der Zuckerarten in Honig

H. Hadorn, K. Zürcher und Ch. Strack,
Zentrallaboratorium der Coop Schweiz, Basel

Einleitung

Bienenhonig besitzt im allgemeinen ein ausgeglichenes, aber ziemlich kompliziertes Zuckerspektrum. Mengenmäßig überwiegen immer Glucose und Fructose. Bei einseitiger Tracht macht sich das Zuckerbild der Rohstoffe (Nektar, Honigtau) im Zuckerspektrum des Honigs bemerkbar. Nach der neueren Literatur (1, 2, 10, 11, 15) kommen im Honig neben den Monosacchariden Glucose und Fructose verschiedene Di-, Tri- und Oligosaccharide vor. In untenstehender Aufzählung haben wir — soweit bekannt — die Bausteine und das Reduktionsvermögen dieser im Honig nachgewiesenen Zucker angegeben.

Monosaccharide

| | |
|----------|-----------------------|
| Fructose | (Ketose, reduzierend) |
| Glucose | (Aldose, reduzierend) |

Disaccharide

| | |
|---------------|---------------------------------------|
| Maltose | (Glucose-Glucose, reduzierend) |
| Kojibiose | |
| Turanose | (Glucose-Fructose, reduzierend) |
| Isomaltose | (Glucose-Glucose, reduzierend) |
| Saccharose | (Glucose-Fructose, nicht reduzierend) |
| Maltulose | (Glucose-Fructose, reduzierend) |
| Isomaltulose | (Glucose-Fructose, reduzierend) |
| Nigerose | (Glucose-Glucose, reduzierend) |
| Trehalose | (Glucose-Glucose, nicht reduzierend) |
| Gentiobiose | (Glucose-Glucose, reduzierend) |
| Laminaribiose | (Glucose-Glucose, reduzierend) |

Tri- und Oligosaccharide

| | |
|-------------|--|
| Erlose | α -Maltosil- β -D-fructofuranosid (= Fructomaltose) |
| Panose | |
| Maltotriose | (Glucose-Glucose-Glucose, reduzierend) |

| | |
|--------------------------------|---|
| Kestose | (reduzierendes Oligosaccharid) |
| Isomaltotriose | (Glucose-Glucose-Glucose, nicht reduzierend) |
| Melezitose | (Glucose-Fructose-Glucose, nicht reduzierend) |
| Isopanose | (Glucose-Glucose-Glucose, reduzierend) |
| 6 α -Glucosilsaccharose | |
| 3 α -Isomaltosilglucose | |
| Raffinose | (Galactose-Glucose-Fructose, nicht reduzierend) |
| Isomaltotetrose | |
| Isomaltopentose | |

Die Trennung und die quantitative Bestimmung der verschiedenen Zuckerarten war früher außerordentlich aufwendig. *White* und *Hoban* (2) trennten die Zukkergemische säulenchromatographisch. *Maurizio* hat mehrere Arbeiten über papierchromatographische Zuckerbestimmungen in Honigen, Honigtau und Nektar veröffentlicht (3, 4, 5). Die papierchromatographische Trennung der Zuckerarten gelingt meistens gut; die Methode ist jedoch langwierig und die quantitative Auswertung der nach dem Besprühen mit bestimmten Reagenzien erhaltenen Zuckerflecken erfordert viel Uebung und Sorgfalt.

In neuerer Zeit wurde versucht, die Gaschromatographie zur Trennung der Zuckerarten heranzuziehen. *Pourtallier* (6) gibt eine Vorschrift für die gaschromatographische Bestimmung der Zucker im Honig. *Müller* und *Göke* (7) haben die Zuckerarten in verschiedenen Lebensmitteln, u. a. auch in Honig, bestimmt.

Bernardini-Battaglini und *Bosi* (1, 12) haben 100 Honigproben gaschromatographisch analysiert und diskutieren die Analysenresultate. *Bosi* (8) beschreibt ein Verfahren zur gaschromatographischen Bestimmung der Zuckerarten in Nektar.

Eigene Versuche

Vor der gaschromatographischen Trennung werden die Zucker in ihre Silyläther übergeführt. Die Trennung der Silyläther bietet auf einer geeigneten Säule keine allzu großen Schwierigkeiten. Das Hauptproblem besteht darin, sämtliche Zuckerarten quantitativ in ihre Silylderivate überzuführen, ohne daß sich einzelne Zucker zersetzen. Im Handel werden bereits verschiedene Reagenzien zur Silylierung angeboten. Die angegebenen Arbeitsvorschriften sind meistens sehr knapp gehalten, und es fehlen Angaben darüber, wie sich die einzelnen Zuckerarten verhalten. Wir haben zahlreiche systematische Versuche mit verschiedenen Silylierungs-Reagenzien und deren Gemischen durchgeführt. Hierüber soll an anderer Stelle berichtet werden. Einzelne Reagenzien silylieren die Monosaccharide vollständig und quantitativ. Bei den Di- und Trisacchariden bleibt die Reaktion meist unvollständig, auf dem Gaschromatogramm erscheinen dann für jedes Di- oder Trisaccharid eine ganze Anzahl oft schlecht aufgetrennter Peaks. Nach längeren Versuchen ist es uns gelungen, durch eine Kombination von BSA* und TSIM* eine vollständige Silylierung aller Zuckerarten zu erzielen.

* Siehe Arbeitsvorschrift

Eine gewisse Komplikation entsteht dadurch, daß die direkt reduzierenden Zuckerarten nach dem Silylieren auf dem Gaschromatogramm jeweils 2 Peaks der α - und der β -Form bilden. Die Zucker liegen in wässriger Lösung und auch im Honig in der Cycloform (Pyranose-Typ) vor. Es stellt sich jeweis ein Gleichgewicht zwischen α - und β -Form ein. Beim Silylieren entstehen die entsprechenden α - und β -Silyläther. Eine Ausnahme machen nur jene Zucker, die keine reduzierend wirkende Aldehyd- oder Keto-Gruppe oder die entsprechende Halbacetalform aufweisen.

Es sind dies Saccharose, Raffinose und Melezitose. Auf dem Gaschromatogramm bilden sie nur je einen Peak (siehe Abb. 1). Bei der Auswertung der Gaschromatogramme müssen für jede Zuckerart die Peaks der α - und der β -Form addiert werden. Erfahrungsgemäß variiert das Verhältnis von α - zu β -Form im silylierten Zuckergemisch ziemlich stark.

Modellmischung

Zur Ueberprüfung der Methode haben wir aus 7 reinen Zuckerarten eine Mischung hergestellt, welche etwa dem Zuckerspektrum eines Honigs entsprach. Die Zucker wurden in 50 volumprozentigem Alkohol gelöst. Von dieser Mischung wurde ein aliquoter Teil in gleicher Weise wie die zu untersuchenden Honigproben im Spitzkölbchen am Rotationsverdampfer zur Trockne eingedampft, anschließend silyliert und das Gemisch der Zucker-Silyläther gaschromatogra-

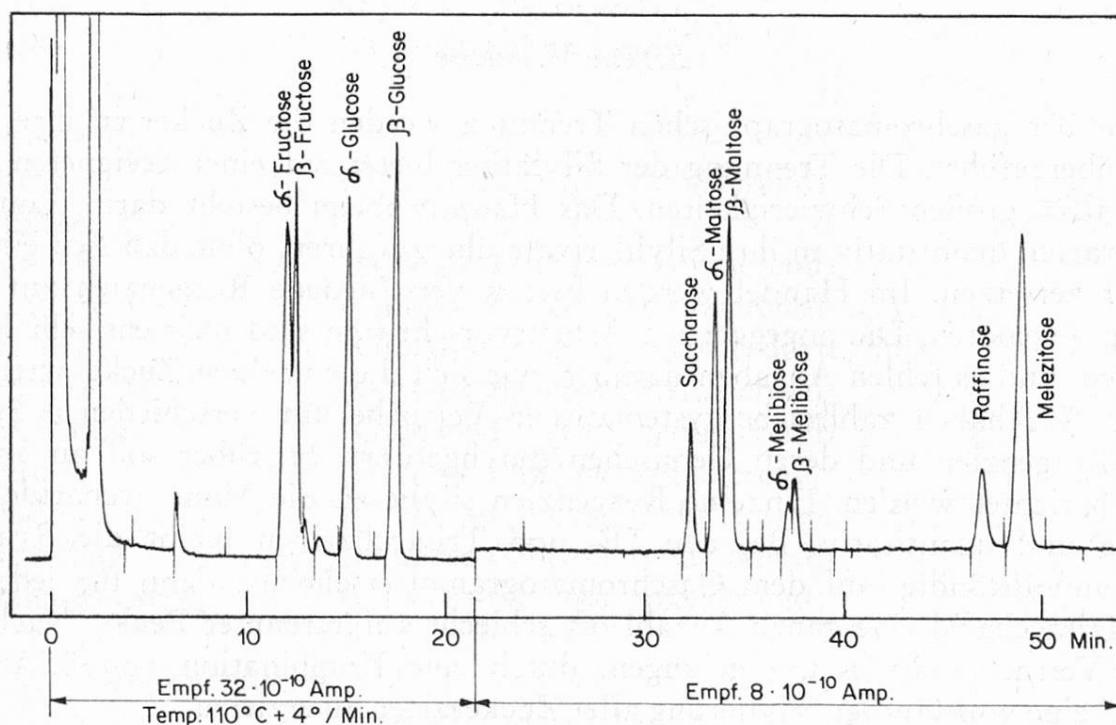


Abb. 1. Gaschromatogramm der Silyläther einer Zucker-Modellmischung
(Zusammensetzung siehe Tab. 1).

phisch getrennt. In Abbildung 1 ist das Gaschromatogramm dieser Zuckermodellmischung wiedergegeben. Man erkennt folgende Peaks:

α - und β -Fructose (unvollständig getrennt), α - und β -Glucose (sauber getrennt), Saccharose (1 Peak), α - und β -Maltose (weitgehend getrennt), α - und β -Melibiose (nur angetrennt), Raffinose (1 Peak), Melezitose (1 Peak). Die Peakflächen (Integrator-Impulse) sämtlicher Peaks wurden addiert und anschließend die Verteilung der Zuckerarten ohne Berücksichtigung von Korrekturfaktoren berechnet. Zur Kontrolle der Zuverlässigkeit unserer Methode wurde bei Honiguntersuchungen täglich eine Probe der Modellmischung silyliert und gaschromatographisch untersucht. Die Resultate von 15 Wiederholungen sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Die Werte sind recht gut reproduzierbar und stimmen befriedigend mit den theoretischen Werten des Zuckergemisches überein. Die Fructosegehalte sind fast durchwegs etwas zu niedrig, die Glucosegehalte etwas zu hoch. Die Mittelwerte sind signifikant ($P=99\%$) von den Sollwerten verschieden (9). Dieser systematische Fehler dürfte darauf zurückzuführen sein, daß aus der Fructose während der Silylierung, vermutlich unter Einfluß des als Lösungsmittel unentbehrlichen Pyridins, geringe Mengen von Nebenprodukten entstehen.

Nach der Silylierung der Fructose entstehen auf dem Gaschromatogramm 2 Haupt-Peaks von α - und β -Fructose. Daneben erscheinen jeweils noch 2 kleine Peaks, einer davon an der Stelle der α -Glucose. Dabei dürfte es sich um die Pyranose-Form der Fructose handeln. Nach Angaben von *Bernardini* und *Bosi* (1) ist das Gleichgewichtsverhältnis der Pyranose und der Furanose-Form der Fructose von der Natur des Lösungsmittels abhängig. Der in den Chromatogrammen beobachtete kleine Peak der Fructose an der gleichen Stelle wie α -Glucose ist der Grund dafür, daß die Fructosewerte stets zu niedrig, die Glucosewerte etwas zu hoch sind. Die übrigen Zuckerarten, welche im Honig meistens in geringeren Mengen vorkommen, wurden innerhalb der Versuchsfehlergrenzen richtig gefunden. Die Verwendung von stoffspezifischen Korrekturfaktoren ist daher nicht notwendig. Dies vereinfacht die Arbeitsweise und die Berechnung, da korrektiverweise die Korrekturfaktoren täglich neu bestimmt werden müßten.

Untersuchung von Honigen des Handels

Nach der am Schluß dieser Arbeit angegebenen Arbeitsvorschrift haben wir über 50 Honige des Handels untersucht. In zahlreichen Honigen erscheinen im Gaschromatogramm neben den von uns identifizierten Peaks einige weitere Peaks von anderen Zuckerarten, die uns als Vergleichssubstanzen nicht zur Verfügung standen. Dabei dürfte es sich um Disaccharide handeln, welche *White* (2) in Honigen gefunden und identifiziert hatte (Isomaltose, Maltulose, Turanose, Nigerose). Auch Peaks von nicht identifizierten Trisacchariden fanden wir in den Gaschromatogrammen gewisser Honige. Wir haben die nicht identifizierten Peaks als X_1 , X_2 , X_3 bezeichnet; Abbildung 2 zeigt das Gaschromatogramm eines Waldhonigs. Neben Fructose, Glucose, Saccharose, Maltose, Raffinose und Melezitose erscheinen einige Peaks von anderen, in geringen Mengen vorhandenen Zuckerarten, welche wir nicht identifiziert haben.

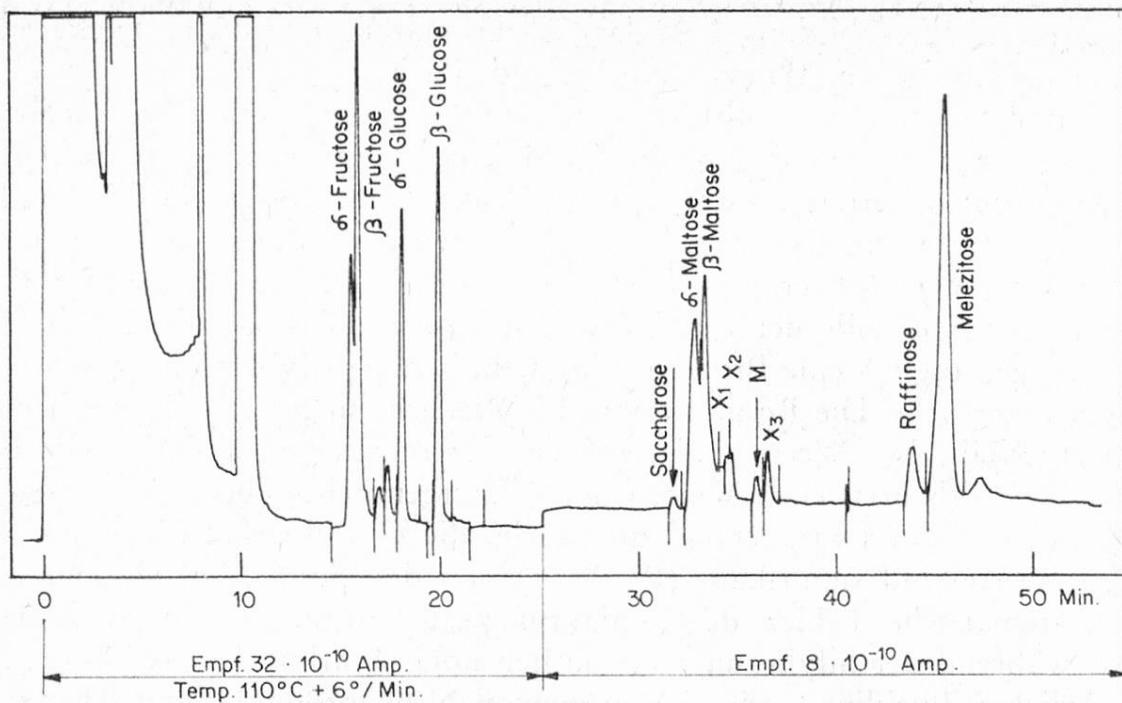


Abb. 2. Gaschromatogramm der Silyläther eines Waldhonigs

Reproduzierbarkeit

Ueber die Reproduzierbarkeit der Resultate gibt bereits die Tabelle 1 Aufschluß. Die statistischen Standardkenndaten und Tests berechneten wir nach den Angaben von Kaiser (9).

In einer Zucker-Modellmischung von bekannter Zusammensetzung fanden wir bei 15 Wiederholungen recht gut reproduzierbare Werte, wie aus den Standardabweichungen ersichtlich ist. Der Wiederholstreibereich berechnet sich für eine statistische Sicherheit $P = 95\%$ für die Fructose zu $\pm 1,6\%$ und für die Glucose zu $\pm 1,7\%$. Dies entspricht einem relativen Streubereich von 4% , was als gut zu bezeichnen ist. Zur weiteren Kontrolle der Methode haben wir von einem Waldhonig an 4 verschiedenen Tagen Proben silyliert und anschließend gaschromatographisch untersucht. Die Resultate dieser 4 Wiederholungen sind in der Tabelle 2 aufgeführt. Wir haben wiederum für jede Zuckerkarte den Mittelwert, die Standardabweichung und hieraus den Streubereich berechnet. Die Reproduzierbarkeit der Werte ist recht befriedigend. Für die beiden Hauptzuckerarten, Fructose und Glucose, berechnet sich der Streubereich (für eine statistische Sicherheit $P=95\%$) zu $\pm 2,0\%$ und $\pm 1,7\%$, was einem relativen Streubereich von 5% entspricht. Wie bereits erwähnt sind die Fructose- und Glucosebestimmungen mit einem systematischen Fehler behaftet.

Kommen Melibiose und Raffinose im Honig vor?

Pourtallier (6) gibt in seiner Arbeit ein Gaschromatogramm eines Kiefern-Honigtau-Honigs wieder, in welchem er folgende Peaks angeschrieben hat: Fructose, α - und β -Glucose, Saccharose, Maltose, Trehalose, Melibiose, Raffinose und

Tabelle 1. Analyse der Zucker-Modell-Mischung

| | Fructose % | Glucose % | Saccharose % | Maltose % | Melibiose % | Raffinose % | Melezitose % |
|------------------------------------|---------------|--------------|-----------------|--------------|----------------|----------------|-----------------|
| Einzelwerte | 40,6 | 40,1 | 1,6 | 7,8 | 1,3 | 1,6 | 6,9 |
| | 38,8 | 41,0 | 1,6 | 8,1 | 1,3 | 1,8 | 7,5 |
| 15 Analysen an verschiedenen Tagen | 39,3 | 40,2 | 1,6 | 8,3 | 1,4 | 1,7 | 7,5 |
| | 38,7 | 41,8 | 1,5 | 8,1 | 1,2 | 1,7 | 6,9 |
| | 38,8 | 40,5 | 1,7 | 8,4 | 1,3 | 1,9 | 7,4 |
| | 38,8 | 39,7 | 1,7 | 8,6 | 1,4 | 1,9 | 7,8 |
| | 39,7 | 40,9 | 1,6 | 7,9 | 1,3 | 2,0 | 6,7 |
| | 38,7 | 41,7 | 1,6 | 7,9 | 1,1 | 1,9 | 6,9 |
| | 38,6 | 40,5 | 1,7 | 8,3 | 1,3 | 2,2 | 7,3 |
| | 38,0 | 41,4 | 1,7 | 8,4 | 1,4 | 1,9 | 7,3 |
| | 38,2 | 40,9 | 1,7 | 8,6 | 1,4 | 1,6 | 7,5 |
| | 38,6 | 40,4 | 1,7 | 8,6 | 1,4 | 1,6 | 7,6 |
| | 40,1 | 41,0 | 1,6 | 7,6 | 1,3 | 1,5 | 7,0 |
| | 38,3 | 39,5 | 1,8 | 8,7 | 1,5 | 1,9 | 8,3 |
| | 38,0 | 42,3 | 1,7 | 8,3 | 1,3 | 1,4 | 6,3 |
| Mittel | \bar{x} | 38,9 | 40,8 | 1,65 | 8,2 | 1,33 | 7,26 |
| Standardabweichung | s | $\pm 0,75$ | $\pm 0,78$ | $\pm 0,07$ | $\pm 0,33$ | $\pm 0,096$ | $\pm 0,21$ |
| Streubereich | | $\pm 1,6$ | $\pm 1,7$ | $\pm 0,2$ | $\pm 0,7$ | $\pm 0,2$ | $\pm 1,1$ |
| $\Delta x (P=95\%)$ | | | | | | | |
| n = 15 | | | | | | | |
| Theoretisch | | 39,7 | 39,7 | 1,6 | 7,9 | 1,6 | 7,9 |

Melezitose. Wir haben unserer Modellmischung neben den im Honig vorkommenden Hauptzuckerarten auch noch je 1,6 % Melibiose und Raffinose zugesetzt. Im Laufe unserer Untersuchungen traten allerdings Zweifel auf, ob in Honigen überhaupt je Melibiose und Raffinose vorkommen.

Melibiose ist ein Disaccharid, welches aus 1 Mol Galactose und 1 Mol Glucose besteht und Fehlingsche Lösung reduziert. In den Gaschromatogrammen der Modellmischung erscheinen für Melibiose jeweils 2 nur teilweise aufgelöste Peaks der α - und β -Melibiose. In sämtlichen von uns untersuchten Honigen (über 50 Muster) fehlte der Peak der α -Melibiose. An der Stelle der β -Melibiose fanden wir in vielen Honigen häufig einen deutlich ausgeprägten Peak und unmittelbar dahinter einen etwas größeren Peak.

Weil der α -Melibiose-Peak immer fehlte, scheint es unwahrscheinlich zu sein, daß Melibiose im Honig überhaupt vorkommt. Vermutlich handelt es sich bei dem Peak mit gleicher Retentionszeit wie die β -Melibiose um ein anderes Disaccharid, welches wir als Disaccharid «M» bezeichnen. White und Hoban (2) haben verschiedene in Honigen vorkommende Disaccharide säulenchromatographisch und papierchromatographisch isoliert und mittels IR-Spektroskopie iden-

Tabelle 2. Honigtauhonig. Wiederholung an verschiedenen Tagen

| | Fruc-tose % | Glucose % | Sac-charose % | Maltose % | Disac-charid M % | Raf-finose % | Melezito-se % | X ₃ | |
|----------------------------|----------------|--------------|------------------|--------------|------------------------|-----------------|------------------|----------------|------------|
| Einzelwerte | 40,9 | 34,3 | 0,2 | 9,2 | 0,4 | 1,5 | 12,8 | 0,8 | |
| | 41,9 | 33,2 | 0,2 | 8,8 | 0,4 | 1,4 | 13,2 | 0,8 | |
| | 42,2 | 33,2 | 0,2 | 8,9 | 0,4 | 1,4 | 13,0 | 0,8 | |
| | 41,1 | 33,9 | 0,2 | 8,9 | 0,4 | 1,5 | 12,6 | 0,7 | |
| Mittel | \bar{x} | 41,5 | 33,6 | 0,2 | 9,0 | 0,4 | 1,5 | 12,9 | 0,8 |
| Standardabweichung s | | $\pm 0,6$ | $\pm 0,54$ | 0 | $\pm 0,2$ | 0 | $\pm 0,05$ | $\pm 0,3$ | $\pm 0,05$ |
| Streubereich (P = 95 %) | Δx | | | | | | | | |
| n = 4 | | $\pm 2,0$ | $\pm 1,7$ | 0 | $\pm 0,6$ | 0 | $\pm 0,2$ | $\pm 1,0$ | $\pm 0,16$ |

* Das Disaccharid M besitzt die gleiche Retentionszeit wie die β -Melibiose, ist jedoch nicht identisch mit Melibiose.

tifiziert. Melibiose wurde von ihnen nicht nachgewiesen, dafür die folgenden Disaccharide: Isomaltose, Maltulose, Turanose, Saccharose, Maltose, Nigerose.

Raffinose ist ein aus Galactose, Fructose und Glucose aufgebautes Trisaccharid, welches Fehlingsche Lösung nicht reduziert. Die Anwesenheit von Raffinose wurde zum erstenmal von Goldschmidt und Burkert (10) und dann von Pourtallier (6) in Honig festgestellt. Bosi (8) fand in den Gaschromatogrammen des Nektars von *Ligustrum vulgare L.* und in Nektar von *Helianthus annuus L.* je einen deutlich ausgeprägten Peak der Raffinose. Ob Raffinose im Honig vorkommt ist umstritten. Bernardini und Bosi (1) sind der gleichen Meinung wie Siddiqui und Fur-gula (11), daß es sich bei dem von ihnen als X₃ bezeichneten Trisaccharid nicht um Raffinose handelt, obwohl es die gleiche Retentionszeit hat (12). Sie kommen zu diesem Schluß, weil sie im Honig nach der sauren Hydrolyse niemals Galactose oder Melibiose antrafen, welche bei der Hydrolyse aus Raffinose entstehen müßten.

Wir haben diese Versuche mit einem Waldhonig, welcher 2,1 % Raffinose und 2,1 % Melezitose enthielt, wiederholt. Eine 1%ige Honiglösung wurde zunächst der starken Hydrolyse unterworfen (13). 25 ml Honiglösung wurden im 50ml-Meßkölbchen mit 3 ml Salzsäure 25%ig versetzt (HCl-Konzentration = 3 %) und die Mischung während 90 Minuten im Wasserbad gekocht. Nun wurde rasch abgekühlt, neutralisiert, zur Marke aufgefüllt und ein aliquoter Teil zur Trockne verdampft und die Zucker silyliert. Nach der starken Hydrolyse mit Salzsäure waren im Gaschromatogramm der Silyläther die Peaks der Raffinose und der Melezitose verschwunden. Diese beiden Trisaccharide sind demnach vollständig gespalten worden. Im Gaschromatogramm fehlte jedoch der zu er-

wartende Galactose-Peak, womit zunächst die Beobachtung anderer Autoren bestätigt wird.

Auffallend war, daß der Fructose-Peak viel kleiner war als im Honig vor der Hydrolyse. Hieraus folgt, daß ein großer Teil der Fructose unter den Bedingungen der starken Hydrolyse chemisch verändert wurde (Bildung von Hydroxymethylfurfural und anderen Abbauprodukten). Es besteht die Möglichkeit, daß auch die Galactose unter den gleichen Bedingungen vollständig zerstört wird. Die Vermutung wurde durch folgende Versuche bestätigt:

Zu obigem Waldhonig wurden zunächst 2% Raffinose zugesetzt. Im Gaschromatogramm erschien nun der Raffinose-Peak stark erhöht. Anschließend wurde die Mischung aus Honig und Raffinose der starken Hydrolyse unterworfen. Im Gaschromatogramm der Silyläther war keine Raffinose mehr erkennbar, aber auch der Galactose-Peak fehlte, womit bewiesen ist, daß die Raffinose zwar gespalten, aber die entstandene Galactose zerstört wird.

Wir haben noch einige Versuche mit der sogenannten schwachen Hydrolyse nach der deutschen Zollvorschrift (14) durchgeführt. 25 ml einer 1%igen wässrigen Honiglösung mit 2% Raffinose-Zusatz wurden mit 1,5 ml Salzsäure 25%ig versetzt und die Mischung im Wasserbad während 5 Minuten bei 67—70 °C hydrolysiert. Die Lösung wurde rasch abgekühlt und neutralisiert. Durch die schwache Hydrolyse wird aus Raffinose die Fructose abgespalten und man erhält Melibiose, ein Disaccharid, welches aus Glucose und Galactose besteht. Im Gaschromatogramm der Silyläther fanden wir einen kleinen Peak von α -Melibiose. Die entstandene β -Melibiose ergab eine deutliche Erhöhung des Peaks M, der die gleiche Retentionszeit aufweist wie die β -Melibiose (siehe Abb. 2). Im analogen Versuch mit obigem Honig ohne Raffinose-Zusatz fanden wir nach schwacher Hydrolyse im Gaschromatogramm der Silyläther ebenfalls einen deutlichen α -Melibiose-Peak. Die Anwesenheit von Raffinose im Honig dürfte damit bewiesen sein.

Vor- und Nachteile der Methode

Unsere Methode ist relativ einfach durchführbar. Sie erlaubt die gaschromatographische Trennung und annähernd quantitative Bestimmung der im Honig vorkommenden wichtigsten Zuckerarten. Die gefundenen Fructose- und Glucosewerte sind, wie erwähnt, mit einem kleinen systematischen Fehler behaftet, da bei der Herstellung der Silyläther aus der Fructose kleine Mengen von Nebenprodukten entstehen, welche die gleiche Retentionszeit besitzen wie die α -Glucose. Ein weiterer Nachteil der Methode besteht darin, daß das siliziumhaltige Reagenz und die Zuckersilyläther im Flammenionisationsdetektor (FID) verbrennen, wobei Siliziumdioxid entsteht. Die festen und gasförmigen Verbrennungsprodukte bewirken starke Verschmutzung und Korrosion des Detektors, was sich in einer ständigen Veränderung der Empfindlichkeit auswirkt. Der Detektor muß fast täglich gereinigt werden.

Die Reagenzien bilden verschiedene Nebenprodukte, welche im Gaschromatogramm als stark ausgeprägte Peaks vor der α -Fructose erscheinen. Art und

Menge der Peaks schwanken in unkontrollierbarer Menge, wie aus den Abbildungen 1 und 2 deutlich hervorgeht.

Um das Verschmutzen des Detektors zu verhindern, wurden fluorhaltige Silylierungsreagenzien entwickelt. Beim Verbrennen im FID entsteht Fluorwasserstoff, welcher die Ausscheidung von Kieselsäure im Detektor verhindert. Versuche mit derartigen Reagenzien erscheinen vielversprechend zu sein. Der Detektor wird weniger verschmutzt, und die Empfindlichkeit bleibt während Tagen unverändert. Die meisten Zuckerarten ließen sich sauber bestimmen.

Die Fructose wurde in vermehrtem Maß in Nebenprodukte umgewandelt. Ueber diese Versuche soll in einem anderen Zusammenhang berichtet werden.

Arbeitsvorschrift

Vorbereitung des Honigs

- 5 g Honig in 50 Vol% Alkohol lösen, in 100 ml-Meßkolben überführen und mit 50 Vol% Alkohol zur Marke auffüllen
- 0,25 ml Lösung in 25 ml-Spitzkölbchen abpipettieren (1 ml Lösung enthält 50 mg Honig)
- 1 Tropfen Eisessig zusetzen
- Lösung am Rotationsverdampfer unter Vakuum im Wasserbad (ca. 70 °C) zur Trockne eindampfen

Herstellung der Silyläther

- Ins Spitzkölbchen mit dem Trockenrückstand zusetzen:
- 0,5 ml Aethylmethylketon
- 0,5 ml N,O-Trimethylsilyl-acetamid (BSA)
- 0,5 ml Pyridin
- Kölbchen schütteln bis Rückstand vollständig gelöst (Dauer bis 20 Minuten)
- 1,0 ml einer Mischung, bestehend aus 1,25 ml Pyridin und 0,25 ml N-Tri-methylsilyl-imidazol (TSIM)
- Mischung über Nacht bei Zimmertemperatur stehen lassen
- während 1½ Stunden am Rückflußkühler im Aluminiumblock auf 110 °C erhitzen, abkühlen.

Gas-Chromatographische Bedingungen

Glassäule 1/8" innerer Durchmesser, Länge 2,1 m

Säulenfüllung 3 % OV-17 auf Aeropack-30, 80/100 mesh,

Einspritzmenge 1,5 µl

Trägergas N₂ = 30 ml/min.

Flammenionisationsdetektor (FID)

Temperaturprogramm 110 °C + 6 °/min bis 275 °C

Injektor- und Detektor-Temperatur 275 °C

Auswertung mit Integrator

Zusammenfassung

1. Es wird eine Methode zur Herstellung der Zucker-Silyläther mit BSA und TSIM beschrieben. Die gaschromatographische Trennung der Zucker geschieht an einer mit 3 % OV-17 belegten Aeropack-Säule. Die wichtigsten Zuckerarten werden sauber getrennt, und die Werte sind gut reproduzierbar. Als Nachteil der Methode sind die ziemlich starke Verschmutzung und die ständige Veränderung der Empfindlichkeit des Detektors zu nennen. Die Methode ist deshalb für Serienuntersuchungen wenig geeignet.
2. In allen Honigen findet man die beiden Hauptzuckerarten Fructose und Glucose, daneben meistens merkliche Mengen Maltose, aber nur wenig Saccharose. In Honigtauhonigen findet man öfter größere Mengen Melezitose und mehrere nicht identifizierte Di- und Trisaccharide. Melibiose konnte in keinem Honig nachgewiesen werden.
3. Das Vorkommen von Raffinose in Honig wurde von mehreren Autoren angezweifelt, weil nach der Hydrolyse nie Galactose nachgewiesen werden konnte. Wir haben gezeigt, daß gewisse Tauhonige zwar Raffinose enthalten, bei der starken Hydrolyse jedoch die entstandene Galactose zerstört wird. Bei schwacher Hydrolyse entstehen aus Raffinose Fructose und Melibiose. Die gebildete Melibiose konnte im Gaschromatogramm der hydrolysierten Honige nachgewiesen werden.

Résumé

1. Il est question d'une méthode utilisant la bis(triméthylsilyl)-acétamide et le triméthylsilylimidazol pour l'éthérification de saccharides. Leur séparation par chromatographie en phase gazeuse est effectuée avec colonne OV 17 à 3 % sur Aéropack comme phase stationnaire. Les principaux sucres sont bien séparés et la reproductibilité des résultats est bonne. Un inconvénient de la méthode est le fort encrassement du détecteur, entraînant des variations de sensibilité. Pour cette raison la méthode se prête mal aux contrôles usuels en série.
2. On retrouve dans tous les miels deux constituants principaux: le fructose et le glucose, à côté, dans la plupart des cas, d'une quantité appréciable de maltose et de très peu de saccharose. Dans les miellats, on trouve en plus ou moins grande quantité du mélézitose et plusieurs autres di- et trisaccharides encore non identifiés. Le mélibiose, par contre, n'a pu être décelé.
3. La présence de raffinose dans le miel a été mise en doute par plusieurs auteurs, car après hydrolyse du miel on note l'absence de galactose. Nous avons montré qu'après hydrolyse forte de miellats contenant du raffinose le galactose n'apparaît pas, car il est détruit. Par hydrolyse modérée, on obtient à partir du raffinose du fructose et du mélibiose. Dans ces conditions d'hydrolyse, ce dernier a été décelé par chromatographie en phase gazeuse dans les miels.

Literatur

1. *Bernardini-Battaglini M. und Bosi G.: Bestimmung der Kohlenhydrate durch Gas-chromatographie und die Möglichkeiten ihrer Verwendung bei der Honigschätzung.* Apicta VII, 5—8, (1972).

2. White, J. W. and Hoban, N.: Composition of honey. IV Identification of the disaccharides. Arch. Biochem. Biophys. **80**, 386—392 (1959).
3. Maurizio, A.: Papierchromatographische Untersuchungen an Blütenhonigen und Nektar. Ann. Abeille **4**, 291—341 (1959).
4. Maurizio, A.: From the raw material to the finished product: Honey. Bee World **43**, 66—81 (1962).
5. Maurizio A.: Das Zuckerbild blütenreiner Sortenhonige. Ann. Abeille **7**, (4) 289—299 (1964).
6. Pourtallier, J.: Ueber die Benutzung der Gaschromatographie für die Bestimmung der Zucker im Honig. Z. Bienenforsch. **9**, 217—221 (1968).
7. Müller, B. und Göke, G.: Beitrag zur gaschromatographischen Bestimmung von Zuckern und Zuckeralkoholen in Lebensmitteln. Deut. Lebensm. Rundschau, **68**, 222—227 (1972).
8. Bosi, G.: Ein Schnellverfahren zur Bestimmung der Zucker im Nektar mit Hilfe der Gaschromatographie: Technik der Nektarentnahme und Herstellen der Trimethylsilylester in Anwesenheit von Wasser. Apidologie **4**, 57—64 (1973).
9. Kaiser, R. und Gottschalk, G.: Elementare Tests zur Beurteilung von Meßdaten. Soforthilfe für statistische Tests mit wenigen Meßdaten. Mannheim-Wien-Zürich, BI Wissenschaftsverlag, BI Hochschultaschenbücher Bd. 774, 1972.
10. Goldschmidt, S. und Burkert, N.: Ueber das Vorkommen einiger im Bienenhonig bisher unbekannter Zucker. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **300**, 188—200 (1955).
11. Siddiqui, I. R. and Furgala, B.: Isolation and characterization of oligosaccharides from honey. Part. II. Trisaccharides. J. Apicult. Research **1**, 51—59 (1968).
12. Battaglini, M. e Bosi, G.: Ricerche comparate sulla natura dei glucidi di alcuni mieli monoflora e dei rispettivi nettari. Simposio internazionale di Apicoltura, Torino, 2—6 Ottobre 1972, S. 123—129, Casa Editrice Apimondia Bucarest, Romania.
13. Hadorn, H.: Biochemische Bestimmung von Maltose und Dextrin in Malzextrakten. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **42**, 151—157 (1951).
14. Amtliche Verordnungen und Erlasse, Z. anal. Chemie **42**, 30 (1903). Schweiz. Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 1. Band, S. 561, Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1964.
15. White, J. W., Riethof, M. L., Subers, M. H. and Kusnir, I.: Composition of American honeys. Tech. Bull. U.S. Dep. Agric. No. 1261.

Dr. H. Hadorn
 K. Zürcher
 Ch. Strack
 Zentrallaboratorium Coop Schweiz
 Thiersteinerallee 14

CH-4002 Basel