

Zeitschrift:	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber:	Bundesamt für Gesundheit
Band:	79 (1988)
Heft:	2
Artikel:	Bestimmung von Honigzuckern mit HPLC = Determination of honey sugars with HPLC
Autor:	Bogdanov, S. / Baumann, E.
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-982585

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: 27.01.2026

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

Bestimmung von Honigzuckern mit HPLC

Determination of Honey Sugars with HPLC

S. Bogdanov und E. Baumann

Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld

Einleitung

Die Zuckeranalyse des Honigs wird zur Aufklärung der botanischen Herkunft des Honigs sowie zum Nachweis von Honigverfälschungen (z. B. Zuckerfüttungshonig) durchgeführt.

Die Zucker sind die Hauptinhaltsstoffe des Honigs. Sie machen ca. 95 bis 99% der Honigtrockensubstanz aus (1, 2). Neben den Hauptbestandteilen, den Monosacchariden Glucose und Fructose, gibt es noch kleinere Anteile von ca. 25 Oligosacchariden (Di-, Tri- und Tetrasaccharide) (1–3).

Mit den heutigen chromatographischen Trennmethoden ist es unmöglich, ein so komplexes Zuckergemisch nur in einem Chromatographieschritt einwandfrei aufzutrennen. In den letzten Jahren wurden die meisten Zuckeruntersuchungen von Honig mit Gaschromatographie (GC) durchgeführt (4–10). Der Grund dafür: die GC, insbesondere die Kapillar-GC, verfügt über eine gute Trennleistung zur Trennung des komplexen Zuckergemisches des Honigs. Die Nachteile der GC liegen im Aufwand bei der Probenvorbereitung (Zuckerderivatisierung) und in der schwierigen Quantifizierung der Zucker in Folge der Anomerbildung der Derivate.

Die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) bietet sich schon seit 10 Jahren als eine Alternative an (11–13). Die Vorteile der HPLC liegen vor allem im geringen Aufwand bei der Probenvorbereitung und der besseren Quantifizierung der Messresultate. Bei der HPLC-Analyse von Honig konnten nur die Zucker Fructose, Glucose und Saccharose einwandfrei bestimmt werden (11, 13, 14).

Trennungen auf aminogebundenen Silikagelen mit wässrigem Acetonitril als Eluens haben sich bei komplizierten Zuckertrennungen am besten bewährt (15, 16). In der vorliegenden Arbeit wurde diese HPLC-Methode für die Analyse der Honigzucker optimiert, womit die wichtigsten Honigzucker erfasst werden konnten.

Material und Methoden

Reagenzien und Zuckerlösungen

Die Lösungsmittel für HPLC wurden von Merck oder Fluka bezogen. Tetraethylenpentamin (TEPA) war von Fluka.

Die Zuckerstandards stammten von Merck oder Fluka mit Ausnahme von: Nigerose (Sigma), Panose, Erlöse (Senn Chemicals), Kojibiose (Koch-Light). Maltulose wurde uns freundlicherweise von Dr. Hicks, Eastern Regional Center, Philadelphia, PA 19118, USA, zur Verfügung gestellt.

Das in der Routine verwendete Zuckerstandardgemisch enthielt je 2% Glucose und Fructose sowie 0,5% Saccharose, Turanose, Maltose, Trehalose, Erlöse, Melezitose und Raffinose. Die Retentionszeiten und Response-Faktoren der übrigen, preislich viel teureren Oligosaccharide wurden mit 0,5% Lösungen der einzelnen Zucker bestimmt. Die Zuckerstandards sind bei -20 °C mehrere Monate haltbar.

Honige

112 Blütenhonige aus Kastanien-, Raps-, Löwenzahn-, Akazien-, Alpenrosen- und Mischblütentracht sowie 38 Honigtauhonige aus bekannter schweizerischer Herkunft wurden untersucht.

Honiglösung

2 g Honig auf 10 ml Wasser auffüllen (20%ige Honiglösung), 3 min bei 100 °C erhitzen. 1:4 mit Wasser verdünnen (5%ige Honiglösung). Beide Lösungen mit 0,45 µm Filter filtrieren. Die Erhitzung der Proben ist nötig, um die Honigsaccharase zu inaktivieren; bei nicht erhitzten Honiglösungen vermindert sich der Gehalt an Saccharose und Erlöse rasch unter dem Einfluss der Honigsaccharase. Im Honig ist die Saccharaseaktivität infolge der grossen Viskosität stark vermindert.

HPLC

Geräte: HP 1084 B (Hewlett-Packard), RI-Detektor-SP 6040 (Spektra-Physics) angeschlossen an einem 4400 Nelson Integrator (Nelson Analytical).

Säule: Stagroma analytische Säule (250 × 4 mm), gefüllt mit 3 µm Spherisorb-Amino oder Hypersil-APS, direkt gekoppelt mit einer 20-mm-Vorsäule des gleichen Materials, aber 5 µm Korngrösse (Stagroma, Wallisellen).

Beide Säulen ergaben praktisch identische Trennungen. In der Routine verwendeten wir vorerst nur die Spherisorb-Säule.

Elutionsmittel: 80% Acetonitril in Wasser, enthaltend 0,02% TEPA, pH 7,0 mit Essigsäure konz. eingestellt.

Durchfluss: 1,0 ml/min, ergab einen Druck von ca. 140 bar.

Temperatur: Trennsäule und RI-Detektor bei 40 °C.

Einspritzmenge: 10 µl.

RI-Detektor: Empfindlichkeitsbereich 256.

Auswertung: Methode externer Standard.

Berechnung der Resultate

Die Zuckerkonzentrationen wurden vom Integrator automatisch mit der Methode «externer Standard» berechnet. Dabei wurden die individuellen Responsefaktoren der Zucker berücksichtigt. Angabe der Resultate in g Zucker pro 100 g Honig. Oberhalb von 3% Fructose oder Glucose war der Response des Detektors nicht mehr linear, deshalb wurde die Auswertung an zwei verschiedenen Verdünnungen des gleichen Honigs durchgeführt. Die Konzentrationen von Fructose und Glucose wurden vom Chromatogramm der 5%igen Honiglösung mit einem Verdünnungsfaktor von 20, diejenigen der übrigen Zucker vom Chromatogramm der 20%igen Honiglösung mit einem Verdünnungsfaktor von 5 berechnet.

Die Nachweisgrenze für Isomaltose, Nigerose, Maltulose, Gentiobiose, Melibiose, Panose war je ca. 0,2–0,3%, die für die anderen Zucker 0,1%.

Resultate und Diskussion

Einfluss der Elutionsmittel und Säulenmaterial

Die vorliegende HPLC-Methode hat sich in der Routine gut bewährt. Versuche, auf das weniger giftige Elutionssystem von Aceton/Ethylacetat/Wasser (17) umzustellen, ergaben schon nach einigen Tagen Verwendung einen Abfall der Trennleistung der Säule.

Die Zugabe von TEPA wird als Mittel propagiert, die Lebensdauer der Aminosäulen zu verlängern (16, 18). Die von uns verwendete 0,02% TEPA-Konzentration wurde als optimal gefunden (16).

Versuche mit verschiedenen TEPA-Konzentrationen bestätigen diesen Befund: höhere TEPA-Konzentrationen verursachten eine schlechtere Trennleistung.

Wurde die Säule längere Zeit nicht verwendet, so wurde die Säule mit reinem Acetonitril gefüllt und im Kühlschrank aufbewahrt. Die Variabilität der verschiedenen Säulenmaterialchargen war innerhalb zweier Jahre zufriedenstellend. Nach 150 Einspritzungen in zwei Monaten wurde die Trennleistung der Säule nicht beeinträchtigt. Kürzere (12,5 cm) 3-µm-Spherisorb-amino-analytische Säulen ergaben eine ungenügende Trennung der Honigzucker. Folgende Säulen (25 cm)

wurden auch getestet, haben aber zu schlechteren Resultaten geführt: eine 5- μm -Polygosyl-Aminosäule ergab etwas schlechtere Auflösung, eine 3- μm -Permacoat-Aminosäule ergab keine brauchbare Trennleistung.

Einfluss der Temperatur

Der Einfluss der Säulentemperatur erwies sich als kritisch, insbesondere für die Trennung von Erlose und Melezitose. Unterhalb von 30 °C wurden diese Zucker nicht aufgelöst. Bei Temperaturen von 45 und 50 °C verbesserte sich die Trennung von Erlose und Melezitose, bei gleichzeitiger Verschlechterung der Trennung der übrigen Zucker. Die besten Resultate wurden bei Säulenofen- und RI-Detektor-Temperatur von 40 °C erzielt.

Zuckertrennungen

In Abbildung 1A–D sind einige Beispiele von HPLC-Trennungen mit unserer Methode wiedergegeben. Innerhalb 40 Minuten konnten 15 Zucker getrennt werden (Tabelle 1). Beim Honig konnte jedoch keine Gentiobiose, Meliobiose und Panose nachgewiesen werden (Erfassungsgrenze für diese Zucker war 0,2–0,3%). Nigerose und Maltulose konnten nicht voneinander getrennt werden.

Tabelle 1. Retentionszeiten von Zuckerstandards. HPLC-Bedingungen siehe Text

Zuckerart	Zucker	Retentionszeit	<i>k'</i>
Monosaccharide	Fructose	6,75	5,23
	Glucose	8,09	6,45
Disaccharide	Saccharose	12,06	10,05
	Turanose	13,12	11,02
	Maltulose	13,80	11,64
	Nigerose	14,04	11,85
	Maltose	14,70	12,46
	Kojibiose	16,11	13,74
	Trehalose	16,76	14,33
	Isomaltose	18,37	16,70
	Gentiobiose	20,30	17,65
	Melibiose	21,50	18,70
Trisaccharide	Erlose	22,95	19,95
	Melezitose	24,01	20,92
	Raffinose	28,69	25,17
	Panose	40,00	34,78

In Tabelle 2 sind die Durchschnittswerte und der Streubereich für die einzelnen Honigzucker für Blüten- und Honigtauhonige wiedergegeben. Das Disaccharid Kojibiose wurde im Bereich von 0,1 bis 0,8% bestimmt, wobei bei vielen Honigen die Mengen unter der Erfassungsgrenze lagen. Die Disaccharide Nigerose, Maltulose und Kojibiose wurden zusammen unter der Bezeichnung «verschiedene Disaccharide» zusammengefasst. Es sind Durchschnittswerte von verschiedenen Sorten- und Mischblütenhonigen sowie von Honigtauhonigen. Die Streubreite der verschiedenen Zucker ist ziemlich gross, insbesondere für Saccharose und Erlose. Dies ist auf die Verschiedenheit der Zuckerspektren in Abhängigkeit der Tracht zurückzuführen. Das Zuckerspektrum kann zusammen mit anderen Honigmerkmalen als Qualitätskriterium für Sortenhonige benutzt werden (19). Das Zuckerspektrum der einzelnen Sortenhonige, zusammen mit anderen chemischen Qualitätskriterien, wird in einer separaten Arbeit besprochen. Wie anderswo ausgeführt (20), sind der Monosaccharidgehalt sowie der Gehalt der Trisaccharide Melezitose und Raffinose das beste Unterscheidungskriterium für Blüten- und Honigtauhonige. Honigtauhonige enthalten signifikant weniger Monosaccharide und mehr Melezitose und Raffinose. Diese, mit der vorliegenden Me-

Tabelle 2. Zuckergehalt von Blüten- ($n = 118$) und Honigtauhonigen ($n = 38$). Unter «verschiedene Disaccharide» sind Nigerose, Maltulose und Kojibiose zusammengefasst

Zucker	g Zucker/100 g Honig			
	\bar{x}	Blütenhonig Grenzwerte	\bar{x}	Honigtauhonig Grenzwerte
Fructose	39,6	33,8–45,0	32,3	28,3–37,2
Glucose	30,9	24,3–37,3	23,9	19,0–29,5
Monosaccharide total	70,5		56,2	
Saccharose	0,7	0,1– 6,2	0,5	0,1– 1,0
Turanose	1,4	0,8– 2,9	1,8	0,5– 2,5
Maltose	0,6	0,1– 2,3	1,4	0,5– 2,5
Trehalose	0,3	0,1– 1,5	1,1	0,3– 1,9
Isomaltose	0,3	0,2– 0,5	0,3	0,2– 0,6
verschiedene Disaccharide	2,3	1,1– 5,5	1,8	0,5– 5,0
Disaccharide total	5,6		7,0	
Erlose	0,7	0,1– 6,0	1,4	0,1– 5,3
Melezitose	0,2	0,1– 1,0	5,3	1,0–22,0
Raffinose	nn		0,5	0,1– 1,5
Melezitose + Raffinose	0,2	0,1– 1,1	5,8	1,1–23,5
Trisaccharide total	0,9		7,2	
Zucker total	77,0		70,4	

\bar{x} = Durchschnittswerte

nn = nicht nachweisbar

thode ermittelten Werte sind mit den Werten von einer anderen Honiguntersuchung vergleichbar, wo die Monosaccharide enzymatisch und die Trisaccharide dünnenschichtchromatographisch bestimmt wurden (20).

Mit Hilfe der Standards konnten bei Blütenhonigen durchschnittlich 77,0 g Zucker pro 100 g Honig, bei den Honigtauhonigen hingegen nur 70,4 g Zucker wiedergefunden werden. Nach der refraktometrisch bestimmten Zuckerkonzentration sollten durchschnittlich 83 g Zucker vorhanden sein. Es ist wahrscheinlich, dass die unbestimmten Zucker hauptsächlich Oligosaccharide sind oder kleinere Anteile von Zuckern, die mit der vorliegenden Methode nicht erfasst werden. Im Rahmen eines Ringversuches zur internationalen Harmonisierung der Zuckerbestimmungsmethoden bei Honigen bestimmten wir die Zuckerspektren von 4 Honigproben mit unserer Methode und mit zwei verschiedenen Kapillar-GC-Methoden (8, 9). Bei allen Methoden konnten fast die gleiche Anzahl

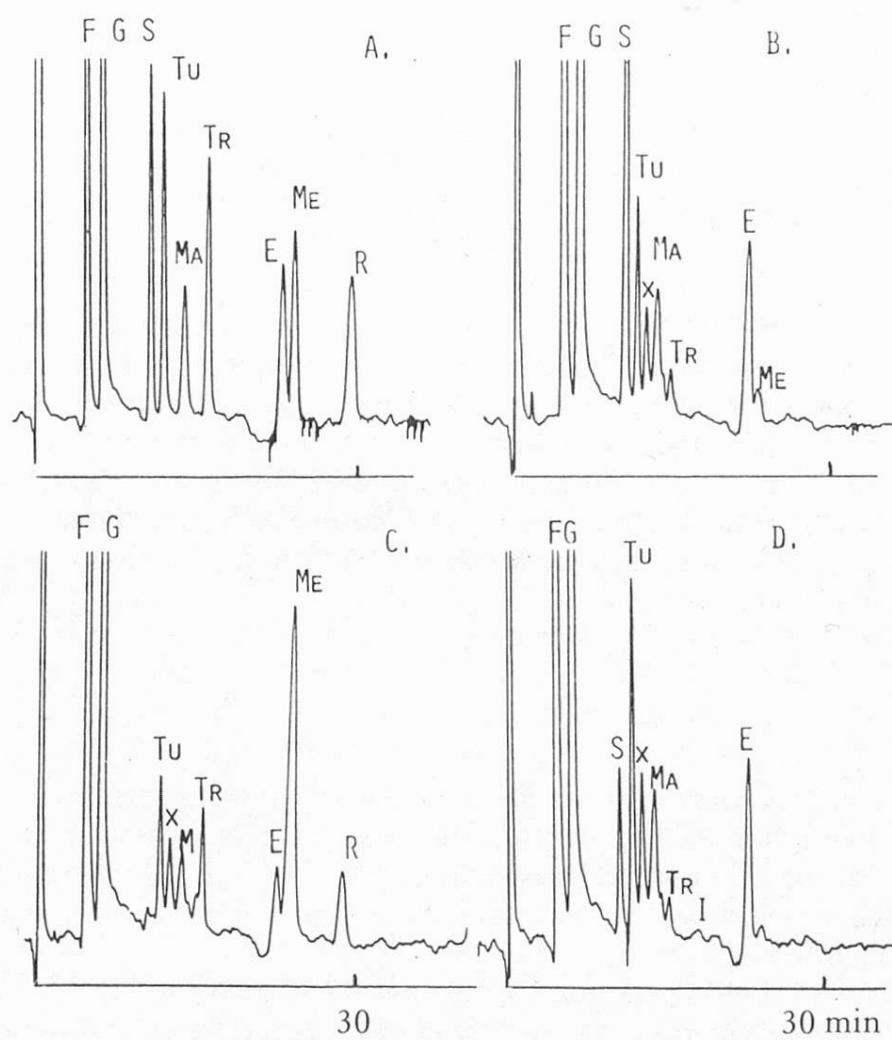


Abb. 1. HPLC-Profile von: A = Zuckerstandardgemisch; B = Zuckerfütterungshonig; C = Honigtauhonig; D = Akazienhonig

Zucker: F = Fructose; G = Glucose; S = Saccharose; Tu = Turanose; Ma = Maltose; Tr = Trehalose; I = Isomaltose; E = Erlose; Me = Melezitose; R = Raffinose, x = Maltulose, Nigerose

Zucker bestimmt werden. Mit unserer HPLC-Methode konnten 74,5 g, mit der einen GC-Methode (9) konnten total 69,2 g, mit der anderen (8) 70,4 g Zucker bestimmt werden.

In Zuckerfütterungshonigen (Abb. 1B) sind die Saccharose- und Erlose-Konzentrationen erhöht, für Honige aus Massentracht wie Akazienhonige (siehe auch Abb. 1D), Alpenrosenhonige, Orangenblütenhonige und Lavendelhonige sind sie aber innerhalb des Grenzwertes (21). Erhöhte Konzentrationen dieser beiden Zucker sind als Hinweise für unerlaubte Zuckerfütterung zu werten, wenn es sich nur um Honige handelt, die natürlicherweise kleine Mengen von diesen Zuckern enthalten. Mit Sicherheit sind dies nur Sortenhonige, weil ja Mischhonig theoretisch auch Massentrachthonig enthalten kann. Schweizer Sortenhonige mit natürlich tiefem Gehalt an Saccharose und Erlose sind Kastanienhonige, Rapshonige und Löwenzahnhonige.

Dank

Wir danken Dr. J. Bosset für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Zusammenfassung

Es wird eine HPLC-Methode zur Bestimmung der Honigzucker beschrieben. Das Trennsystem besteht aus einer Stagroma aminogebundenen Silikagelsäule (250×4 mm Spherisorb-Amino, $3 \mu\text{m}$ Korngrösse) mit 80% wässrigem Acetonitril als Eluens und refraktometrischer Detektion der Zucker.

Die Zuckerspektren von 112 Blütenhonigen und 38 Honigtauhonigen wurden erfasst. 11 Zucker konnten bestimmt werden: Fructose, Glucose, Saccharose, Turanose, Maltose, Trehalose, Kojibiose, Isomaltose, Erlose, Melezitose und Raffinose. Maltulose und Nigerose wurden zusammen erfasst.

Résumé

Une méthode de chromatographie en phase liquide à haute performance pour la détermination des sucres du miel a été développée. Le système de séparation est composé d'une colonne Stagroma de gel de silice, phase aminée (250×4 mm Amino-Sphérisorb, granulométrie moyenne $3 \mu\text{m}$) et de 80% d'acétonitrile aqueux comme éluant. Les sucres sont détectés par réfractométrie.

Les spectres des sucres de 112 miels de fleur et de 38 miels de forêt ont été déterminés. On a pu séparer 11 sucres, soit le fructose, le glucose, le saccharose, le turanose, le maltose, le trehalose, le kojibiose, l'isomaltose, l'erlose, le méllezitose et le raffinose. Le maltulose et le nigérose ne sont pas séparés et sont déterminés ensemble.

Summary

A HPLC method for the determination of honey sugars was developed. The separation system was composed of an amino-bound silica gel Stagroma column (250×4 mm, $3 \mu\text{m}$ particle size Spherisorb-amino) and 80% acetonitril in water as an eluent. The sugars were detected with an RI Detector.

The sugar spectra of 112 flower- and 38 honey-dew honeys of Swiss origin was determined. 11 sugars could be separated: fructose, glucose, saccharose, turanose, maltose, trehalose, kojibiose, isomaltose, erlose, melezitose and raffinose. Nigerose and maltulose were determined together.

Literatur

1. *Siddiqui, I. R.*: The sugars of honey. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **25**, 285–309 (1970).
2. *Doner, L. W.*: The sugars of honey – A review. *J. Sci. Food Agric.* **28**, 443–456 (1977).
3. *Munksgaard, V.*: Oligosaccharider i honning. Dissertation an Danmarks farmaceutiske Hojkole Kemisk Institut BC, Prof. O. Hammer, Kopenhagen 1981.
4. *Battaglini, M. e Bosi, G.*: Caratterizzazione chimico-fisica dei mieli monoflora sulla base dello spetro glucidico e del potere rotatorio specifico. *Rivista «S & TA»* **3**, 217–221 (1973).
5. *Hadorn, H., Zürcher, K. und Strack, Ch.*: Gaschromatographische Bestimmung der Zuckerkarten in Honig. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **65**, 198–208 (1974).
6. *Zürcher, K., Maurizio, A. und Hadorn, H.*: Untersuchungen an Handelshonigen mit spezieller Berücksichtigung des Zuckerspektrums. *Apidologie* **6**, 59–80 (1975).
7. *Deifel, A.*: Gaschromatographische Bestimmung der Zucker im Honig. *Deut. Lebensm. Rundschau* **81**, 209–213 (1985).
8. *Sabatini, A. G., Nanetti, A., Maurizio, M. e Lercker, G.*: Studio dell'origine botanica dei mieli attraverso il profilo gaschromatographic dei componenti neutri. *Riv. Merceol.* **23**, 71–81 (1984).
9. *Dalla Sera, A., Versini, G. e Stringari, G.*: Separazione e dosaggio di zuccheri nei mieli per GC-capillare dopo reazione con metosiammina e silanizzazione. In: *Convegno nazionale per controllo ed analisi chimica nel settore alimentare*, Udine 1987.
10. *Mateo, R., Bosch, F., Pastor, A. and Jimenez, M.*: Capillary column gas chromatographic identification of sugars in honey as trimethylsilyl derivatives. *J. Chromatogr.* **410**, 319–328 (1987).
11. *Schwarzenbach, R.*: Flüssigchromatographische Zuckertrennung. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **68**, 64–71 (1977).
12. *Cerny, M., Blumenthal, A. und Taube, E.*: Zur routinemässigen Bestimmung der Zucker in Lebensmitteln. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **71**, 141–149 (1980).
13. *Nikolov, Z., Jakovlevic, J. and Boskov, Z.*: High performance liquid chromatographic separation of oligosaccharides using amine modified silica columns. *Stärke* **36**, 97–100 (1984).
14. *Thean, J. and Funderburk, W.*: High pressure liquid chromatographic determination of sucrose in honey. *J. AOAC* **60**, 838–841 (1977).
15. *Honda, S.*: High performance liquid chromatography of mono- and oligosaccharides. *Analyt. Biochem.* **140**, 1–47 (1984).

16. Verzele, M., Simons, G. and van Damme, F.: A critical review of some liquid chromatographic systems for the separation of sugars. *Chromatographia* **23**, 292–300 (1987).
17. Müller, H. und Siepe, V.: Quantitative Bestimmung einiger Mono- und Oligosaccharide in Lebensmitteln mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie. *Deut. Lebensm. Rundschau* **76**, 156–161 (1980).
18. Hendrix, D. L., Lee, R. E. and Baust, J. G.: Separation of carbohydrates and polyols by a radial compressed high-performance liquid chromatographic silica column modified with tetraethylpentamine. *J. Chromatogr.* **210**, 45–53 (1981).
19. Accorti, M., Persano Oddo, L., Piazza, M. G. e Sabatini, A. G.: Schede di caratterizzazione delle principali qualità di miele Italiano. *Apicoltura No 2*, 5–34 (1986).
20. Bogdanov, S., Rieder, K. und Rüegg, M.: Neue Qualitätskriterien bei Honiguntersuchungen. *Apidologie* **18**, 267–278 (1987).
21. Deifel, A., Gierschner, K. und Vorwohl, G.: Saccharose im Honig: Saccharose und deren Transglukosilierungsprodukte in natürlichen und Zuckerfütterungshonigen. *Deut. Lebensm. Rundschau* **81**, 356–362 (1985).

Dr. S. Bogdanov
E. Baumann
Sektion Bienen
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld