Zusatzmaterial

HMF-Bestimmung und Honigqualität

Ein neues Experiment für die Schule

B. Höhne1,2, B. Weyers1,3, I. Heil1,4 und J. Bohrmann1

1RWTH Aachen, Institut für Biologie II, ²Anne-Frank-Gymnasium Aachen, ³ Bienenzuchtverein Würselen, 4RWTH Aachen, Didaktik der Biologie und Chemie

Auf Seite 2 befindet sich die zusätzliche Hilfe für die Schülerinnen und Schüler (Beispiel zur Berechnung des HMF-Gehalts in einem Kilogramm Honig, im Artikel: Kasten 3). Es bietet sich an, diese Beispielrechnung ggf. mit Abbildung 3.a) zu kombinieren.

Das Zusatzmaterial enthält auch alle weiteren Abbildungen, Tabellen und Kästen aus dem Artikel, so dass diese je nach Bedarf gesondert verwendet und im Unterricht eingesetzt werden können.

Beispiel zur Berechnung des HMF-Gehalts in einem Kilogramm Honig

|  |
| --- |
| Geradengleichung der Eichgerade: y = 0,0004 L/mg \* x  Extinktion der getesteten Probe: 0,0068 (y-Wert)  0,0068 = 0,0004 L/mg \* x  x = 0,0068 / 0,0004 L/mg = 17 mg/L  Da die Probe zuvor aus einem Volumen von 30 Millilitern entnommen wurde (vgl. Arbeitsmaterial), ergibt sich folgender HMF-Gehalt:  17 mg/L \* 0,030 L = 0,51 mg  Da 8 Gramm der Probe eingewogen wurden, muss das Ergebnis mit 125 multipliziert werden, um den HMF-Gehalt in mg/kg zu erhalten:  0,51 mg \* 125 = 63,75 mg  Es sind also ca. 64 Milligramm HMF in einem Kilogramm der getesteten Probe enthalten. |

**Abb. 1:** Überblick über die drei selbst getesteten Methoden [7] zur Bestimmung des HMF-Gehalts in Honig [4, 18, 19].

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| a)D:\DATEN HEIL\Publ\Heil\PdN-BioS\66-4_Messen & Auswerten\PdN4-66_FINAL\PdN4-66_Beitrag3_Höhne\HMF_Abb2a_Qual15min.jpg |  | b)D:\DATEN HEIL\Publ\Heil\PdN-BioS\66-4_Messen & Auswerten\PdN4-66_FINAL\PdN4-66_Beitrag3_Höhne\HMF_Abb2b_Qual30min.jpg |

**Abb. 2:** Qualitativer Nachweis von HMF nach Fiehe, a) 15 Minuten nach Zugabe der Reaktionslösungen, b) nach 30 Minuten; von links nach rechts: Wibine Brotaufstrich, Hellmi Brotaufstrich, Alnatura Blütenhonig, RWTH Honig, frisch geschleudert. Für die evtl. anschließende quantitative Bestimmung genügt eine Wartezeit von 20 Minuten (Photometer) bzw. 15 Minuten (Colorimeter). (Fotos: Höhne)

****

**Abb. 3:** Eichgeraden, erstellt mit a) Photometer (Novaspec Plus, Fa. Biochrom) und b) Colorimeter (Fa. Vernier), unter Verwendung unterschiedlich verdünnter Lösungen mit jeweils bekanntem HMF-Gehalt (pro Verdünnungsstufe: Mittelwert aus drei Messungen +/- Standardabweichung). Aufgetragen ist die Extinktion gegen die HMF-Verdünnungsstufe. Eine Ausgleichsgerade y wurde jeweils mit Hilfe von Excel ermittelt und eingefügt. Die unterschiedliche Steigung der Eichgeraden zeigt, dass für jedes verwendete Gerät eine eigene Eichgerade erstellt werden sollte, wenn die Ergebnisse möglichst aussagekräftig sein sollen. (Zur Erstellung der Eichgeraden siehe Kasten 2.)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Fiehe  HMF [mg/kg] | Winkler  HMF [mg/kg] | White  HMF [mg/kg] |
| Wibine Brotaufstrich | 650 | 194 | 454 |
| Hellmi Brotaufstrich | 572 | 216 | 490 |
| Alnatura Blütenhonig | 117 | 18 | 38 |
| RWTH Honig | 64 | 3 | 4 |

**Tab. 1:** Vergleich der HMF-Gehalte für vier Lebensmittelproben, bestimmt mit den Messmethoden nach Fiehe, Winkler und White (verwendete Geräte: Photometer Novaspec Plus, Fa. Biochrom bzw. UV-Photometer, Fa. Orlab). Untersucht wurden zwei Invertzuckercremes (Wibine und Hellmi Brotaufstrich), ein echter Honig (Alnatura Blütenhonig) aus dem Handel sowie frisch geschleuderter Honig aus der Hochschulimkerei der RWTH Aachen.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| a) | Extinktion | HMF-Gehalt [mg/kg] |
| Wibine Brotaufstrich | 0,0693 (+/- 0,0107) | 649,69 |
| Hellmi Brotaufstrich | 0,0610 (+/- 0,0019) | 571,88 |
| Alnatura Blütenhonig | 0,0125 (+/- 0,0034) | 117,19 |
| RWTH Honig | 0,0068 (+/- 0,0028) | 63,75 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| b) | Extinktion | HMF-Gehalt [mg/kg] |
| Wibine Brotaufstrich | 0,0690 (+/- 0,0070) | 431,25 |
| Hellmi Brotaufstrich | 0,0742 (+/- 0,0068) | 463,75 |
| Alnatura Blütenhonig | 0,0000 (+/- 0,0000) | 0,00 |
| RWTH Honig | 0,0085 (+/- 0,0147) | 53,12 |

**Tab. 2:** Eigene Ergebnisse der quantitativen Analyse exemplarisch ausgewählter Honige und Invertzuckercremes. Die Werte wurden mittels a) Photometer und b) Colorimeter bestimmt. Gemessen wurde die Extinktion bei 470 nm nach 20 Minuten (Photometer) bzw. 15 Minuten (Colorimeter); Mittelwerte aus vier Messungen (Standardabweichung in Klammern).

|  |
| --- |
| * Carrez-I-Reagenz (Kaliumhexacyanoferrat(II) in H2O):   1,5 g K4[Fe(CN)6]\* 3 H2O in 10 mL A. dest.   * Carrez-II-Reagenz (Zinkacetat in H2O):   3g Zn(CH3COO)2\* 2 H2O in 10 mL A. dest.   * Seliwanoff-Reagenz (salzsaure Resorcin-Lösung):   0,2 g Resorcin 08 – Gesundheitsgefährdend 07 – Achtung 09 – Umweltgefährlichin 40 mL 20 %iger Salzsäure 05 – Ätzend 07 – Achtung |

**Kasten 1:** Reagenzien, die von der Lehrkraft angesetzt werden.

|  |
| --- |
| **Material:**   * 1 Messkolben (100 mL) * 1 Messkolben (50 mL) * 12 Schnappdeckelgläschen * wasserfester Stift * Glaspipette (5 mL) mit Pipettierhilfe * Analysenwaage (d = 0,01 g) * Photometer oder Colorimeter mit Küvetten * Stoppuhr * Handschuhe * Schutzbrille * HMF   **Es müssen Handschuhe und Schutzbrille getragen werden!**  **Gefahrstoffe werden von der Lehrkraft pipettiert!**   * 20%ige Salzsäure 05 – Ätzend 07 – Achtung * Seliwanoff-Reagenz 08 – Gesundheitsgefährdend 07 – Achtung 05 – Ätzend 09 – Umweltgefährlich * A. dest.   **Durchführung:**   * Stammlösung herstellen: 50 mg HMF abwiegen, in einen 100 mL Messkolben geben und bis zur Eichmarke mit A. dest. auffüllen * Verdünnungsstufen herstellen: jeweils 1, 2, 3, 4, 6, 8 mL der Stammlösung in einen 50 mL Messkolben überführen, dann mit A. dest. bis zur Eichmarke auffüllen * Referenz- und Probelösungen herstellen: von jeder Verdünnungsstufe jeweils 3 mL in zwei Schnappdeckelgläschen überführen; das eine Schnappdeckelgläschen mit 5 mL 20%iger Salzsäure versetzen (Referenzlösung), das andere mit 5 mL Seliwanoff-Reagenz (Probelösung; Achtung: nach Zugabe sofort die Zeit stoppen!) * Extinktion der Probelösung nach exakt 20 Minuten im Photometer bzw. 15 Minuten im Colorimeter bei 470 nm messen, Messwerte in Excel eintragen und eine Regressionsgerade ermitteln * Geradengleichung für die Ermittlung des HMF-Gehalts verschiedener Proben verwenden |

**Kasten 2:** Erstellen einer Eichgeraden. Im Photometer bzw. Colorimeter wird die Extinktion verschiedener Verdünnungsstufen gemessen, deren jeweiliger HMF-Gehalt bekannt ist. Die Verdünnungsstufen entsprechen 10, 20, 30, 40, 60 und 80 mg/L. Excel ermittelt aus den Messwerten eine Regressionsgerade, die zur Bestimmung des HMF-Gehalts der getesteten Proben verwendet wird. Hierzu wird die gemessene Extinktion in die Geradengleichung eingesetzt. Zuletzt ist der HMF-Gehalt pro Kilogramm Probe zu errechnen (s. Beispielrechnung in Kasten 3).