

HMF-Bestimmung und Honigqualität

Ein neues Experiment für die Schule

B. Höhne^{1,2}, B. Weyers^{1,3}, I. Heil^{1,4} und J. Bohrmann¹

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

Der Gehalt von Hydroxymethylfurfural (HMF) in Honig ist ein Parameter zur Beurteilung seiner Frische und einer sachgemäßen Wärmebehandlung beim Abfüllen. Die qualitative und quantitative Bestimmung von HMF werden als Schulexperimente vorgestellt.

Stichwörter: Hydroxymethylfurfural, HMF, Honig, Kunsthonig, Invertzuckercreme, Lebensmittel, Photometer, Colorimeter, Messen, Auswerten

1 Einleitung

„Honig ist der natursüße Stoff, der von Honigbienen [Bienen der Art *Apis mellifera*, Anm. d. Verf.] erzeugt wird, indem die Bienen Nektar von Pflanzen oder Absonderungen lebender Pflanzenteile oder sich auf den lebenden Pflanzenteilen befindende Sekrete von an Pflanzen saugenden Insekten aufnehmen, durch Kombination mit eigenen spezifischen Stoffen umwandeln, einlagern, dehydrieren und in den Waben des Bienenstocks speichern und reifen lassen.“ [9] Er gilt als natürliches und auch gesundes Lebensmittel – seine Qualität ist dem Verbraucher besonders wichtig. In keinem Land der Welt gibt es pro Kopf einen so hohen Honigverzehr wie in Deutschland. Honig enthält zahlreiche verschiedene Zucker, Wasser sowie weitere Inhaltsstoffe wie Pollen, Enzyme, Aminosäuren, Aromastoffe und Mineralien [15].

Für seine Deklaration und Verkaufsfähigkeit als Lebensmittel müssen festgelegte Qualitätsstandards und seine Naturbelassenheit gewährleistet werden. Diese lassen sich anhand bestimmter Eigenschaften und Bestandteile überprüfen. Bezüglich der Sortenbestimmung, des Wassergehaltes und weiterer Inhaltsstoffe konnten hierzu bereits Experimente für den Biologieunterricht abgeleitet werden [6, 7, 17, 18].

Ein weiterer wichtiger Bestandteil von Honig ist das Hydroxymethylfurfural (HMF). Dieses entsteht aus verschiedenen Zuckern – hauptsächlich Fructose – durch längeres Lagern oder Erhitzen [1, 10, 11]. Der Gehalt an HMF in einem Honig lässt demnach einen Rückschluss auf

dessen Frischegrad bzw. die richtige Temperaturbehandlung zu – zwei wichtige Parameter zur Gewährleistung der Unversehrtheit empfindlicher Inhaltsstoffe wie z.B. der von der Biene zugesetzten Enzyme.

Die deutsche Honigverordnung hat deshalb den Maximalgehalt an HMF auf 40 Milligramm pro Kilogramm Honig festgelegt (das sind lediglich 0,004 Prozent) [3, 9]. Honig unter dem Warenzeichen des Deutschen Imkerbundes darf sogar nur einen maximalen HMF-Gehalt von 15 mg/kg (bzw. natürlicherweise enzymschwacher Honig 5 mg/kg) aufweisen [16].

Frisch geschleuderter Honig enthält äußerst wenig HMF und erfüllt nach den neuen Leitsätzen für Honig in der Regel stets die Voraussetzung für die kennzeichnungsfähigen Qualitätsstufen „Auslese“ (HMF < 15mg/kg) und „Premium“ (HMF < 10mg/kg). Ein Honig, der mehr HMF als die zugelassene Menge enthält, ist also zu alt oder wärmebeschädigt und darf nicht verkauft werden.

Nur Honig im Sinne der oben aufgeführten Definition darf als „Honig“ bezeichnet werden. Künstlich hergestellte honigähnliche Produkte müssen klar als solche deklariert werden; zuweilen wird dafür auch der Begriff Invertzuckercreme verwandt. Der HMF-Gehalt ist hier deutlich höher. Vermutlich werden im Produktionsverfahren höhere Temperaturen eingesetzt.

Anhand des HMF-Gehalts lassen sich echter Honig und Kunsthonig unterscheiden, ggf. muss letzterem noch HMF zugegeben werden, um eine eindeutige Unterscheidung zu ermöglichen [5].

2 Methoden zur HMF-Bestimmung

Zur Messung des HMF-Gehalts in Honig und anderen Lebensmitteln [2] gibt es verschiedene Methoden (zur Übersicht s. z.B. Wikipedia). Gut ausgestattete Labore können die HPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) anwenden [21]. Für den Imker steht dagegen ein Schnelltest mit Teststäbchen zur Verfügung. Als Standardmethode gilt immer noch das Verfahren nach Winkler (DIN 10751/1: 2010-08) [20], welches jedoch wegen der Verwendung giftiger Chemikalien für Schulexperimente nicht in Frage kommt. Prinzipiell brauchbar erscheinen dagegen zwei weitere photometrische Analyseverfahren nach White [19] sowie nach Fiehe [4] (vgl. Abb. 1). Da das Verfahren nach White ein teures UV-Photometer erfordert, scheidet auch dieses in der Regel für Schulexperimente aus.

Stattdessen wird in diesem Beitrag die HMF-Bestimmung nach Fiehe [4] vorgeschlagen. Die Methodik wurde so modifiziert bzw. weiterentwickelt, dass sie als ungefährliches Schülerexperiment - qualitativ oder quantitativ - durchgeführt werden kann [8]: Die Konzentration der hierbei verwendeten Salzsäure wurde reduziert, ein Reagenz wurde ergänzt, das Volumen eines weiteren Reagenz wurde erhöht (Details s. Abschnitt 3). Die ursprünglich nur qualitative Bestimmungsmethode nach Fiehe wird unter Verwendung eines einfachen Photometers oder Colorimeters als quantitatives Verfahren umgesetzt (s. Abschnitt 3).

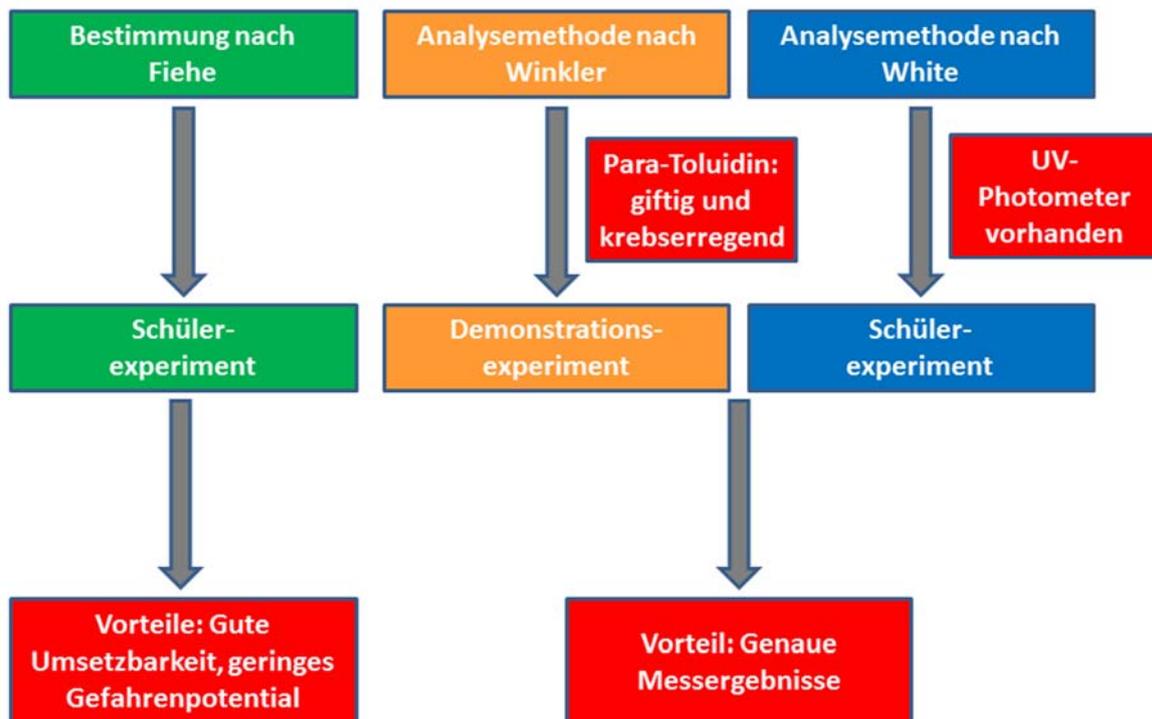


Abb. 1: Überblick über die drei selbst getesteten Methoden [7] zur Bestimmung des HMF-Gehalts in Honig [4, 18, 19].

Ein Methodenvergleich (Tab. 1), für den ein frisch geschleuderter Honig, ein Honig aus dem Handel sowie zwei Kunsthonige herangezogen wurden, zeigt zwar, dass sowohl bei dem hier vorgeschlagenen Verfahren nach Fiehe als auch bei dem Verfahren nach White die Werte von denen der Standardmethode nach Winkler deutlich abweichen, doch die Tendenzen sind gleich. Der frisch geschleuderte Honig weist bei allen Methoden die niedrigsten Werte auf, gefolgt vom älteren Honig aus dem Lebensmittelhandel und den beiden Kunsthonigen (Tab. 1).

	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

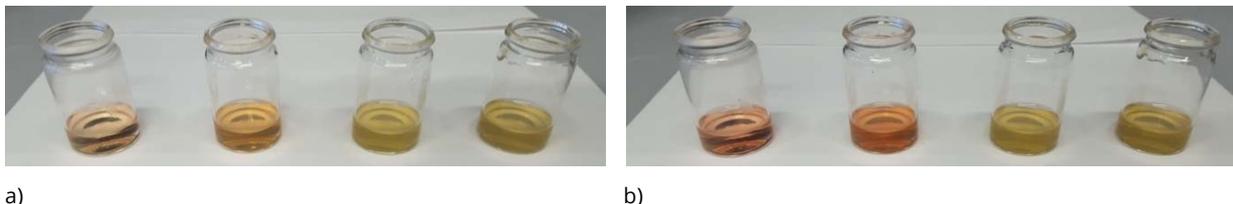
Tab. 1: Vergleich der HMF-Gehalte für vier Lebensmittelproben, bestimmt mit den Messmethoden nach Fiehe, Winkler und White (verwendete Geräte: Photometer Novaspec Plus, Fa. Biochrom bzw. UV-Photometer, Fa. Orlab). Untersucht wurden zwei Invertzuckercremes (Wibine und Hellmi Brotaufstrich), ein echter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

Die Einflüsse des unterschiedlichen Alters und einer Wärmebehandlung auf den HMF-Gehalt lassen sich also klar erkennen und sollten bei der Auswahl der zu untersuchenden Proben durch die Lehrkraft Berücksichtigung finden (s. Abschnitt 3). Eine Aussage über die tatsächliche Verkaufsfähigkeit der getesteten Honige muss allerdings den Lebensmitteluntersuchungsämtern vorbehalten bleiben. Diese müssen dafür auch in Ringversuchen durch Vergleichsmessungen von Standard-Eichhonigen ihre Analysequalität nachweisen [12].

3 Qualitative und quantitative HMF-Bestimmung in der Schule

3.1 Das Experiment

Für die Analyse eignen sich alle Honige, die im Handel erhältlich sind – unabhängig von Sorte und Konsistenz. Ideal wäre ein Vergleich mit ebenfalls im Handel erhältlichen Invertzuckercremes (mit deutlich höherem HMF-Gehalt) sowie frisch geschleuderten Honigen (mit sehr geringem HMF-Gehalt), die durch eine Kooperation mit einer eventuell an der Schule vorhandenen Bienen-AG oder einem ortsansässigen Imker bezogen werden könnten. Vermutlich ist Honig aus dem Ausland aufgrund längerer Wege und Lagerzeiten im Vergleich zu deutschem Honig älter, wenn er in den Handel gelangt, so dass hier deutlichere Unterschiede zu einem frisch geschleuderten Honig erwartet werden dürften. Der für die eigenen Messungen verwendete „Alnatura Blütenhonig“ (s. Abschnitt 2.2) stammte laut Etikett aus Brasilien, Kuba, Mexiko und Nicaragua.



a)

b)

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)

Zum Nachweis von HMF wird die Probe gelöst, gefällt und geklärt und sodann mit einer Reaktionslösung versetzt (s.u.), die die zu testende Probe umso stärker anfärbt, je höher der HMF-Gehalt ist (und je länger die Wartezeit nach der Zugabe ist; Abb. 2). Während Kunsthonig und echter Honig auf diese Weise bereits qualitativ voneinander unterschieden werden können, ist dies bei geringen Differenzen des HMF-Gehalts nicht möglich (Abb. 2).

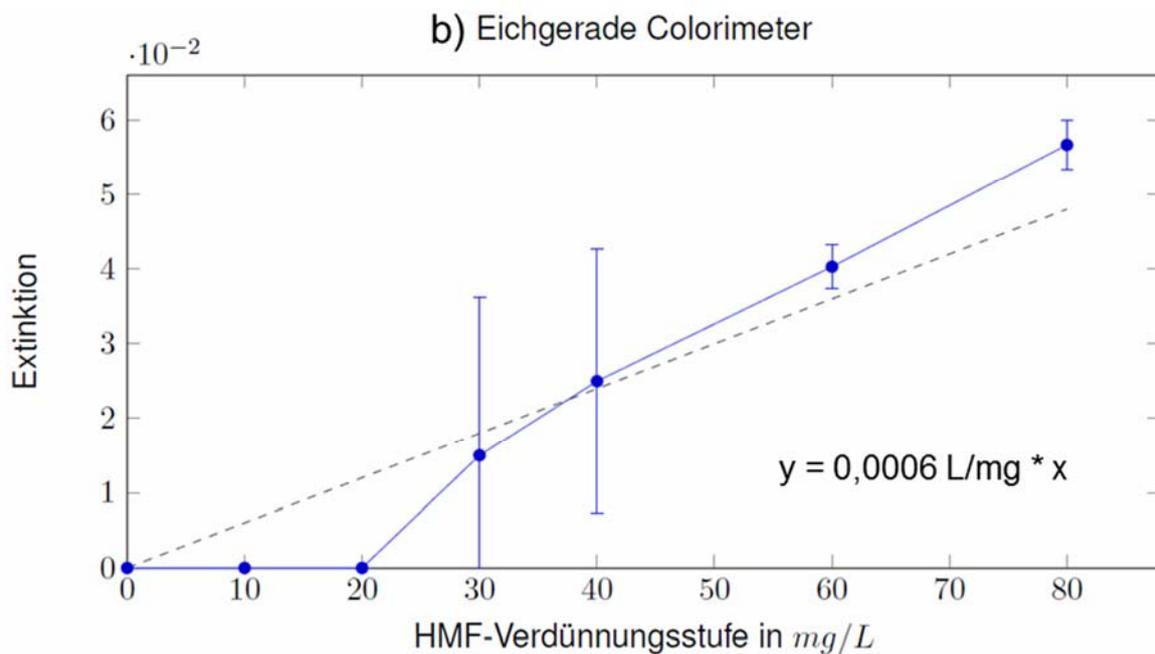
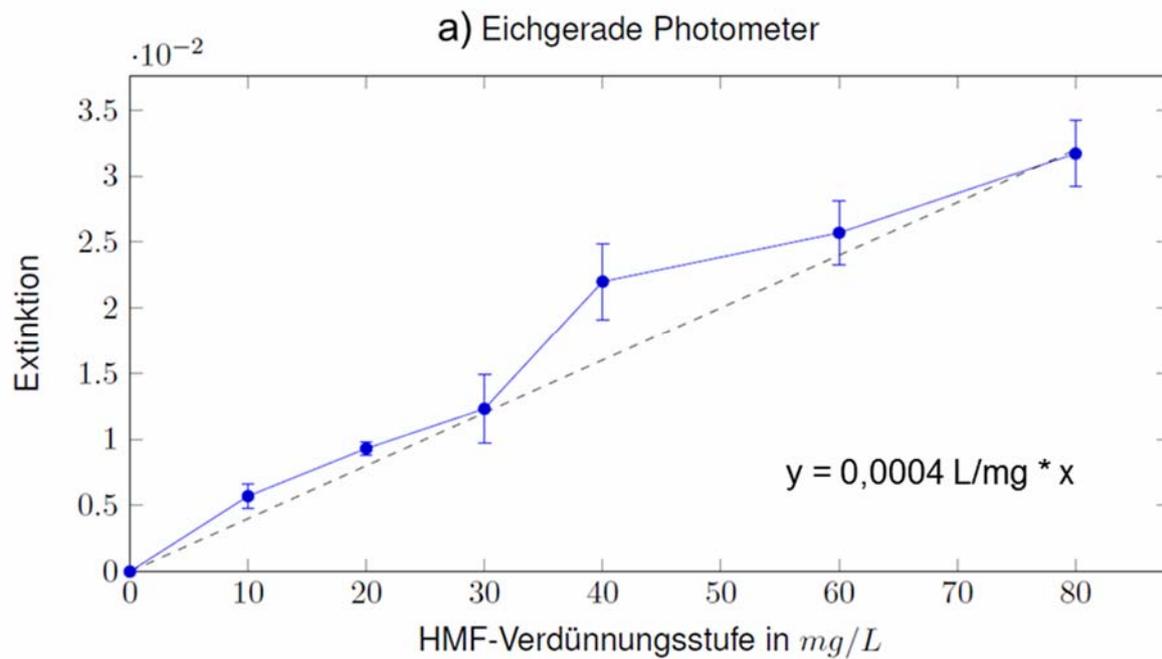


Abb. 3: Eichgeraden, erstellt mit a) Photometer (Novaspec Plus, Fa. Biochrom) und b) Colorimeter (Fa. Vernier), unter Verwendung unterschiedlich verdünnter Lösungen mit jeweils bekanntem HMF-Gehalt (pro Verdünnungsstufe: Mittelwert aus drei Messungen \pm Standardabweichung). Aufgetragen ist die Extinktion 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.)

Die Messung des HMF-Gehaltes der Proben erfolgt mittels Photometer bei einer Wellenlänge von 470 nm. Steht in der Schule kein Photometer zur Verfügung, kann alternativ ein Colorimeter verwendet werden. Colorimeter sind im Handel für ca. 150 Euro erhältlich (z.B. Vernier). Das Colorimeter ist bei geringen HMF-Werten zwar nicht so genau, erfüllt aber dennoch seinen Zweck (Abb. 3).

Nachfolgend wird die Vorgehensweise näher erläutert (vgl. Arbeitsmaterial sowie Kasten 1-3).

Die zu untersuchenden Proben werden für die Messung mit Wasser versetzt und darin gelöst. Am besten eignet sich hierfür eine Magnetrührplatte mit Rührfisch, es kann jedoch auch auf einen Spatel zurückgegriffen und der Honig unter Rühren per Hand in Lösung gebracht werden. Für die Einwaage der Proben (s.u.) kann mit kleinen Löffeln oder Spateln gearbeitet werden. Als Gefäße eignen sich besonders gut Schnappdeckelgläschen oder Weithals-Plastikflaschen. Zur Fällung werden nacheinander Carrez-I- und Carrez-II-Reagenz (s. Kasten 1, Arbeitsmaterial) hinzugegeben. Anschließend wird die Lösung unter Verwendung von Trichter, Filterpapier und Stativ filtriert und dadurch geklärt.

Für die photometrische Messung werden eine Probelösung und eine Referenzlösung hergestellt. Hierbei kommen Reagenzien zum Einsatz, bei denen es sich um Gefahrstoffe handelt, weshalb diese von der Lehrkraft anzusetzen (s. Kasten 1 und 2) bzw. von dieser zu dem von den Schülerinnen und Schülern gewonnenen Filtrat zu pipettieren sind (s. Arbeitsmaterial): Das Filtrat der Probelösung wird mit salzsaurer Resorcin-Lösung (Seliwanoff-Reagenz, s. Kasten 1) versetzt, die Referenzlösung nur mit salzsaurer Lösung. Zur Messung der Extinktion werden Teilmengen der Lösungen in Küvetten überführt.

- Carrez-I-Reagenz (Kaliumhexacyanoferrat(II) in H₂O):

1,5 g $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3 H_2O$ in 10 mL A. dest.

- Carrez-II-Reagenz (Zinkacetat in H₂O):

3g $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$ in 10 mL A. dest.

- Seliwanoff-Reagenz (salzsaure Resorcin-Lösung):

0,2 g Resorcin



in 40 mL 20 %iger Salzsäure



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

Für jede zu testende Probe wird wie beschrieben vorgegangen und die jeweilige Extinktion gemessen. Die erhaltenen Extinktionen werden mit Hilfe einer Eichgeraden ausgewertet (s. Abb. 3 und Kasten 2). Das dafür benötigte HMF kann bei einem Vertrieb für Chemikalien erworben werden (z.B. Sigma Aldrich). Der ermittelte HMF-Gehalt der Probe ist sodann auf ein Kilogramm Honig umzurechnen (Beispielrechnung in Kasten 3). Exemplarische Werte, die durch eigene Experimente ermittelt wurden, finden sich in Tab. 2.

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
- 20%ige Salzsäure 
- Seliwanoff-Reagenz 
- A. dest.

Es müssen Handschuhe und Schutzbrille getragen werden!

Gefahrstoffe werden von der Lehrkraft pipettiert!

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).

Geradengleichung der Eichgerade: $y = 0,0004 \text{ L/mg} \cdot x$

Extinktion der getesteten Probe: 0,0068 (y-Wert)

$$0,0068 = 0,0004 \text{ L/mg} \cdot x$$

$$x = 0,0068 / 0,0004 \text{ L/mg} = 17 \text{ mg/L}$$

Da die Probe zuvor aus einem Volumen von 30 Millilitern entnommen wurde (vgl. Arbeitsmaterial), ergibt sich folgender HMF-Gehalt:

$$17 \text{ mg/L} \cdot 0,030 \text{ L} = 0,51 \text{ mg}$$

Da 8 Gramm der Probe eingewogen wurden, muss das Ergebnis mit 125 multipliziert werden, um den HMF-Gehalt in mg/kg zu erhalten:

$$0,51 \text{ mg} \cdot 125 = 63,75 \text{ mg}$$

Es sind also ca. 64 Milligramm HMF in einem Kilogramm der getesteten Probe enthalten.

Kasten 3: Beispiel zur Berechnung des HMF-Gehalts in einem Kilogramm Honig. Verwendet wurde die Geradengleichung, für welche die mittels Photometer bestimmten Werte herangezogen wurden (s. Abb. 3a). Die hier gezeigte Beispielrechnung ergänzt das Arbeitsmaterial im Sinne einer zusätzlichen Hilfe (gesondert verfügbar im Zusatzmaterial).

3.2 Mögliche Fehlerquellen

Ungenauere Messergebnisse können sich durch Fehler bei der Durchführung und durch systematische Fehler ergeben. Die nachfolgenden Empfehlungen sollen dabei helfen, diese möglichst zu vermeiden.

Alle verwendeten Geräte müssen zu Beginn einer jeden Messung sauber und trocken sein. Für das Abwiegen der Proben ist exaktes Trieren und Ablesen der Einwaage notwendig. Alternativ könnte in der Schule auch mit größeren Wagen gearbeitet werden. Dafür müsste der Versuchsansatz jedoch deutlich vergrößert werden, sodass im Anschluss Material verworfen werden müsste. Für die Herstellung der Verdünnungsstufen zur Erstellung der Eichgeraden sollte mit Messkolben gearbeitet werden, um den Fehler bei der Verdünnung so gering wie möglich zu halten.

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).

Beim beschriebenen Vorgehen wird vereinfacht davon ausgegangen, dass die eingewogenen Probenmengen stets gleiche Volumina ergeben, außerdem wird mit ganzen Zahlen gerechnet (Honig und Kunsthonig haben eine Dichte von ungefähr 1,5 g/mL [5], für acht Gramm Probe werden fünf Milliliter Volumen veranschlagt). Für ein exakteres Vorgehen wären anstelle der hier aus Gründen der Einfachheit vorgeschlagenen Schnappdeckelgläschen entsprechend skalierte Gefäße (z.B. Falcon-Gefäße) erforderlich, die das Auffüllen auf ein bestimmtes Endvolumen erlauben.

Es ist darauf zu achten, dass die Lösungen homogen durchmischt sind, bevor sie für die Färbereaktion und die anschließende Messung verwendet werden. Für den Zeitpunkt der Messung ist stets die gleiche Zeit (nach Versetzen mit Seliwanoff-Reagenz) abzuwarten, da die Färbung der Lösung mit der Zeit intensiver wird. Auch sollten alle Messungen mit demselben Gerät erfolgen.

Die Genauigkeit der hier verwendeten Methode nach Fiehe reicht selbstverständlich nicht an die der Methoden heran, die in Laboratorien zur Prüfung von Lebensmitteln angewendet werden (s.o). Diese für den Unterricht vorgeschlagene Methode kann gut zum Vergleich der getesteten Honige verwendet werden, liefert jedoch keine definitive Aussage über deren tatsächliche Verkaufsfähigkeit.

4 Bemerkungen zum Unterricht

4.1 Alltags- und Lehrplanbezug

Der vorliegende Unterrichtsvorschlag zur Messung des HMF-Gehalts in Honig repräsentiert das Vorgehen eines Wissenschaftlers in einem Labor zur Lebensmittelprüfung: Er zeigt exemplarisch auf, nach welchen Prinzipien naturwissenschaftliches Arbeiten nicht nur in der (Grundlagen-) Forschung abläuft, sondern auch in behördlichen Einrichtungen, die die Einhaltung von Vorschriften zur Qualität und Sicherheit von Lebensmitteln kontrollieren und auf diese Weise den Schutz des Verbrauchers sicherstellen.

Für solche Kontrollen sind naturwissenschaftliche Kenntnisse, Fähigkeiten und Fertigkeiten von großer Bedeutung: Die Schülerinnen und Schüler formulieren zu Beginn der Analyse Fragestellung und Hypothese bezüglich des HMF-Gehalts verschiedener Honige, führen Messungen durch, rechnen mit den ermittelten Messwerten weiter, vergleichen die gewonnenen Ergebnisse und bewerten den Geltungsbereich und die Aussagekraft der Messmethodik; ggf. unterziehen sie die Ergebnisse einer statistischen Überprüfung auf Signifikanz. Zudem wird den Schülerinnen und Schülern sorgfältiges und exaktes Arbeiten abverlangt. Aufgrund der Tatsache, dass eine photometrische Messung durchgeführt wird, sind auch interdisziplinäre Kompetenzen, z.B. aus den Fächern Chemie und Physik, erforderlich.

Die genannten prozessbezogenen Kompetenzen werden am Beispiel eines alltäglich verwendeten Lebensmittels, dem Honig, im Kontext von Lebensmittelprüfung und Verbraucherschutz (weiter)entwickelt.

„Lernen in Kontexten bedeutet, dass Fragestellungen aus der Praxis der Forschung, technische und gesellschaftliche Fragestellungen und solche aus der Lebenswelt der Schülerinnen und Schüler den Rahmen für Unterricht und Lernprozesse bilden. Dafür geeignete Kontexte beschreiben reale Situationen mit authentischen Problemen, deren Relevanz auch für Schülerinnen und Schüler erkennbar ist und die mit den zu erwerbenden Kompetenzen gelöst werden können.“ [14, S. 12f].

Der Unterrichtsvorschlag eignet sich sowohl für die Sekundarstufe I als auch für den Beginn der Sekundarstufe II. In der Sekundarstufe I lässt er sich an verschiedene Themen anknüpfen; in Bezug auf den Kernlehrplan für Gymnasien des Landes Nordrhein-Westfalen [13] beispielsweise in der 5./6. Jahrgangsstufe im Inhaltsfeld „Bau und Leistung des menschlichen Körpers“ (speziell „Ernährung und Verdauung“) im fachlichen Kontext „Lecker und gesund“, oder im Inhaltsfeld „Pflanzen und Tiere, die nützen“, wenn die Honigbiene als Nutztier behandelt wird. Eine detaillierte Erarbeitung der photometrischen Messung als Analysemethode empfiehlt sich bei der Durchführung des Unterrichtsvorschlags zu Beginn der Sekundarstufe II, um die Schülerinnen

und Schüler „auf einen erfolgreichen Lernprozess in der Qualifikationsphase vorzubereiten.“ [14, S. 13].

Ebenfalls eignet sich die Durchführung des Unterrichtsvorschlags in einer Bienen-AG oder im Rahmen einer Projekt-Arbeit, die auch fächerverbindend mit den Unterrichtsfächern Chemie und Physik umgesetzt werden kann.

4.2 Hinweise zum Unterrichtsverlauf und zum Arbeitsmaterial

Der Ablauf des Unterrichts kann anhand des Arbeitsmaterials nachvollzogen werden. Der Aufbau des Materials entspricht den Schritten der naturwissenschaftlichen Erkenntnisgewinnung. Ausgangspunkt sind Informationen über Hydroxymethylfurfural in Honig und Invertzuckercremes und die gesetzlichen Vorschriften hierzu. Im Idealfall werden daher im Handel gekaufte Honige und Kunsthonige sowie möglichst auch frische Honige getestet. Entsprechend werden Fragestellung und Hypothese formuliert (s. Abschnitt 4.3).

Für die Versuchsdurchführung empfiehlt sich eine Gruppengröße von maximal vier Schülerinnen und Schülern sowie ein arbeitsteiliges Vorgehen. Interessant ist dann ein Vergleich der Ergebnisse unterschiedlicher Gruppen für ein- und dieselbe Probe, die sicherlich nicht gleich sein werden, so dass Mittelwerte zu bilden sind. So kann die Notwendigkeit von Wiederholungen, einer ausreichenden Stichprobengröße und auch einer statistischen Auswertung deutlich werden.

Im Arbeitsmaterial werden die gemessenen Extinktionen (jeweiliger Einzelwert der eigenen Gruppe) als Beobachtung festgehalten. Zur Auswertung werden aus den Werten aller Gruppen Mittelwerte gebildet und daraus der jeweilige HMF-Gehalt pro Kilogramm Honig errechnet (ggf. mit Hilfe einer Beispielrechnung, vgl. Kasten 3). Die erhaltenen Werte werden tabellarisch notiert (Tab. 1). Es ist zu erwarten, dass die Messergebnisse die zu Beginn aufgestellte Hypothese bestätigen. Abweichende Ergebnisse können aber aufgrund von Fehlern bei der Versuchsdurchführung auftreten und müssen diskutiert werden (s. Abschnitt 3.2). In jedem Fall wird deutlich, dass im Handel verkaufte Lebensmittel gewissen Kontrollen unterliegen, die auch von Schülerseite mit dem nötigen Faktenwissen und den benötigten Geräten nachvollzogen bzw. durchgeführt werden können.

4.3 Lösungen zum Arbeitsmaterial

- Fragestellung: Welchen HMF-Gehalt weisen die von uns zu testenden Proben auf?
- Hypothese: Im Handel erworbener Honig enthält maximal 40 Milligramm HMF pro Kilogramm, frisch oder erst kürzlich geschleuderter Honig enthält deutlich weniger HMF als 40 mg/kg, Kunsthonig enthält deutlich mehr HMF als 40 mg/kg. (Die vorgeschlagene

Formulierung setzt voraus, dass zu allen genannten Kategorien Proben zur Verfügung stehen; ggf. ist die Hypothese an die im eigenen Unterricht verwendeten Proben anzupassen.)

- Ergebnisse und Auswertung: Exemplarische Werte finden sich in Tab. 2. Der Lückentext wird entsprechend den eigenen Gegebenheiten ausgefüllt; zu den möglichen im Freitext zu berücksichtigenden Aspekten siehe Abschnitt 2.2 und 3.2.

Anschrift der Autoren

Benjamin Höhne^{1,2}, LAA, Dr. rer. nat. Bruno Weyers^{1,3}, Prof.-Vertr. Dr. rer. nat. Ingeborg Heil^{1,4}, OStR i.H. und Prof. Dr. rer. nat. Johannes Bohrmann¹; ¹RWTH Aachen, Institut für Biologie II, Worringerweg 3, 52056 Aachen; ²Anne-Frank-Gymnasium, Hander Weg 89, 52070 Aachen; ³Bienenzuchtverein Würselen, Heinrichstr. 10, 52146 Würselen; ⁴RWTH Aachen, Didaktik der Biologie und Chemie; E-Mail (für die Autoren): weyers@bio2.rwth-aachen.de

Literatur

- [1] Beckmann, K. (2008): Neue Ansätze in der Qualitätssicherung von Honig. Dissertation. TU Dresden; online: www.qucosa.de/fileadmin/data/qucosa/documents/342/1229009550108-6197.pdf (08.01.2019).
- [2] Bundesinstitut für Risikobewertung (2001): 5-HMF-Gehalte in Lebensmitteln sind nach derzeitigem wissenschaftlichen Kenntnisstand gesundheitlich unproblematisch; online: http://www.bfr.bund.de/cm/343/5_hmf_gehalte_in_lebensmitteln_sind_nach_derzeitigem_wissenschaftlichen_kennntnisstand_gesundheitlich_unproblematisch.pdf (09.01.2019).
- [3] Dustmann, J.H. (2006): Richtlinien zur Untersuchung/Beurteilung von Honig unter dem Warenzeichen des Deutschen Imkerbundes e.V.; online: http://deutscherimkerbund.de/userfiles/downloads/satzung_richtlinien/Merkblatt_3-5.pdf (09.01.2019).
- [4] Fiehe, J. und Kordatzki W. (1929): Über den Nachweis von Oxymethylfurfurol im Honig und Kunsthonig. Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel 58:468-70; online: <http://documents.tips/download/link/ueber-den-nachweis-von-oxymethylfurfurol-im-honig-und-kunsthonig> (09.01.2019).
- [5] Franzke, C. (Hg.) (1996): Allgemeines Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Hamburg: Behr.
- [6] Heil, I., Poloczek, R. und Bohrmann, J. (2012): Die Honigbiene im Biologieunterricht – Teil 6: „Ist auch drin, was drauf steht?“ – Unterrichtsvorschlag zur Untersuchung von Sortenhonigen mittels Pollenanalyse. Praxis der Naturwissenschaften – Biologie in der Schule 6/61:34-38.
- [7] Heil, I., Karzell, R., Zimmermann, M. und Bohrmann, J. (2015): Honig bei Halsentzündung? – Schulversuche zur antimikrobiellen Wirkung von Honig. Praxis der Naturwissenschaften – Biologie in der Schule 2/64:10-17.

- [8] Höhne, B. (2015): Honiganalyse im Biologieunterricht – Entwicklung eines Schulexperiments. Schriftliche Hausarbeit im Rahmen der Ersten Staatsprüfung. RWTH Aachen.
- [9] Honigverordnung (HonigV) vom 16. 01.2004, zuletzt geändert 05.07.2017; online: https://deutscherimkerbund.de/userfiles/downloads/satzung_richtlinien/Honigverordnung_02_18.pdf (08.01.2019).
- [10] Horn, H. und Lüllmann, C. (1992): Das große Honigbuch, München: Ehrenwirth.
- [11] Lipp, J. (1994): Handbuch der Bienenkunde. Der Honig. Stuttgart: Ulmer.
- [12] Lvu GbR. Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen; online: <https://www.lvus.de/index.php/de/> (08.01.2019).
- [13] Ministerium für Schule und Weiterbildung des Landes Nordrhein-Westfalen (Hg.) (2008): Kernlehrplan für das Gymnasium – Sekundarstufe I in Nordrhein-Westfalen. Biologie. Ritterbach: Frechen.
- [14] Ministerium für Schule und Weiterbildung des Landes Nordrhein-Westfalen (Hg.) (2014): Kernlehrplan für das Gymnasium – Sekundarstufe II in Nordrhein-Westfalen. Biologie. Ritterbach: Frechen.
- [15] Nitschmann, J. und Hüsing, O. (Hg.) (1987): Lexikon der Bienenkunde. Wien: Tosa.
- [16] von der Ohe, W., LAVES Institut für Bienenkunde Celle (o. J.): Erläuterungen zur Neufassung der Leitsätze für Honig; online: http://deutscherimkerbund.de/userfiles/downloads/satzung_richtlinien/Erlaeuterungen_neue_Leitsaetze_Honig.pdf (08.01.2019).
- [17] Weyers, B., Höhne, B., Heil, I. und Bohrmann, J. (2015): Reifer Honig oder nicht? Das ist hier die Frage! – Zwei einfache Methoden zur Bestimmung des Wassergehalts von Bienenhonig. Praxis der Naturwissenschaften – Biologie in der Schule 2/64:4-10.
- [18] Weyers, B., Ommerborn, S., Heil, I. und Bohrmann, J. (2015): Linden-, Raps- oder Waldhonig? Koste mal! – Sensorische Überprüfung von Sortenhonigen. Praxis der Naturwissenschaften – Biologie in der Schule 7/64:12-16.
- [19] White, J.W. Jr. (1979): Spectrophotometric method for hydroxymethylfurfural in honey. Journal – Association of Official Analytical Chemists 62(3):509-14; abstract online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/479072> (15.01.2019).
- [20] Winkler, O. (1955): Beitrag zum Nachweis und zur Bestimmung von Oxymethylfurfural in Honig und Kunsthonig. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 102(3): 161-167; online: <https://doi.org/10.1007/BF01683776> (08.01.2019).
- [21] Zappalà, M., Fallico, B., Arena, E. and Verzera A. (2005): Methods for the determination of HMF in honey: A comparison. Food Control 16(3):273-277; online: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.03.006> (08.01.2019).

Protokoll: Bestimmung des HMF-Gehalts von Honig

Einleitung

Ein Honig, der in Europa in den Verkauf gebracht wird, darf maximal 40 Milligramm Hydroxymethylfurfural (HMF) pro Kilogramm Honig enthalten. HMF entsteht aus den Zuckern Glucose und Fructose, die in Honig enthalten sind. Ein frisch geschleuderter Honig enthält noch besonders wenig HMF. Je länger und auch je wärmer ein Honig gelagert wird, desto mehr HMF entsteht. Der HMF-Gehalt von Kunsthonig (Invertzuckercreme) ist noch deutlich höher, dadurch können Lebensmittelprüfer diesen von echtem Honig unterscheiden.

Fragestellung

Hypothese

Material

- Verschiedene Honige und Kunsthonige
- Spatel oder kleiner Löffel
- Schnapdeckelgläschen (2 pro Probe)
- Messzylinder (50 mL)
- Erlenmeyerkolben (50 mL)
- Wasserfester Stift
- Filterpapier
- Trichter
- Stativ mit Stativmaterial
- Einweghandschuhe
- Schutzbrille
- Stoppuhr
- Glaspipette (5 mL) mit Pipettierhilfe
- Feinwaage (d = 0,1 g)
- Magnetrührer und Rührfisch
- Photometer oder Colorimeter mit Küvetten
- Carrez-I-Reagenz
- Carrez-II-Reagenz
- Seliwanoff-Reagenz 
- 20%ige Salzsäure 
- A. dest.

- **Es müssen Schutzbrille und Handschuhe getragen werden!**
- **Gefahrstoffe werden von der Lehrkraft pipettiert!**

Durchführung

- 8 g der jeweiligen Probe in ein Schnappdeckelglaschen einwiegen, mit 23 mL A. dest. versetzen und so lange rühren (ca. 5 min), bis diese vollständig gelöst ist (Spatel/Löffel sowie Magnetrührer und Rührfisch)
- Filterpapier in den Trichter geben, diesen am Stativ befestigen, Erlenmeyerkolben darunterstellen
- Lösung mit jeweils 1 mL Carrez-I-Reagenz und 1 mL Carrez-II-Reagenz versetzen und filtrieren
- Filtrat auffangen und jeweils 3 mL davon in zwei Schnappdeckelglaschen überführen
- Lehrkraft (!): das eine Schnappdeckelglaschen 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 Messprobe nach exakt 20 Minuten im Photometer oder nach 15 min im Colorimeter bei 470 nm messen, Messwert notieren:

_____ (Probe Nr. ____, Produktbezeichnung: _____)

Ergebnisse und Auswertung

- Messwerte der verschiedenen Gruppen sammeln, Mittelwerte berechnen und in Tab. 1 notieren
- Extinktionen in die Geradengleichung der Eichgeraden einsetzen
- jeweiligen HMF-Gehalt von 1 Kilogramm der getesteten Proben berechnen (hierzu ggf. Beispielrechnung nutzen) und in Tab. 1 notieren
- Ergebnisse hinsichtlich der Eingangsfrage und aufgestellten Hypothese auswerten:
 - Überblick über getestete Proben geben, auf ermittelte Werte Bezug nehmen und Schlussfolgerung ziehen (Lückentext)
 - mögliche Fehlerquellen und evtl. erforderliches weiteres Vorgehen berücksichtigen (Freitext im Kasten)

Nr.	Produktbezeichnung	Extinktion bei 470 nm (Mittelwerte)	HMF-Gehalt der Probe (Mittelwerte)
1			mg/kg
2			mg/kg
3			mg/kg
4			mg/kg

Tabelle 2: Extinktion und HMF-Gehalt der untersuchten Proben

Es wurden insgesamt ____ Proben getestet:

- im Handel gekaufter Honig (____ Sorten: Probe Nr. ____, ____, ____).
- im Handel gekaufter Kunsthonig (____ Sorten: Probe Nr. ____, ____, ____).
- frisch geschleuderter Honig (____ Sorten: Probe Nr. ____, ____, ____).

Der jeweilige HMF-Gehalt pro Kilogramm Probe ist Tab. 1 zu entnehmen.

Die Ergebnisse bestätigen falsifizieren die eingangs aufgestellte Hypothese.

Mögliche Fehlerquellen, die evtl. Abweichungen vom erwarteten Ergebnis erklären könnten, sind z.B.: