


Station 5: Welche Vorgänge laufen bei der Reifung des Honigs ab?

Teil 1: Simuliere und protokolliere die Veränderungen des Wassergehalts während der Honigreifung!

Geräte und Chemikalien:

Becherglas (400 ml), Spatel, Waage, Messzylinder (50 ml), Einmalpipetten, Heizplatte, Glasstab, Probengläschen mit Deckel (6 x), Abbé-Refraktometer

Eingesetzte Stoffe	Gefahrensymbole	H- und P-Sätze
destilliertes Wasser	-	-
Haushaltszucker	-	-
Glycin	-	-
Zitronensaft	-	-
Ethanol		H: 225 P: 210
verschiedene Honigsorten	-	-

Durchführung:

- a) Es werden 30 g Zucker und eine Spatelspitze Glycin in ein Becherglas gegeben. Anschließend werden 30 ml destilliertes Wasser und 1 – 2 ml Zitronensaft hinzugefügt und unter Rühren erwärmt. Sobald der Zucker vollständig gelöst ist, wird mit einer Pipette eine Probe (ca. 1 – 2 ml) genommen und in ein Probengläschen überführt. Die Lösung wird zum Sieden erhitzt. Während des Aufkochens werden im Abstand von etwa zwei Minuten drei bis vier weitere Proben entnommen. Wenn die Lösung eine „honigartige“ Konsistenz angenommen hat, wird das Becherglas von der Heizplatte genommen und eine letzte Probe entnommen.

Achtung! Die Lösung darf nicht zu dickflüssig werden! Nachdem die letzte Probe entnommen wurde, sollte die Lösung mit viel destilliertem Wasser verdünnt werden, da sie sonst erstarrt und im Becherglas festgeklebt!

- b) Sobald die Proben auf Raumtemperatur abgekühlt sind, können sie mit dem Refraktometer untersucht werden (vgl. Abb. 1). Dazu werden einige Tropfen der Probe mit einer Pipette vorsichtig auf das primäre Prisma des Refraktometers überführt. **Achtung!** Die Pipette sollte dabei das Prisma nicht berühren!

Das sekundäre Prisma wird geschlossen. Durch das Okular wird die Hell-Dunkel-Grenzlinie beobachtet, während diese mit Hilfe des Einstellknopfes genau in das Fadenkreuz verschoben wird (vgl. Abb. 1). Der Brechungsindex kann nun auf der Skala abgelesen werden. Nach jeder Messung muss das Prisma erst mit destilliertem Wasser und dann mit Ethanol vorsichtig gereinigt werden.

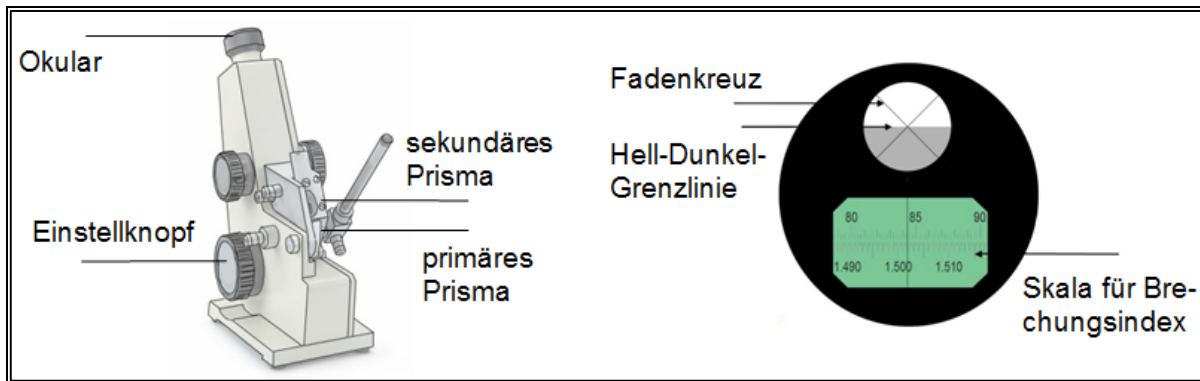


Abb. 1: Aufbau eines Refraktometers und Fadenkreuz mit Skala zum Ablesen der Brechungsindizes, entnommen aus:

[Euromex. (o.J.). Bedienungsanleitung Novex Abbé Refraktometer 98.490., verfügbar unter <http://repository.phywe.de.scipio.altoserver.de/files/bedanl.pdf/35912.00/d/3591200d.pdf>]

- c) Die refraktometrische Messung wird anschließend mit verschiedenen Honigsorten durchgeführt. Der Wassergehalt kann damit aus Tab. 2 abgelesen werden und wird abschließend mit dem Wassergehalt des hergestellten Kunsthonigs verglichen.

Beobachtung:

Die zunächst klare Lösung wird beim Erhitzen dickflüssig und färbt sich nach einiger Zeit „honigfarben“. Zudem ist ein schwacher, süßlicher Geruch wahrnehmbar. Die Brechungsindizes nehmen von der ersten bis zur letzten Probe kontinuierlich zu, Beispielwerte sind in Tab. 1 zusammengefasst. Eine Auflistung der Brechungsindizes der untersuchten Honigsorten ist in Tab 2 zusammengestellt.

Tab. 1: Brechungsindizes und Wassergehalt der Proben

Honigprobe	Zeitpunkt der Probenentnahme	Brechungsindex	Wassergehalt
1	sobald gelöst	1,4280	über 39,2 %
2	+ 4 min	1,4395	über 39,2 %
3	+ 6 min	1,4430	37,4 %
4	+ 8 min	1,4585	31,2 %
5	+ 10 min	1,4730	25,4 %
6	+ 12 min	1,4870	19,8 %

Tab. 2: Brechungsindices und Wassergehalt verschiedener Honige

verwendeter Honig	Brechungsindex	Wassergehalt
Hublandsommer (Bienenstation Uni Würzburg)	1,4900	18,6 %
Frühlingsblüte (Bienenstation Uni Würzburg)	1,4905	18,4 %
Waldhonig (Bienenstation Uni Würzburg)	1,4965	16,0 %
Wald- mit Blütenhonig (Langnese Flotte Biene)	1,4945	16,8 %
Wildblütenhonig (Langnese Flotte Biene)	1,4930	17,4 %

Deutung:

Zucker, Aminosäuren und Wasser sind Bestandteile der von den Bienen eingesammelten Rohstoffe des Honigs und sollen diese simulieren. Zitronensaft wird zugegeben um das leicht saure Milieu, in dem die natürliche Honigreifung abläuft, zu simulieren. In der Natur werden die Rohstoffe des Honigs durch die Bienen in den Stock getragen wo der unreife Honig durch spezielle Lagertechniken in den Waben der 30 bis 35 °C warmen Stockluft ausgesetzt wird. Da der Prozess des Wasserentzugs in der Natur bis zu drei Tagen dauert, werden die Versuchsbedingungen in der Simulation insofern geändert, dass die Temperatur im Experiment weit über der im Bienenstock vorherrschenden Temperatur liegt. Damit wird der Verdunstungsvorgang beschleunigt.

Die Farbe und der Geruch sind auf die *Maillard-Reaktion* zurückzuführen, welche im Teil 2 genauer betrachtet wird. Zu jedem Brechungsindex der Proben kann aus Tab. 3 der zugehörige Wassergehalt abgelesen werden.

Der Wassergehalt nimmt von der ersten bis zur letzten Probe kontinuierlich ab. Auch während des Honigreifeprozesses wird dem Honig in einem Zwei-Phasen-Prozess Wasser entzogen. In der ersten, etwa 20 Minuten dauernden Phase wird der Inhalt der Honigblase von der Biene durch schnelles, sich wiederholendes Herauspumpen und Einsaugen der circa 30 bis 35 °C warmen Stockluft ausgesetzt, so dass eine erste Eindickung stattfindet. In der zweiten Phase erfolgt durch geschicktes Ein- und Umlagern des halbreifen Honigs in die Wabenzellen eine erneute Wasserverdunstung. Der ermittelte Wassergehalt ist für verschiedene Honigsorten in Tab. 2 aufgelistet und ist mit dem der letzten entnommenen Probe vergleichbar.

Tab. 3: Bestimmung des Wassergehalts [1]

Brechungs- index	Wassergehalt in %	Brechungs- index	Wassergehalt in %	Brechungs- index	Wassergehalt in %
1,4966	16,0	1,4770	23,8	1,4575	31,6
1,4961	16,2	1,4765	24,0	1,4570	31,8
1,4956	16,4	1,4760	24,2	1,4565	32,0
1,4951	16,6	1,4755	24,4	1,4560	32,2
1,4946	16,8	1,4750	24,6	1,4555	32,4
1,4940	17,0	1,4745	24,8	1,4550	32,6
1,4935	17,2	1,4740	25,0	1,4545	32,8
1,4930	17,4	1,4735	25,2	1,4540	33,0
1,4925	17,6	1,4730	25,4	1,4535	33,2
1,4920	17,8	1,4725	25,6	1,4530	33,4
1,4915	18,0	1,4720	25,8	1,4525	33,6
1,4910	18,2	1,4715	26,0	1,4520	33,8
1,4905	18,4	1,4710	26,2	1,4515	34,0
1,4900	18,6	1,4705	26,4	1,4510	34,2
1,4895	18,8	1,4700	26,6	1,4505	34,4
1,4890	19,0	1,4695	26,8	1,4500	34,6
1,4885	19,2	1,4690	27,0	1,4495	34,8
1,4880	19,4	1,4685	27,2	1,4490	35,0
1,4875	19,6	1,4680	27,4	1,4485	35,2
1,4870	19,8	1,4675	27,6	1,4480	35,4
1,4865	20,0	1,4670	27,8	1,4475	35,6
1,4860	20,2	1,4665	28,0	1,4470	35,8
1,4855	20,4	1,4660	28,2	1,4465	36,0
1,4850	20,6	1,4655	28,4	1,4460	36,2
1,4845	20,8	1,4650	28,6	1,4455	36,4
1,4840	21,0	1,4645	28,8	1,4450	36,6
1,4835	21,2	1,4640	29,0	1,4445	36,8
1,4830	21,4	1,4635	29,2	1,4440	37,0
1,4825	21,6	1,4630	29,4	1,4435	37,2
1,4820	21,8	1,4625	29,6	1,4430	37,4
1,4815	22,0	1,4620	29,8	1,4425	37,6
1,4810	22,2	1,4615	30,0	1,4420	37,8
1,4805	22,4	1,4610	30,2	1,4415	38,0
1,4800	22,6	1,4605	30,4	1,4410	38,2
1,4795	22,8	1,4600	30,6	1,4405	38,4
1,4790	23,0	1,4595	30,8	1,4400	38,6
1,4785	23,2	1,4590	31,0	1,4395	38,8
1,4780	23,4	1,4585	31,2	1,4390	39,0
1,4775	23,6	1,4580	31,4	1,4385	39,2

Laut Honigverordnung muss reifer Honig einen Wassergehalt unter 20 % aufweisen (siehe unten). Der Sinn dieser Regelung liegt vor allem in der Haltbarkeit des Honigs. Liegt ein zu hoher Wassergehalt vor, dann ist der Honig anfälliger für Gärungsprozesse.


Entsorgung:

Alle Lösungen werden verdünnt in den Abguss entsorgt.

Teil 2: Aromen im Honig

Geräte und Chemikalien:

Heizplatte, Bunsenbrenner, Feuerzeug, Becherglas (300 ml), Spatel, Reagenzglas (7 x), Stopfen (7 x), Reagenzglasständer, Reagenzglasklammer

Eingesetzte Stoffe	Gefahrensymbole	H- und P-Sätze
destilliertes Wasser	-	-
Glucose	-	-
Glycin	-	-
Glutaminsäure	-	-
Phenylalanin	-	-
Prolin	-	-
Arginin	-	-
Cystein		H: 302
Valin	-	-

Durchführung:

Je eine Spatelspitze einer ausgewählten Aminosäure und eine Spatelspitze Glucose werden in einem Reagenzglas vermischt, mit fünf Tropfen destilliertem Wasser versetzt und im siedenden Wasserbad erwärmt. Farbe und Geruch des Gemisches werden notiert. Anschließend wird das Reagenzglas vorsichtig über dem Bunsenbrenner erhitzt. **Achtung**, es kann zu Siedeverzug kommen! Nach dem Abkühlen werden erneut Farbe und Geruch notiert.

Beobachtung:

Die bei der Erwärmung entstandenen Aromen sind in Tab. 4 zusammengefasst.

Tab. 4: Bei der Erwärmung mit verschiedenen Aminosäuren entstandene Aromen

Aminosäure	Aroma (Wasserbad)	Aroma (Bunsenbrenner)
Glycin	frisches Brot	Karamell
Glutaminsäure	Schokolade	Krokant
Phenylalanin	Veilchen	Veilchen
Prolin	frisches Brot	frisches Brot
Arginin	Popcorn	verbrannter Zucker
Cystein	gebratenes Fleisch	Zwiebel
Valin	frisches Brot	Schokolade

Auswertung und Deutung:

Als Aromastoffe des Honigs werden verschiedene Stoffe bezeichnet, die den honigtypischen Geschmack und Geruch beeinflussen. Wesentliche, geschmacksgebende Verbindungen sind z.B. Glucose, Fructose und Gluconsäure. Daneben existiert eine Liste verschiedener, im Honig gefundener Aromastoffe, zu welchen eine Vielzahl verschiedener Alkohole, Aldehyde, Ketone und Ester aliphatischer und aromatischer Säuren zählt [2]. Die meisten Aroma- und auch Farbstoffe entstehen über die während des Honigreifeprozesses ablaufende *Maillard-Reaktion*, die aufgrund des leicht sauren Milieus und der im Bienenstock vorherrschenden Temperatur von 30 bis 35 °C optimal ablaufen kann.

Unter dem Namen *Maillard-Reaktion* werden verschiedene komplexe Vorgänge zusammengefasst. Hierbei reagieren aminogruppenhaltige Verbindungen, wie beispielsweise die im Honig mengenmäßig wichtigste Aminosäure Prolin, mit reduzierenden Zuckern wie Glucose oder Fructose. Mit verschiedenen Aminosäuren können dabei unterschiedliche Aromen hergestellt werden. Die dadurch entstehenden Farb- und Aromastoffe prägen die Honigfarbe und das Honigaroma in entscheidender Weise.

Die *Maillard-Reaktion* kann in verschiedene Schritte unterteilt werden, welche im Folgenden am Beispiel des Edukts D-Glucose exemplarisch kurz diskutiert werden. In der Anfangsphase findet eine nukleophile Addition des Amins an die Carbonylfunktion des Zuckers statt. Die nach Wasserabspaltung gebildete Schiffsche Base – im Falle eines sekundären Amins als Edukt liegt hier das entsprechende Kation vor – reagiert weiter zum zyklischen Glycosylamin. Wegen der Instabilität beider Verbindungen findet jedoch bevorzugt eine Umlagerung des Imins über das 1,2-Enaminol statt. Diese Umlagerung führt zur Bildung einer 1-Amino-1-desoxyketose, die als *Amadori-Verbindung* bezeichnet wird. Die *Amadori-Verbindungen* werden allerdings lediglich als Zwischenprodukte der *Maillard-Reaktion* angesehen. In mehreren Zwischenschritten entsteht daraus im Falle der Reaktion von Glucose mit Prolin das 3-Desoxyoson. Desoxydicarbonylverbindungen sind sehr reaktiv und können mit weiteren Zucker- und Aminokomponenten in verschiedenen Folgereaktionen Farb- und

Aromastoffe bilden. Details über den Mechanismus der *Maillard-Reaktion* finden sich in [2, 3].

Entsorgung:

Alle Lösungen werden verdünnt in den Abguss entsorgt.

Literatur:

- [1] Horn, H.; Lüllmann, C.:
Das große Honigbuch: Entstehung, Gewinnung, Gesundheit und Vermarktung
2. Auflage, Franckh-Kosmos Verlag, Stuttgart (2002).
- [2] Belitz, H.-D.; Grosch, W.; Schieberle, P.: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*
6. Auflage, Springer-Verlag, Berlin (2008).
- [3] Lipp, J.: *Der Honig*
3. Auflage, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart (1994).

Zusatzmaterial zur Station 5

Ausschnitt aus der Honigverordnung:

Anlage 2 (zu den §§ 2 und 4): Anforderungen an die Beschaffenheit

[Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, 2004]

1. Zuckergehalt	
1.1 Fructose und Glucosegehalt (Summe)	
a) Blütenhonig	mindestens 60 g / 100 g
b) Honigtauhonig, allein oder in Mischung mit Blütenhonig	mindestens 45 g / 100 g
2. Saccharosegehalt	
a) Im Allgemeinen	höchstens 5 g / 100 g
b) Honig von Robinie, Luzerne, Süßklee, etc.	höchstens 10 g / 100 g
c) Honig von Lavendel, Borretsch	höchstens 15 g / 100 g
3. Wassergehalt	
a) Im Allgemeinen	höchstens 20 %
b) Honig von Heidekraut und Backhonig im Allgemeinen	höchstens 23 %
c) Backhonig von Heidekraut	höchstens 25 %
4. Elektrische Leitfähigkeit	
a) Honigarten im Allgemeinen und Mischungen dieser Honigarten	höchstens 0,8 mS / cm
b) Honigtauhonig und Kastanienhonig und Mischungen dieser Honigarten	mindestens 0,8 mS / cm
5. Diastase-Zahl nach Schade	
a) Im Allgemeinen mit Ausnahme von Backhonig	mindestens 8
b) Honigarten mit einem geringen natürlichen Enzymgehalt und einem HMF-Gehalt von höchstens 15 mg/kg	mindestens 3