

**ZUR PROBLEMATIK DER VERWENDUNG VON
INVERTZUCKER FÜR DIE BIENENFÜTTERUNG**

*Problème de l'utilisation du sucre inverti
pour le nourrissement des abeilles*

T. JACHIMOWICZ und G. EL SHERBINY

Bundes-Lehr-und Versuchsanstalt für Bienenkunde Wien, Österreich

SUMMARY

PROBLEMS OF INVERT SUGAR AS FOOD FOR HONEYBEES

Invert sugar produced by means of acid hydrolysis turned out to be dangerous when fed to honeybees.

The content of hydroxy-methyl-furfural (HMF) was made responsible for this effect. No evident proof, however, has been hitherto given of this theory.

In order to clear up this problem caged bees were fed solutions containing the following substances :

1) Commercial invert sugar produced by acid hydrolysis, containing 25 per cent moisture, 30 milligrams HMF per 100 grams sugar substance, and a pH-value of 3,9, dissolved in proportion of two parts to one part of water.

2) Invert sugar obtained by mixing pure glucose, fructose, and sucrose, in proportion 7 to 7 to 1—type invert sugar—dissolved in proportion of one part of sugar mixture to one part of water.

3) The above invert sugar, dissolved in proportion of one part to one part of water, but, in addition, brought up to pH 3,9 by means of citric acid—standard food solution.

4) Standard food solutions with added pure HMF in quantities of 3, 15, and 75 milligrams per 100 grams solution.

Mortality of bees was considerably increased at feeding commercial invert sugar solution. It was very low at feeding sugar solutions without HMF while no significant difference between acidified and non acidified solutions could be realised.

Mortality was increased according to higher HMF content in food, resulting in a linear correlation between mortality rate and the logarithm of HMF concentration.

A food solution containing 3 milligrams HMF per 100 grams did not show any significant difference as to longevity of bees in relation to a solution without HMF.

Likewise, no significant difference as to the effect on longevity had been noted between the standard food solution containing 15 milligrams HMF per 100 grams, and the solution of commercial invert sugar, also containing 15 milligrams HMF per 100 grams.

The experiments confirm the decisive influence of HMF as noxious agent towards bees when invert sugar produced by acid hydrolysis is fed to them. The concentration up to 3 milligrams per 100 grams solution, or 6 milligrams per 100 grams of sugar respectively, proved to be harmless.

ZUSAMMENFASSUNG

Durch Säureinversion gewonnener Invertzucker hat sich in der Praxis bei Verfütterung an Bienen auf diese sehr oft schädigend ausgewirkt. Für den negativen Einfluß wurde der Gehalt an Hydroxymethylfurfural (HMF) verantwortlich gemacht, was aber bis jetzt nicht eindeutig bewiesen werden konnte.

Zur Klärung dieser Frage wurden an geküfigte Bienen Futterlösungen aus folgenden Substanzen verabreicht :

1) Handelsüblicher, durch Säureinversion gewonnener Invertzucker mit 25 % Wasser, 30 mg HMF pro 100 g Zuckersubstanz und einem pH-Wert von 3,9, davon 2 Gewichtsteile in einem Gewichtsteil Wasser gelöst.

2) Invertzucker, gewonnen durch Mischen von chemisch reiner Glucose, Fructose und Saccharose im Verhältnis 7 : 7 : 1 (« Modell-Invertzucker »); 1 : 1 in Wasser gelöst.

3) Derselbe Modell-Invertzucker, 1 : 1 in Wasser gelöst und auf den pH-Wert von 3,9 gebracht (« Standard-Futterlösung »).

4) Standard-Futterlösungen mit Zusatz abgestufter Mengen von reinem HMF (3, 15 und 75 mg pro 100 g Lösung).

Der Totenfall war bei Verfütterung einer Lösung von handelsüblichem Invertzucker beträchtlich, bei HMF-freien Futterlösungen aber sehr gering, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen angesäuerter und nicht angesäuerter Futterlösung bestand.

Der Totenfall war um so höher, je mehr HMF im Futter enthalten war, wobei sich eine lineare Beziehung zwischen der Sterblichkeitsrate (in %) und dem Logarithmus der HMF-Konzentration (mg pro 100 g) des Futters ergab.

Eine Futterlösung mit 3 mg HMF pro 100 g zeigte hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Lebensdauer der Bienen keinen signifikanten Unterschied gegenüber einer HMF-freien Lösung.

Ebenso war der Unterschied zwischen der Standard-Futterlösung mit 15 mg pro 100 g und der Lösung aus industriell erzeugtem Invertzucker (mit ebenfalls 15 mg pro 100 g) hinsichtlich der Wirkung auf die Lebensdauer nicht signifikant.

Die Versuche beweisen die entscheidende Rolle des HMF als bienenschädigendes Agens bei Verfütterung säureinvertierter Präparate, wobei eine Konzentration bis 3 mg pro 100 g Lösung, bzw. 6 mg pro 100 g Zucker, für Bienen harmlos erscheint.

I. — EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die Verwendung von Honig-Zuckergemischen in Form von Futterteig hat sich in der Bienenpflege, insbesondere aber bei der Aufzucht von Bienenköniginnen, so gut bewährt, daß man auf diese Art der Fütterung nicht mehr

verzichten will. Dieser Futterteig wird durch Mischen und Kneten von fein gemahlenem Rohrzucker (Saccharose) und Honig, etwa im Verhältnis 5 : 1, hergestellt und in Form von Fladen durch Auflegen auf die Tragleisten der Rähmchen den Bienen dargeboten.

Angesichts des hohen Honigpreises erscheint es verständlich, für die Zubereitung von Futterteig nach Möglichkeiten Ausschau zu halten, um den teuren Honig durch ein billigeres, aber in Zusammensetzung und Konsistenz ähnliches Produkt zu ersetzen.

Für diesen Zweck kommt ausschließlich Invertzucker in Frage, der aus handelsüblichem Rohrzucker (Raffinade) durch technische Prozesse gewonnen werden kann, wie enzymatische Inversion mittels Saccharase (β -Fructosidase) oder Säureinversion durch kurzzeitiges Erhitzen einer Rohrzuckerlösung nach Zusatz entsprechend dosierter Mengen einer anorganischen oder organischen Säure.

Während der auf enzymatischem Wege gewonnene Invertzucker wegen des hohen Preises der Enzympräparate zwar relativ teuer zu stehen kommt, jedoch keine für Bienen schädlichen Nebenprodukte enthält, besteht bei Verwendung von Säure-Invertzucker die Gefahr einer Schädigung der Bienen (BAILEY, 1966). Im Mittelpunkt des Interesses steht dabei die Rolle des aus Hexosen durch Säureeinwirkung entstehenden 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyds (Hydroxymethylfurfural, in der Folge mit HMF bezeichnet).

Die Tatsache, daß bei der Säureinversion von Saccharose um so mehr HMF entsteht, je höher Wasserstoffionenkonzentration und Temperatur des Reaktionsgemisches liegen, führt dazu, daß Invertzuckerpräparate je nach ihrer Zubereitungsart verschieden hohen HMF-Gehalt aufweisen. So fand M. GONNET (1963) 250 mg HMF pro 100 g Präparat, A. M. PIETTE (1965) hingegen Werte, die zwischen 1 und 440 mg pro 100 g variierten.

Es war naheliegend, die unterschiedliche Wirkung von HMF-hältigem Futter auf Bienen der durch die Zubereitungsart bedingten Entstehung mehr oder weniger großer Mengen dieses Abbauproduktes zuzuschreiben.

Ergänzend sei erwähnt, daß auch im Honig infolge seines natürlichen Säuregehaltes (pH 3 bis 5) unter dem Einfluß von Wärme mehr oder weniger HMF gebildet werden kann, so bei unsachgemäßer Erwärmung im Zuge der zum Abfüllen erforderlichen Verflüssigung oder bei lang dauernder Lagerung oberhalb 10 °C. Der Entwurf zum Europäischen Lebensmittelbuch gestattet nicht mehr als 4 mg HMF pro 100 g für einen zum unmittelbaren Genuß bestimmten Honig.

In den letzten Jahren wurden von der Industrie verschiedene durch Säureinversion gewonnene Invertzuckerprodukte den Imkern zu günstigen Preisen angeboten. Überdies wurden Rezepte empfohlen, die es den Bienen-

züchtern ermöglichen sollen, durch Erhitzen einer angesäuerten Rohrzuckerlösung ein brauchbares Produkt selbst herzustellen (K. WEISS, 1968).

Bei der seit 1971 durchgeführten Prüfung einer von der Industrie angebotenen Invertzuckersorte seitens der Bundes-Lehr- und Versuchsanstalt für Bienenkunde Wien auf Eignung zur Bereitung von Futterteig (T. JACHIMOWICZ u. H. RUTTNER, 1974) ergab sich bei überwiegend günstigem Flugwetter kein Unterschied zwischen Futterteig aus Honig bzw. aus dem erwähnten Invertzucker, was die Futteraufnahme, die Brutentwicklung und die Wabenbautätigkeit der Bienen betrifft. Anders verhält es sich bei ungünstigen Wetterverhältnissen, wenn die Bienen gezwungen sind, im Stock zu bleiben. Dann beobachtet man bei Verwendung von Invertzucker-Futterteig mangelhafte Futteraufnahme, schlechte Brutentwicklung und nur zögernde Bautätigkeit. Auch ein Verlust der Königin, sowie Ausziehen von Bienenvölkern wurde häufig beobachtet, in Extremfällen auch ein stark erhöhter Totenfall. Besonders auf Belegstellen waren diese Erscheinungen sehr eindrucksvoll. Man erhält den Eindruck, daß eine Futterteigzubereitung mit solchem Invertzucker den Bienen nicht zusagt, ja sogar auf sie mehr oder weniger schädlich wirken kann.

Den Einfluß von säureinvertierter Saccharose auf die Sterblichkeit von Bienen hat erstmals L. BAILEY (1966) untersucht.

Er stellte fest, daß bei der Inversion von Saccharose mittels anorganischer und organischer Säuren Substanzen entstehen, die auf Bienen toxisch wirken. Die Säuren selbst, sowie die durch Neutralisation mit Bicarbonat entstehenden Salze sind unschädlich. Es kommen dann als toxisch wirkende Agenzien das bei der Säureinversion aus Hexosen entstehende HMF und eventuell noch Lävulinsäure und Ameisensäure als Folgeprodukte von HMF in Frage. Diese Verbindungen scheiden aber nach BAILEY, unter Berufung auf eine Studie von S. W. McKIBBINS (1958, Diss. Univ. Wisconsin) über die Kinetik des Abbaues von HMF, als toxische Komponenten von säureinvertierter Saccharose aus, da sie unter wesentlich extremeren Bedingungen entstehen, als sie bei der technischen Säureinversion vorliegen. Es verbleibt daher vorerst das HMF als einziger in Frage kommender toxisch wirkender Faktor. BAILEY stellte zwar eine gewisse Korrelation zwischen dem Gehalt der von ihm untersuchten Inversionsprodukte an HMF und der Sterblichkeit der Bienen fest, bezweifelt aber die entscheidende Rolle des HMF, dessen Konzentration in den verwendeten Futterlösungen seiner Meinung nach zu gering sei, um bienenschädigend zu wirken. Es sollen andere, noch unbekannte Substanzen, die im Laufe des Inversionsvorganges entstehen könnten, für die negativen Einflüsse auf Bienen verantwortlich sein. Allerdings arbeitete BAILEY mit Inversionsprodukten, die unter Verwendung verschiedener Säuren (z. T. ohne Konzentrationsangabe) und unter verschiedenen Erhitzungsbedingungen gewonnen

worden waren, vor allem aber ohne Vergleich mit Modellpräparaten, hergestellt durch Mischen der reinen Invertzuckerkomponenten.

Es scheint daher notwendig, die Rolle des HMF nochmals anhand von « synthetisch », d. h. durch Vermischen von Glucose und Fructose gewonnenem Invertzucker unter Zusatz abgestufter Mengen von HMF zu überprüfen, um die Eignung von Invertzuckerprodukten für die Bienenfütterung beurteilen zu können.

Inzwischen hat K. WEISS (1968) Möglichkeiten aufgezeigt, wie der praktische Bienenzüchter selbst seinen Invertzucker durch Erwärmen von angesäuertem Rohrzuckerlösung herstellen könnte. In einer Versuchsreihe mit gekäfigten Bienen verabreichte WEISS Futterlösungen mit jeweils 50 % Zuckergehalt, die durch Auflösen von Invertzuckersorten verschiedener Zubereitungsart gewonnen wurden. Er stellte Invertzucker durch ein 30 Minuten dauerndes Kochen von Lösungen aus je 1 kg Rohrzucker und $\frac{1}{2}$ Liter Wasser unter Zugabe von jeweils 0,5 Gramm Phosphorsäure, Weinsäure, Citronensäure oder Milchsäure her. Zum Vergleich wurden Lösungen mit reinem Rohrzucker und einem handelsüblichen Invertzuckerpräparat herangezogen. Bei der Beobachtung der Versuchsbienen konnte folgende Reihenfolge in der Wirkung auf die Sterblichkeit festgestellt werden: Geringste Sterblichkeit war bei reinem Rohrzucker zu beobachten, dann folgten die säureinvertierten Produkte in der Reihenfolge Milchsäure, Citronensäure, Weinsäure und Phosphorsäure, zuletzt das Handelspräparat mit der stärksten Schadenswirkung auf die Bienen (Abb. 1). Aufgrund dieser Befunde empfiehlt WEISS eine Zubereitung unter Verwendung von Milchsäure zur Gewinnung von relativ unschädlichem und daher geeignetem Honigersatz für die Bienenfütterung.

Bei der Beurteilung der verschiedenartigen Wirksamkeit der von WEISS herangezogenen Säuren ist aber zu berücksichtigen, daß immer gleiche prozentuelle Mengen herangezogen wurden ohne Rücksicht auf die Äquivalentgewichte bzw. die Wasserstoffionenkonzentration (pH-Wert) der mit diesen Säuren versetzten Lösungen.

Es war daher zu untersuchen, welchen Einfluß der pH-Wert der angesäuerten Lösung auf die Bildung von HMF nimmt und ob ein Zusammenhang mit der unterschiedlichen Verträglichkeit der Futterlösungen gegeben erscheint.

Aus den bisherigen Untersuchungen ergibt sich somit die Problemstellung:

Wird die Sterblichkeit der Bienen bei Verfütterung von Säure-Invertzucker

- a) durch die Wasserstoffionenkonzentration allein,
- b) durch das bei der Inversion unter dem Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration gebildete HMF beeinflußt?

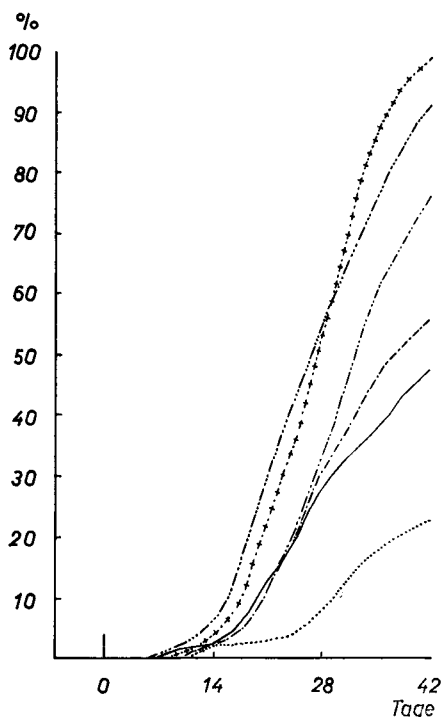


ABB. 1. — Sterblichkeitskurven von Bienen bei Verabreichung von Invertzucker verschiedener Zubereitungsart, nach K. WEISS (1968) : Je 0,5 g Säure pro kg Zucker. Abszisse : Sterblichkeit der Bienen in %. Ordinate : Tage.

FIG. 1. — Courbes de mortalité des abeilles après administration de sucre inverti préparé de diverses façons, selon K. WEISS (1968) : 0,5 g d'acide par kg de sucre. Abscisses : mortalité des abeilles en p. 100. Ordonnées : jours.

Saccharose ohne Zusatz	Saccharose pur
Saccharose mit Milchsäure	-----	Saccharose avec acide lactique
Saccharose mit Citronensäure	-----	Saccharose avec acide citrique
Saccharose mit Weinsäure	-.-.-.-.-	Saccharose avec acide tartrique
Saccharose mit Phosphorsäure	-.-.-.-.-	Saccharose avec acide phosphorique
Handelspräparat	+ + + + +	Préparation du commerce

Demgemäß gliedert sich die vorliegende Arbeit in drei Abschnitte : *Abschnitt A* (Vorversuch 1972). Ergänzung der Befunde von K. WEISS (1968) über die Sterblichkeit der Bienen nach Verfütterung von Invertzucker, der unter Zugabe verschiedener Säuren zubereitet wurde, durch Feststellung der pH- und HMF-Werte dieser Präparate.

Abschnitt B (1972). Beobachtung der Sterblichkeit gekäfigter Bienen bei Verfütterung von

- a) Futterlösung, zubereitet aus handelsüblichem Invertzucker,
- b) Futterlösung, zubereitet aus « synthetischem » Invertzucker, der durch Mischen von Glucose, Fructose und Saccharose erhalten wurde,

- c) Futterlösung *b*), die aber durch Zusatz von Citronensäure auf den pH-Wert 3,9 (pH-Wert der Futterlösung *a*) eingestellt wurde : Standard-Futterlösung.

Abschnitt C (1973 und 1974).

Beobachtung der Sterblichkeit gekäfigter Bienen bei Verfütterung von

- a) Standard-Futterlösung (mit pH 3,9), entsprechend *Bc*.
 b) Standard-Futterlösung mit Zusatz von 3 mg HMF pro 100 g
 c) — — — — — 15 mg HMF pro 100 g
 d) — — — — — 75 mg HMF pro 100 g
 e) Futterlösung aus handelsüblichem Invertzucker (wie *Ba*).

II. — EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. — Überprüfung der nach der Vorschrift von K. WEISS (1968) hergestellten Säure-Invertzuckerpräparate auf ihre Wasserstoffionen- und HMF-Konzentration.

Material.

Saccharose (Raffinade, Normalkristall-Weißzucker)
 Milchsäure, 90 %, reinst, DAB. 6
 Citronensäure, zur Analyse
 L(+) Weinsäure, zur Analyse
 ortho-Phosphorsäure, 85 %, reinst
 Doppelt destilliertes Wasser.

Versuchsordnung.

Je 0,5 Gramm (auf wasserfreie Substanz bezogen) der oben angeführten Säuren wurden in Wasser gelöst und die Lösungen im 500-ml-Meßkolben zur Marke aufgefüllt. In diesen Lösungen wurden die pH-Werte bestimmt (Tabelle I).

Je 200 Gramm Saccharose wurden in 100 ml der Säurelösungen unter Erwärmen aufgelöst und diese Lösungen in einem offenen Gefäß 30 Minuten in leichtem Sieden gehalten. Nach dem Erkalten wurden die nun auf 20 % Wassergehalt eingedickten Massen auf ihren pH-Wert und HMF-Gehalt untersucht.

Dazu wurden je 20 Gramm Präparat (bezogen auf Trockensubstanz) in Wasser gelöst und die Lösung im 100 ml-Meßkolben zur Marke aufgefüllt. Die pH-Bestimmung erfolgte mittels PHILIPS-pH-Meßinstrument, die HMF-Bestimmung mittels der internationalen Standardmethode nach O. WINKLER (1955).

Ergebnisse.

Die ermittelten Werte finden sich in Tabelle I.

Diskussion.

Wenn man diese Ergebnisse den Befunden von K. WEISS (Abb. 1) gegenüberstellt, so ist daraus ersichtlich, daß die Verträglichkeit des Invertzuckers

um so geringer ist, je höher Wasserstoffionenkonzentration und HMF-Gehalt des Invertzuckers liegen.

TAB. 1. — *Einfluß der zur Inversion verwendeten Säuren auf pH-Wert und HMF-Konzentration der Inversionsprodukte.*

TABL. 1. — *Influence des acides impliqués dans l'inversion sur la valeur du pH et la concentration en HMF des produits d'inversion.*

Lösung von 1 ‰ : Solution à 1 ‰	Wässrige Lösung pH bei 20 °C Solution aqueuse pH à 20 °C	Invertzuckerpräparat Préparation de sucre inverti	
		pH bei 20 °C pH à 20 °C	HMF mg pro 100 g mg d'HMF pour 100 g de solution
Milchsäure acide lactique	2,82	3,30	6,14
Citronensäure acide citrique	2,65	3,15	24,2
L (+) Weinsäure acide tartrique	2,60	3,04	56,8
ortho-Phosphors. acide orthophosphorique	2,38	2,88	112,1

Es bleibt nun zu untersuchen, welcher dieser beiden Faktoren für die Bienenverträglichkeit des Invertzuckers entscheidend ist.

B. — Sterblichkeit von Bienen bei Verfütterung von Invertzuckerlösungen mit und ohne Säurezusatz, sowie einer Lösung von handelsüblichem Invertzucker.

Material.

Bienen.

Die Versuchsbienen wurden aus 4 gesunden Bienenvölkern mit gleichalterigen Königinnen reiner Carnica-Rasse entnommen. Zu diesem Zwecke wurden in diesen Völkern Waben mit schlüpfreifer Brut, nach Abfegen der ansitzenden Bienen, mit einem Gitter von ca. 2 mm Maschenweite (Bienengitter) so überdeckt, daß zwischen Gitter und Wabenoberfläche ein Abstand von ca. 6 mm eingehalten wurde, um den jungen Bienen ein ungehindertes Schlüpfen zu ermöglichen. Die so ausgestatteten Waben wurden wieder in das Brutnest des Bienenvolkes gehängt, um die ab nun schlüpfenden Bienen der Bruttemperatur auszusetzen. Nach 3 Tagen waren unterhalb des Gitters so viele Jungbienen geschlüpft, als sie für den jeweiligen Versuch benötigt wurden.

Es werden deshalb Jungbienen von 0 bis 3 Tagen zum Versuch herangezogen, um annähernd gleichalterige Bienen zur Verfügung zu haben. Arbeitsbienen werden in den Sommermonaten durchschnittlich 40 Tage alt. Ohne Alterskontrolle würde die Sterblichkeitsrate durch die Anwesenheit verschieden alter Bienen verwischt.

Versuchskäfige.

Die Käfige bestehen aus Holzrahmen $17 \times 17 \times 4,5$ cm, die auf einer Seite durch Bienengitter, auf der anderen Seite durch eine verschiebbare Glasplatte abgeschlossen sind. In der oberen Rahmenleiste befindet sich eine kreisrunde Öffnung von 15 mm Durchmesser zur Aufnahme des Futterröhrchens. Auf der unteren Rahmenleiste im Innern jedes Käfigs wurde ein aus Wachs geformtes Schälchen ($35 \times 15 \times 10$ mm) zur Aufnahme von Eiweißfutter (Sojamehl) mittels Wachs befestigt.

Brutschrank.

Es wurde ein HERAEUS-Brutschrank ($40 \times 40 \times 30$) verwendet, der auf 30°C eingestellt war.

Futterröhrchen.

Als Futterröhrchen wurden Reagensgläser von 10 cm Länge und 14 mm äußerem Durchmesser verwendet, die ca. 14 ml Flüssigkeit fassen und eine Marke bei 10 ml aufweisen. Am Boden jedes Röhrchens befindet sich, am Beginn der Rundung, eine Öffnung von 1 mm Weite zur Entnahme der Futterlösung durch die Bienen. Die Röhrchen werden oben mittels Gummistopfen dicht verschlossen.

Bestandteile der Futterlösungen.

Es wurden folgende Substanzen für die Zubereitung der Futterlösungen verwendet :

Destilliertes Wasser
 D(+)-Glucose-Hydrat ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{H}_2\text{O}$), ÖAB 9
 D(-)-Fructose, kristallisiert, DAB 7
 Saccharose (Normalkristall-Raffinade)
 Citronensäure, zur Analyse

Handelsüblicher Invertzucker der Firma LAEVOSAN (in der Folge als LAEVOSAN-Invertzucker bezeichnet) mit der Zusammensetzung (laut Werksanalyse) :

Glucose	35,6	%
Fructose	34,3	%
Sonstige Zucker (überwiegend Saccharose)	5,0	%
Mineralstoffe	0,03	%
Wasser	24,9	%
pH	3,9	%

Dazu ergänzend gemäß eigener Untersuchung : HMF 22,1 mg pro 100 g Invertzuckerpräparat (oder 30,0 mg pro 100 g Zuckersubstanz).

Versuchsordnung.

Es wurden 12 Versuchskäfige in 4 Gruppen angeordnet. Die 3 Käfige jeder Gruppe wurden mit je 100 Jungbienen aus dem der Gruppe zugehörigen Versuchsvolk besetzt und mit den Futterröhrchen für die Aufnahme der Futterlösungen I, II und III versehen. Zur Versorgung der Bienen mit dem lebensnotwendigen Eiweiß wurde in allen Käfigen das am Boden befestigte Schälchen mit Sojamehl gefüllt, das im Laufe des Versuches täglich erneuert wurde.

Die Futterlösungen wurden so zubereitet, daß das Gewichtsverhältnis Zucker zu Wasser stets 1 : 1 war.

Futterlösung I : Invertzuckerlösung ohne Säurezusatz :

770 g Glucose-Hydrat

700 g Fructose

100 g Saccharose, diese Mischung als « Modell-Invertzucker » in 1430 ml destilliertem Wasser gelöst.

Futterlösung II : Invertzuckerlösung mit Säurezusatz :

Gleiche Zuckermengen wie bei I., gelöst in 1430 ml destill. Wasser, das vorher durch Zugabe von 10% iger Citronensäurelösung unter Kontrolle mittels pH-Meßgerät auf pH 3,9 eingestellt worden war. Nach dem Auflösen wurde der pH-Wert der Lösung nachkontrolliert und, wenn nötig, durch Zugabe weniger Tropfen Citronensäurelösung auf genau 3,9 gebracht. Dieser Wert entspricht der Wasserstoffionenkonzentration im LAEVOSAN-Invertzucker.

Futterlösung III : Lösung von handelsüblichem Invertzucker (mit 25 % Wasser) im Gewichtverhältnis 2 : 1 :

1000 g LAEVOSAN-Invertzucker gelöst in 500 ml destilliertem Wasser. Diese Lösung enthält 15 mg HMF in 100 g.

Die Futterlösungen wurden im Kühlschrank bei + 5 °C aufbewahrt.

Zu Versuchsbeginn, 3. Mai 1972, wurden die Futterröhrchen mit je 10 ml Futterlösung beschriftet, wobei das Ausfließen der Lösung durch vorsichtiges Eindrücken des Gummistopfens verhindert werden kann. Nach dem Füllen wurden die Röhrchen in die mit Bienen besetzten Käfige eingeschoben und diese in den Brutschrank gestellt.

Von da an wurden täglich durch vorsichtiges Hochziehen der Glasplatte die am Boden des Käfigs liegenden toten Bienen mittels Pinzette entnommen und gezählt. Ebenso wurden täglich die Futterröhrchen entleert, gewaschen und getrocknet, worauf sie durch andere, mit frischer, auf Brutschranktemperatur gebrachter Futterlösung gefüllte Röhrchen ersetzt wurden.

Dieser Vorgang wurde so lange fortgesetzt, bis erstmals alle 100 Bienen eines Käfigs tot waren. Das war nach 24 Tagen, am 27.5.1972 bei Käfigen mit der Futterlösung III der Fall.

Ergebnisse.

Aus der Abb. 2 ist ersichtlich, daß die Sterblichkeitskurven bei reinen Invertzuckerlösungen mit und ohne Säure praktisch einen gleichen Verlauf nehmen, während bei der Lösung aus industriell erzeugtem Invertzucker ein steiles Ansteigen der Kurve zu erkennen ist.

Die Mittelwerte für die Sterblichkeit nach 24 Tagen sind : Futterlösung ohne Säure 18,5 %, Futterlösung mit Säure 20,0 %, Futterlösung aus industriell erzeugtem Invertzucker 99,25 %.

Zur statistischen Auswertung wurden Chi-Quadrat-Teste nach der folgenden Formel durchgeführt : (A. E. MAXWELL, 1961).

$$X^2 = \frac{N(ad - bc - 0,5 N)^2}{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)} \quad \text{F. G.} = 1.$$

Es bedeuten darin :

a : Zahl der toten Bienen in Probe A

b : Zahl der überlebenden Bienen in Probe A

c : Zahl der toten Bienen in Probe B

d : Zahl der überlebenden Bienen in Probe B

N : Anzahl aller Bienen in den Proben A und B, entsprechend den untereinander zu vergleichenden Futterlösungen.

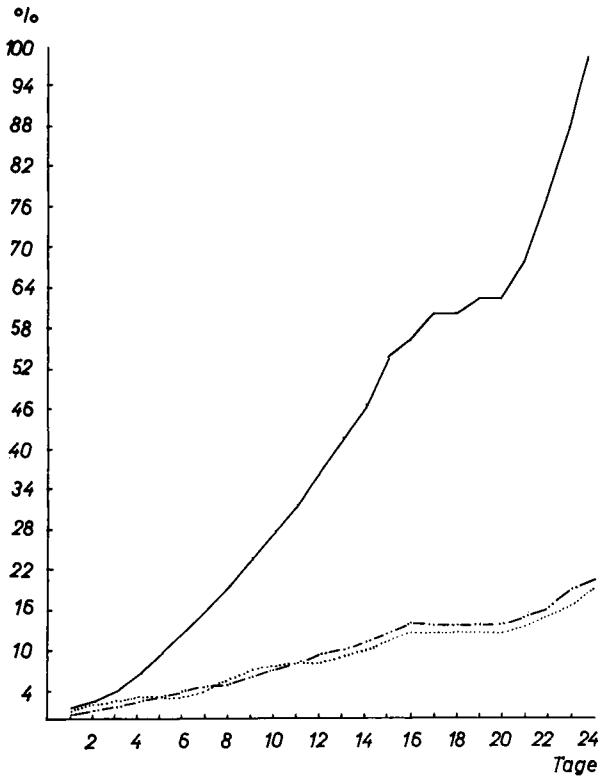


ABB. 2. — Sterblichkeit von Bienen bei Verabreichung der Futterlösungen I bis III. Abszisse : Sterblichkeit der Bienen (%). Ordinate : Tage.

FIG. 2. — Mortalité des abeilles après administration des solutions nutritives I à III. Abscisses : mortalité des abeilles (%). Ordonnées : jours.

- | | | |
|---|-----------|--|
| I : Standard-Futterlösung ohne Säurezusatz | | I : solution standard sans addition d'acide |
| II : Standard-Futterlösung mit Säurezusatz | - - - - - | II : solution standard avec addition d'acide |
| III : Futterlösung mit handelsüblichem Invertzucker | ————— | III : solution de sucre inverti du commerce |

In dieser Gleichung bedeuten die vertikalen Striche beiderseits des Ausdrucks ($ad - bc$), daß immer dessen Absolutwert genommen wird, ganz gleich ob der Ausdruck einen positiven oder negativen Wert aufweist.

Die errechneten Chi-Quadrat-Werte finden sich auf Tabelle 2.

Diskussion.

Da der Chi-Quadrat-Wert mit 1 F. G. und einer Signifikanzzahl $\alpha \leq 0,05$ größer oder gleich 3,841 ist (für $\alpha 0,05$ ist $X^2 = 3,841$), geht aus diesen Berechnungen folgendes hervor :

Beim Vergleich der Futterlösungen I und II ergibt sich ein Chi-Quadrat-Wert von 0,189, womit erwiesen ist, daß der Unterschied nicht signifikant ist und die Sterblichkeit der Bienen von der Zusammensetzung der beiden Futterlösungen unabhängig ist. Es besteht daher kein Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration (pH 3,9) der Futterlösung auf die Sterblichkeit der Bienen.

Beim Vergleich der Futterlösungen I und III, sowie II und III finden sich Chi-Quadrat-Werte von 78,132 bzw. 518,493, die eine hohe Signifikanz anzeigen und in beiden Fällen die Abhängigkeit der Sterbehäufigkeit von der Zusammensetzung der Futterlösung beweisen. Aus diesen Befunden ist zu entnehmen, daß in der Futterlösung III, zubereitet aus industriell erzeugtem Invertzucker, unbeeinflußt von der Anwesenheit einer Säure, eine Substanz enthalten sein muß, die die Sterbehäufigkeit der Bienen statistisch signifikant erhöht.

TAB. 2. — *Berechnung der Chi-Quadrat-Werte aus der Sterblichkeitshäufigkeit unter der Wirkung der Futterlösungen I bis III.*

I = Standard-Futterlösung ohne Säurezusatz
 II = Standard-Futterlösung mit Säurezusatz
 III = Futterlösung mit LAEVOSAN-Invertzucker
 A und B bezeichnen zwei miteinander verglichene Futterlösungen.
 n.s. = Nicht signifikant
 + + = Noch signifikant

TABL. — 2. *Calcul de la valeur du χ^2 à partir de la fréquence de mortalité sous l'action des solutions nutritives I à III.*

I = solution étalon sans addition d'acide
 II = solution étalon avec addition d'acide
 III = solution renfermant du sucre inverti LAEVOSAN
 A et B désignent des solutions que l'on compare entre elles.
 n.s. = non significatif
 + + = significatif

Vergleich zwischen zwei Fut- terlösungen Comparaison entre deux solutions		Futterlösung A Solution A		Futterlösung B Solution B		Chi-Quadrat- Wert mit 1 Freiheits- grad Valeur du χ^2 avec un degré de liberté de 1	Signifikanz Signification
		Tote Bienen	Überlebende Bienen	Tote Bienen	Überlebende Bienen		
A	B	Abeilles mortes	Abeilles survivantes	Abeilles mortes	Abeilles survivantes		
I	II	74	326	80	320	0 189	n.s.
I	III	74	326	397	3	78 132	+ +
II	III	80	320	397	3	518 493	+ +

C. — Sterblichkeit der Bienen bei Verfütterung von Invertzuckerlösungen mit abgestuftem HMF-Gehalt

Material.

Bienen.

Die Versuchsbienen wurden, genau wie bei den Versuchen des Abschnitts B, aus Waben mit schlüpfreifer Brut gewonnen. Der Versuch wurde 1973 mit 5 Versuchsvölkern durchgeführt und 1974 mit 7 Völkern wiederholt.

Versuchskäfige, Brutschrank und Futterröhrchen waren die gleichen wie bei den Versuchen des Abschnitts B.

Bestandteile der Futterlösungen. Zusätzlich zu den im Abschnitt B angeführten Substanzen wurde noch benötigt : 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyd (HMF), MERCK-SCHUCHARDT.

Versuchsanordnung.

Es wurden 25 Versuchskäfige in 5 Gruppen angeordnet. Die 5 Käfige jeder Gruppe wurden, wie im Abschnitt B beschrieben, mit je 100 Jungbienen und den Röhrchen für die Aufnahme der Futterlösungen 1 bis 5 versehen. Diese Lösungen wurden wie folgt zubereitet :

Futterlösung 1 : Es ist die gleiche Lösung wie die im Abschnitt B beschriebene Futterlösung II, also Invertzuckerlösung mit dem pH-Wert 3,9, und in der Folge als « Standard-Futterlösung » bezeichnet.

Futterlösungen 2, 3 und 5 wurden unter Zusatz folgender HMF-Stammlösung zubereitet : 300 mg HMF gelöst in 200 g Standard-Futterlösung. Diese Stammlösung wurde stets im Kühlschrank bei + 5 °C aufbewahrt. Alle folgenden Futterlösungen wurden jeweils unmittelbar vor dem Einfüllen in die Futterröhrchen gemischt.

Futterlösung 2 : Invertzuckerlösung mit 3 mg HMF in 100 g Lösung, erhalten durch Mischen von :

98 Volumteilen Standard-Futterlösung,
2 Volumteilen HMF-Stammlösung.

Futterlösung 3 : Invertzuckerlösung mit 15 mg HMF in 100 g Lösung, erhalten durch Mischen von :

90 Volumteilen Standard-Futterlösung,
10 Volumteilen HMF-Stammlösung.

Futterlösung 4 : Lösung von handelsüblichem Invertzucker (LAEVOSAN-Invertzucker). Es handelt sich um die gleiche Lösung wie die im Abschnitt B beschriebene Futterlösung III.

Futterlösung 5 : Invertzuckerlösung mit 75 mg HMF in 100 g Lösung, erhalten durch Mischen von :

50 Volumteilen Standard-Futterlösung,
50 Volumteilen HMF-Stammlösung.

Die Mischungen wurden täglich, entsprechend dem jeweiligen Bedarf, hergestellt. Die weitere Versuchsordnung, also das Füllen der Futterröhrchen, die tägliche Entnahme und Zählung der toten Bienen und die tägliche Erneuerung der Futterlösungen, erfolgte genau nach dem Vorgang im Abschnitt B.

Der erste Versuch mit 5 Versuchsvölkern wurde am 4.5.1973 begonnen und nach 20 Tagen, am 24.5.1973, beendet. Das war der Tag, an dem erstmals alle 100 Bienen eines Käfigs tot waren und zwar ausschließlich bei den Käfigen mit der Futterlösung 5.

Der zweite Versuch mit 7 Versuchsvölkern begann am 5.5.1974 und endete am 25.5.1974, unter Verwendung von 35 Käfigen, aber sonst gleicher Anordnung. Die Versuchsdauer von 20 Tagen wurde deshalb beibehalten, weil sie der halben durchschnittlichen Lebensdauer von Arbeitsbienen entspricht.

Ergebnisse.

Bei beiden Versuchen, 1973 und 1974, lassen sich aus den vorliegenden Sterblichkeitskurven (Abb. 3 und 4) gleichartige Ergebnisse ableiten.

Die Kurve verläuft um so steiler, je mehr HMF die betreffende Futterlösung enthält. Erhöhte HMF-Konzentration hat demnach eine erhöhte Sterblichkeit der Bienen zur Folge. Bei der Futterlösung 2 mit dem niedrigsten HMF-Gehalt (3 mg pro 100 g Lösung) ist der Unterschied gegenüber der HMF-freien Lösung 1 unbedeutend.

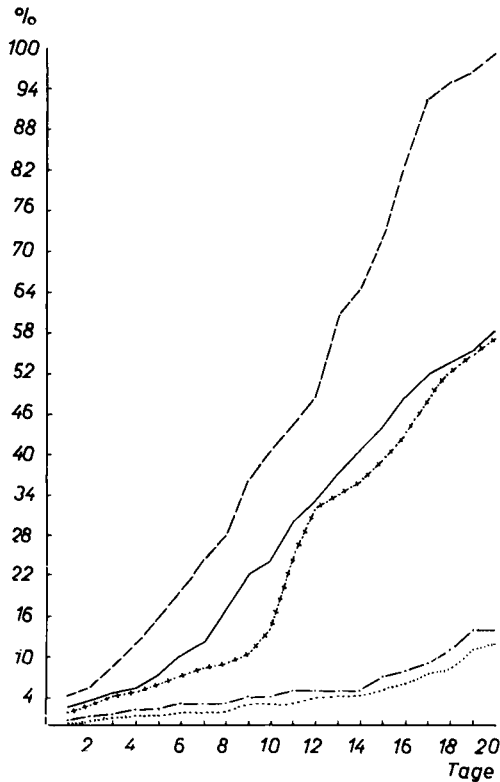


ABB. 3. — Sterblichkeit von Bienen bei Verabreichung der Futterlösungen 1 bis 5 (1973).
Abszisse : Sterblichkeit der Bienen (%), Ordinate : Tage.

FIG. 3. — Mortalité des abeilles après administration des solutions nutritives 1 à 5 (1973).
Abscisses : mortalité des abeilles en %. Ordonnées : jours.

- | | | |
|--|---|--|
| 1 : Standard-Futterlösung, pH 3,9
ohne HMF | | 1 : solution étalon (pH 3,9)
sans HMF |
| 2 : Standard-Futterlösung, pH 3,9
mit 3 mg HMF/100 g | - · - · - · - · - · - · - · - · - · - | 2 : solution étalon (pH 3,9)
avec 3 mg HMF/100 g |
| 3 : Standard-Futterlösung, pH 3,9
mit 15 mg HMF/100 g | + · + · + · + · + · + · + · + · + · + · | 3 : solution étalon (pH 3,9)
avec 15 mg HMF/100 g |
| 4 : Lösung von handelsüblichem
Invertzucker | ————— | 4 : solution de sucre inverti
du commerce |
| 5 : Standard-Futterlösung, pH 3,9
mit 75 mg HMF/100 g | - - - - - | 5 : solution étalon (pH 3,9)
avec 75 mg HMF/100 g |

Die Futterlösung 3 mit 15 mg HMF pro 100 g verursacht einen fast gleichen Ablauf der Sterblichkeit, wie die Futterlösung aus handelsüblichem Invertzucker mit ebenfalls 15 mg HMF pro 100 g.

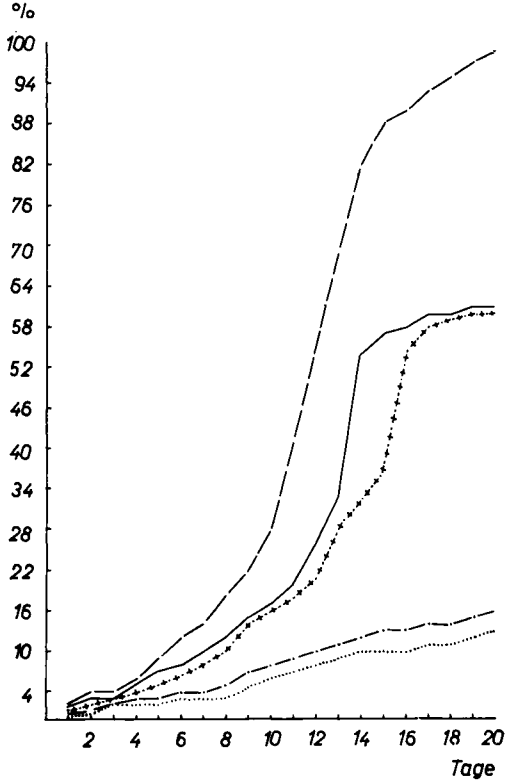


ABB. 4. — Sterblichkeit von Bienen bei Verabreichung der Futterlösungen 1 bis 5 (1974).
Abszisse : Sterblichkeit der Bienen (%). Ordinate : Tage.

FIG. 4. — Mortalité des abeilles après administration des solutions nutritives 1 à 5 (1974).
Abscisses : mortalité des abeilles (%). Ordonnées : jours.

- | | | |
|--|-----------------|--|
| 1 : Standard-Futterlösung, pH 3,9
ohne HMF | | 1 : solution étalon (pH 3,9)
sans HMF |
| 2 : Standard-Futterlösung, pH 3,9
mit 3 mg HMF/100 g | — · — · — · | 2 : solution étalon (pH 3,9)
avec 3 mg HMF/100 g |
| 3 : Standard-Futterlösung, pH 3,9
mit 15 mg HMF/100 g | + · + · + · + · | 3 : solution étalon (pH 3,9)
avec 15 mg HMF/100 g |
| 4 : Lösung von handelsüblichem
Invertzucker | ————— | 4 : solution de sucre inverti
du commerce |
| 5 : Standard-Futterlösung, pH 3,9
mit 75 mg HMF/100 g | - - - - - | 5 : solution étalon (pH 3,9)
avec 75 mg HMF/100 g |

In der Zusammenstellung der Mittelwerte für die Sterblichkeit innerhalb von 20 Tagen (Tabelle 3) kommt dies deutlich zum Ausdruck.

TAB. 3. — *Mittelwerte für die Sterblichkeit der Bienen innerhalb von 20 Tagen unter der Wirkung der Futterlösungen 1 bis 5.*TABL. 3. — *Moyennes de la mortalité des abeilles sous l'action des solutions 1 à 5 sur une période de 20 jours.*

Lösungen Solutions	Sterblichkeit innerhalb von 20 Tagen Mortalité sur 20 jours (%)		
	1973	1974	Mittel/Moyenne
1 (ohne HMF) (sans HMF)	12,0	13,0	12,5
2 (mit 3 mg % HMF) (avec 3 mg % HMF)	14,0	16,0	15,0
3 (mit 15 mg % HMF) (avec 15 mg % HMF)	57,4	60,0	58,7
4 (aus industriell erzeugtem In- vertzucker mit ebenfalls 15 mg % HMF) (de sucre inverti obtenu industriellement et renfermant 15 mg % HMF)	58,6	61,0	59,8
5 (mit 75 mg % HMF) (avec 75 mg % HMF)	99,2	98,4	98,8

Wenn man in einem Koordinatensystem auf der Abszisse den Logarithmus der HMF-Konzentration in der Futterlösung (mg HMF pro 100 g Lösung oder mg % HMF) und auf der Ordinate die Sterblichkeit (Mittelwerte aus den Versuchen 1973 und 1974 in %) aufträgt, so erhält man eine Gerade, die eine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus der HMF-Konzentration (c) und der Sterblichkeit (n) erkennen läßt (Tabelle 4 und Abb. 5).

TAB. 4. — *Beziehung zwischen dem Logarithmus der HMF-Konzentration (c) und der Sterblichkeit (n) in % (Siehe auch Abb. 5).*TABL. 4. — *Relation entre le logarithme de la concentration en HMF (c) et la mortalité (n) en %.*
(Voir aussi figure 5).

c (mg % HMF)	Log c	n (%)
3	0,48	15,0
15	1,18	58,7
75	1,88	98,8

Die statistische Auswertung erfolgte mittels Chi-Quadrat-Test, wie im Abschnitt B beschrieben. Die Ergebnisse finden sich in den Tabellen 5 und 6.

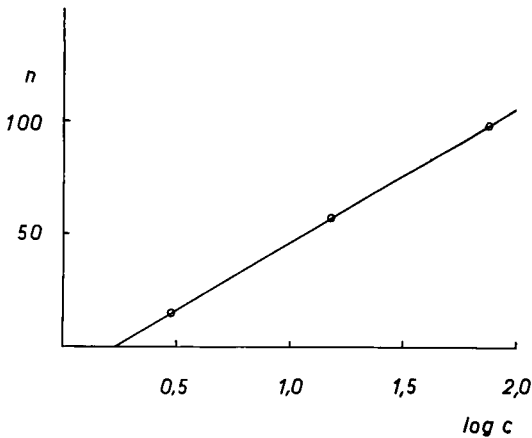


ABB. 5. — Beziehung zwischen dem Logarithmus der HMF-Konzentration c (mg HMF pro 100 g) und der Sterblichkeit der Bienen n (in %) innerhalb von 20 Tagen.

Abszisse : Logarithmus der HMF-Konzentration c . Ordinate : Sterblichkeit der Bienen in % — n .

FIG. 5. — Relation entre le logarithme de la concentration en HMF c (mg HMF pour 100 g de solution) et la mortalité n des abeilles (en %) sur une période de 20 jours.

Abscisses : logarithme de la concentration c en HMF. Ordonnées : mortalités des abeilles en % n .

Diskussion.

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß beim Vergleich der Futterlösungen 1 und 2, sowie 3 und 4 keine Signifikanz vorliegt, daß also in diesen Fällen kein statistisch gesicherter Unterschied besteht. In allen übrigen Relationen ist die Signifikanz beträchtlich. Das heißt; Eine Futterlösung mit 3 mg HMF pro 100 g (Lösung 2) hat, statistisch gesehen, die gleiche Wirkung auf die Sterblichkeit der Bienen, wie eine Futterlösung ohne HMF (Lösung 1).

Ebenso hat eine « synthetisch » zubereitete, d. h. aus den einzelnen Komponenten des Invertzuckers zusammengesetzte Lösung mit Zusatz von 15 mg HMF pro 100 g (Lösung 3) die gleiche Wirkung auf Bienen, wie eine Lösung aus industriell hergestelltem Invertzucker mit ebenfalls 15 mg pro 100 g (Lösung 4).

Aus der Tabelle 7 ist weiters ersichtlich, daß beim Vergleich der Versuche 1973 (1', 2', 3', 4', 5') und 1974 (1, 2, 3, 4, 5) untereinander sowohl bei den jeweils einander entsprechenden Futterlösungen, z.B. 1'-1 bis 5'-5, als auch bei den Kombinationen mit 1 und 2, bzw. 3 und 4, also 2'-1, 1'-2, 4'-3, 3'-4 keine Signifikanz vorliegt, während eine solche in allen anderen Kombinationen besteht. Die beiden Versuche 1973 und 1974 lieferten daher einander konforme Ergebnisse.

Abschließend ist festzustellen, daß die Anwesenheit von HMF in einer Futterlösung die Sterblichkeit der Bienen beeinflußt und zwar um so stärker,

je mehr davon im Futter enthalten ist. Eine Futterlösung mit 3 mg HMF pro 100 g zeigt jedoch gegenüber einer HMF-freien Lösung keinen signifikanten Unterschied in der Wirkung auf die Lebensdauer der Bienen.

Diese Erkenntnisse wären bei der Verarbeitung von HMF-hältigem Invertzucker auf Futtermittel für Bienen entsprechend zu berücksichtigen.

Eingegangen im Februar 1975

Reçu pour publication en février 1975

TAB. 5. — *Berechnung der Chi-Quadrat-Werte aus der Sterblichkeitshäufigkeit unter der Wirkung der Futterlösungen 1 bis 5 (1973).*

- 1 = Standard-Futterlösung (pH 3,9) ohne HMF
- 2 = Standard-Futterlösung (pH 3,9) mit 3 mg HMF/100 g
- 3 = Standard-Futterlösung (pH 3,9) mit 15 mg HMF/100 g
- 4 = LAEVOSAN-Invertzucker-Lösung (pH 3,9)
- 5 = Standard-Futterlösung (pH 3,9) mit 75 mg HMF/100 g

TABLE. 5. — *Calcul de la valeur du χ^2 à partir de la fréquence de la mortalité, sous l'action des solutions 1 à 5 (1973).*

- 1 = solution étalon (pH 3,9) sans HMF
- 2 = solution étalon (pH 3,9) avec 3 mg HMF/100 g
- 3 = solution étalon (pH 3,9) avec 15 mg HMF/100 g
- 4 = solution de sucre inverti LAEVOSAN (pH 3,9)
- 5 = solution étalon (pH 3,9) avec 75 mg HMF/100 g

Vergleich zwischen zwei Futter- lösungen Comparaison entre deux solutions		Futterlösung A Solution A		Futterlösung B Solution B		Chi-Quadrat- Wert mit 1 Freiheits- grad Valeur du χ^2 avec un degré de liberté de 1	Signifikanz Signification
		Tote Bienen	Überlebende Bienen	Tote Bienen	Überlebende Bienen		
A	B	Abeilles mortes	Abeilles survivantes	Abeilles mortes	Abeilles survivantes		
1	2	60	440	70	430	0 716	n.s.
1	3	60	440	287	287	225 411	+ +
1	4	60	440	293	207	235 666	+ +
1	5	60	440	496	4	766 516	+ +
2	3	70	430	287	213	203 249	+ +
2	4	70	430	293	207	213 138	+ +
2	5	70	430	496	4	735 312	+ +
3	4	287	213	293	207	0 103	n.s.
3	5	287	213	496	4	254 628	+ +
4	5	293	207	496	4	245 100	+ +

n.s. = Nicht signifikant

+ + = Noch signifikant

n. s. : non significatif

+ + : significatif

TAB. — 6. Berechnung der Chi-Quadrat-Werte aus der Sterblichkeitshäufigkeit unter der Wirkung der Futterlösungen 1 bis 5 (1974).

- 1 = Standard-Futterlösung (pH 3,9) ohne HMF
- 2 = Standard-Futterlösung (pH 3,9) mit 3 mg HMF/100 g
- 3 = Standard-Futterlösung (pH 3,9) mit 15 mg HMF/100 g
- 4 = LAEVOSAN-Invertzucker-Lösung (pH 3,9)
- 5 = Standard-Futterlösung (pH 3,9) mit 75 mg HMF/100 g

TABL. 6. — Calcul de la valeur χ^2 à partir de la fréquence de la mortalité, sous l'action des solutions 1 à 5 (1974).

- 1 = solution étalon (pH 3,9) sans HMF
- 2 = solution étalon (pH 3,9) avec 3 mg HMF/100 g
- 3 = solution étalon (pH 3,9) avec 15 mg HMF/100 g
- 4 = solution de sucre inverti LAEVOSAN (pH 3,9)
- 5 = solution étalon (pH 3,9) avec 75 mg HMF/100 g

Vergleich zwischen zwei Futterlösungen Comparaison entre deux solutions		Futterlösung A Solution A		Futterlösung B Solution B		Chi-Quadrat-Wert mit 1 Freiheitsgrad Valeur du χ^2 avec un degré de liberté de 1	Signifikanz Signification
A	B	Tote Bienen Abeilles mortes	Überlebende Bienen Abeilles survivantes	Tote Bienen Abeilles mortes	Überlebende Bienen Abeilles survivantes		
1	2	91	609	112	588	2 305	n.s.
1	3	91	609	420	280	331 553	+ +
1	4	91	609	427	273	343 890	+ +
1	5	91	609	689	11	1 031 790	+ +
2	3	112	588	420	280	285 742	+ +
2	4	112	588	427	273	297 437	+ +
2	5	112	588	689	11	968 085	+ +
3	4	420	280	427	273	0 108	n.s.
3	5	420	280	689	11	311 583	+ +
4	5	427	273	689	11	300 903	+ +

n.s. = Nicht signifikant
n. s. : non significatif

+ + = Noch signifikant
+ + : significatif

TAB. 7. — Zusammenfassung der Versuche 1973 und 1974 gemäß Tabellen 5 und 6.

Die Zahlen 1', 2', 3', 4' und 5' bedeuten die Futterlösungen des Versuches 1973, die Zahlen 1, 2, 3, 4, 5 die Futterlösungen des Versuches 1974.

TABL. 7. — Résumé des essais de 1973 et de 1974 d'après les Tabl. 5 et 6.

Les nombres 1', 2', 3', 4' et 5' désignent les solutions des essais de 1973; les nombres 1, 2, 3, 4, 5 les solutions des essais de 1974.

Vergleich zwischen zwei Futterlösungen Comparaison entre deux solutions		Futterlösung A Solution A		Futterlösung B Solution B		Chi-Quadrat-Wert mit 1 Freiheitsgrad Valeur du χ^2 avec un degré de liberté de 1	Signifikanz Signification
A	B	Tote Bienen Abeilles mortes	Überlebende Bienen Abeilles survivantes	Tote Bienen Abeilles mortes	Überlebende Bienen Abeilles survivantes		
1'	1	60	440	91	609	0 182	n.s.
2'	1	70	430	91	609	0 172	n.s.
3'	1	287	213	91	609	264 419	+ +
4'	1	293	207	91	609	276 622	+ +
5'	1	496	4	91	609	863 845	+ +
1'	2	60	440	112	588	3 482	n.s.
2'	2	70	430	112	588	0 758	n.s.
3'	2	287	213	112	588	223 378	+ +
4'	2	293	207	112	588	234 825	+ +
5'	2	496	4	112	588	804 413	+ +
1'	3	60	440	420	280	278 004	+ +
2'	3	70	430	420	280	253 552	+ +
3'	3	287	213	420	280	0 711	n.s.
4'	3	293	207	420	280	0 183	n.s.
5'	3	496	4	420	280	245 924	+ +
1'	4	60	440	427	273	288 389	+ +
2'	4	70	430	427	273	263 609	+ +
3'	4	287	213	427	273	1 423	n.s.
4'	4	293	207	427	273	0 604	n.s.
5'	4	496	4	427	273	273 568	+ +
1'	5	60	440	689	11	925 084	+ +
2'	5	70	430	689	11	890 804	+ +
3'	5	287	213	689	11	320 692	+ +
4'	5	293	207	689	11	308 549	+ +
5'	5	496	4	689	11	0 851	n.s.

DANK

Herrn Dipl. Kaufmann Dr. Wolfgang JANKO, Assistent am Institut für Mathematik und Statistik der Hochschule für Welthandel in Wien sei an dieser Stelle für Rat und Hilfe bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse bestens gedankt.

RÉSUMÉ

Le sucre inverti obtenu par hydrolyse acide s'est révélé être souvent nuisible pour les abeilles lorsqu'il est utilisé pour leur nourrissage. La teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF) est rendue responsable de cette influence néfaste, mais ceci n'a pu être prouvé jusqu'ici de façon certaine.

Le problème suivant se dégage des recherches réalisées jusqu'à présent : la mortalité des abeilles au cours d'un nourrissage avec du sucre inverti par voie acide est-elle influencée

- a) par la seule concentration en ions hydrogène,
- b) par l'hydroxyméthylfurfural (HMF) formé lors de l'inversion sous l'influence de la concentration en ions hydrogène ?

Dans le but de répondre à cette question on a mené les expériences suivantes de nourrissage.

On a prélevé des abeilles dans 4 colonies saines possédant chacune une reine *carnica* de même âge. On a recouvert des rayons de couvain operculé, après en avoir balayé les abeilles, d'une grille de maille de 2 mm, de façon à conserver un espace de 6 mm entre la surface et la grille pour que les jeunes abeilles puissent éclore sans gêne. Les rayons ainsi équipés sont replacés dans le nid à couvain de la ruche pour que les abeilles naissantes soient à la température du couvain. Trois jours plus tard il y avait sous la grille suffisamment de jeunes abeilles pour chacune des expériences.

Les cages d'expérience sont constituées par des cadres de bois de $17 \times 17 \times 4,5$ cm fermés d'un côté par un grillage et de l'autre par une plaque de verre mobile. Dans la partie supérieure du cadre une ouverture ronde de 15 mm de diamètre est prévue pour le passage du nourrisseur. Dans la partie inférieure à l'intérieur de la cage est fixée une coupelle de cire pour la nourriture protidique (farine de soja).

Comme nourrisseurs on a utilisé des éprouvettes de 10 cm de long et de 14 mm de diamètre extérieur, d'une contenance de 14 ml environ et munies d'un repère à 10 ml. Dans le bas, à la limite de la partie arrondie, est percée une ouverture d'1 mm de large qui permet aux abeilles d'accéder à la solution nutritive. Les nourrisseurs sont obturés en haut par des bouchons en caoutchouc.

On a réparti les 12 cages d'expérience en 4 groupes. Les 3 cages de chaque groupe sont pourvues chacune de 100 jeunes abeilles, provenant de la colonie d'expérience correspondant au groupe, et munies de nourrisseurs pour les solutions nutritives I, II et III. En ce qui concerne l'alimentation en protides, la coupelle de chaque cage est remplie de farine de soja et renouvelée journellement.

Les solutions nutritives sont préparées de telle sorte que le rapport en poids sucre-eau soit toujours de 1 : 1.

— solution n° 1 : solution de sucre inverti sans addition d'acide, constituée d'un mélange de 770 g de glucose hydraté, 700 g de fructose, 100 g de saccharose (« sucre inverti de référence ») dissous dans 1 430 ml d'eau distillée.

— solution n° II : solution de sucre inverti avec addition d'acide, obtenue par dissolution de 1 570 g de sucre inverti de référence (comme ci-dessus) dans 1 430 ml d'eau, portée auparavant au pH 3,9 par addition d'une solution d'acide citrique à 10 %. Après la dissolution on a vérifié la valeur du pH et, au moyen de quelques gouttes de la solution d'acide citrique, on l'a ajustée avec précision à 3,9, valeur qui correspond à celle du sucre inverti du commerce.

— solution n° III : solution de sucre inverti du commerce avec 24,9 % d'eau et 22,1 mg d'HMF pour 100 g de solution, un pH de 3,9 dans un rapport de poids de 2 : 1. Cette solution contient 15 mg d'HMF pour 100 g.

On remplit chaque nourrisseur de 10 ml de solution en début d'expérience et on l'introduit dans la cage peuplée d'abeilles, que l'on replace ensuite dans l'étuve à couvain (30 °C).

On retire et on compte chaque jour les abeilles trouvées mortes dans la cage. Chaque jour également on change la solution et les nourrisseurs. On poursuit ce processus jusqu'à ce que les 100 abeilles de l'une des cages soient mortes; avec la solution n° III ce résultat s'est produit au bout de 24 jours.

La figure 2 montre que les courbes de mortalité sont pratiquement les mêmes lorsqu'on utilise une solution avec ou sans acide, tandis que la courbe monte très fortement lorsqu'on utilise une solution à base de sucre inverti obtenu industriellement. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test du χ^2 . Aucune différence significative ne ressort de la comparaison des solutions I et II; la mortalité des abeilles est indépendante de la composition de ces solutions. Par contre une différence hautement significative ressort de la comparaison des solutions I et II et II et III. Ces résultats prouvent qu'une substance qui accroît la mortalité des abeilles doit être présente dans la solution III préparée à partir de sucre inverti industriellement.

Dans une autre série d'expériences on a étudié la mortalité des abeilles lorsqu'on les nourrit avec des solutions de sucre inverti ayant une teneur en HMF croissante. Le protocole expérimental est le même que précédemment. On a utilisé des abeilles provenant de 5 colonies différentes puis, pour une autre série, de 7 colonies. Les solutions avaient la composition suivante :

— solution 1 : correspond à la solution II, c'est donc une solution de sucre inverti, à pH 3,9 (solution étalon).

— solution 2 : solution étalon à 3 mg d'HMF pour 100 g.

— solution 3 : solution étalon à 15 mg d'HMF pour 100 g.

— solution 4 : solution de sucre inverti du commerce comme la solution III.

— solution 5 : solution étalon à 75 mg d'HMF pour 100 g.

Les essais ont duré 20 jours. Au bout du 20^e jour pour la première fois les abeilles d'une cage ont toutes été trouvées mortes; on leur avait administré la solution 5. Les figures 3 et 4 résument les résultats expérimentaux; les tableaux 5 et 6 donnent les résultats de l'analyse statistique.

Si, dans un système de coordonnées, on porte en abscisses le logarithme de la concentration en HMF de la solution (mg d'HMF pour 100 g de solution) et en ordonnées le taux de mortalité, on obtient une droite qui présente un rapport linéaire entre le logarithme de la concentration (c) en HMF et la mortalité (n) (tabl. 4 et fig. 5).

D'après les résultats obtenus on peut formuler les conclusions suivantes :

— une solution à 3 mg d'HMF pour 100 g (solution 2) agit, du point de vue statistique, de la même façon sur la mortalité des abeilles qu'une solution sans HMF (solution 1).

— une solution « synthétique » de sucre inverti, i.e. formée par le mélange des composants pris individuellement, (contenant 15 mg d'HMF pour 100 g de solution), agit sur les abeilles de la même façon qu'une solution faite à partir de sucre inverti industriellement contenant également 15 mg d'HMF pour 100 g de solution (solution 4).

— il n'y a aucune différence significative dans les deux séries d'expériences (avec 5 et 7 colonies) que ce soit entre les solutions correspondantes (1 — 1' à 5 — 5'), ou entre les combinaisons de 1 et 2 et de 3 et 4 (2' — 1; 1' — 2; 4' — 3; 3' — 4), alors que c'est le cas pour les autres combinaisons. Par conséquent les deux séries d'expériences ont fourni des résultats semblables.

On peut donc établir que plus la quantité d'HMF dans la nourriture des abeilles est forte, plus la mortalité est élevée. Une solution 3 mg d'HMF pour 100 g de solution agit néanmoins de la même façon sur la durée de vie qu'une solution dépourvue d'HMF. Ces résultats sont à prendre en considération lors de la fabrication de sucre inverti, renfermant de l'HMF en vue de produits de nourrissage pour les abeilles.

LITERATUR

- BAILEY L., 1966, The effect of acid-hydrolysed sucrose on honeybees, *Journal of Apicultural Research* 5 (3), 127-136.
- GONNET M., 1963, L'hydroxyméthylfurfural dans les miels. Mise au point d'une méthode de dosage, *Ann. Abeille* 6 (1), 53-67.
- JACHIMOWICZ T., RUTTNER H., 1974, Die Verwendung von Invertzucker für die Bienenfütterung anstelle von Honig, *Bienenwater*, Fachblatt des Österr. Imkerbundes 95 (3), 67-72.
- MAXWELL A.E., 1961, *Analysing Qualitative Data*, London, S. 21.
- PIETTE A. M., 1965, Étude des teneurs en hydroxyméthylfurfural des miels vendus en Belgique. Influence du vieillissement et du chauffage, *Ann. Falsif.*, Paris 58 (665), 40-48.
- WEISS K., 1968, Futterteigbereitung ohne Honig, *Der Imkerfreund* 23 (3), 81-92.
- WINKLER O., 1955, Beitrag zum Nachweis und zur Bestimmung von Oxymethylfurfural in Honig und Kunsthonig, *Z. Unters. Lebensmittel.* 102, 161-167.