

Gunhild Kożianowski

5-Hydroxymethylfurfural in Bienenfutter

5-hydroxymethylfurfural in bee feed

Klassisches Bienenfutter ist eine konzentrierte Lösung von Haushaltszucker, die von Imkern frisch zuzubereiten ist. Kommerzielle Bienenfutter sind Mischungen aus Invertzuckersirup oder Stärkehydrolysaten mit Fructose, die eine Kristallisation des Futters verhindern. Bienenfutter sind dadurch über einen längeren Zeitraum gebrauchsfähig.

In den vergangenen Jahren wird zunehmend über Höchstgehalte von 5-Hydroxymethylfurfural („HMF“), einem Umwandlungsprodukt von Fructose, in Bienenfutter diskutiert. Eine umfassende Literaturlauswertung ergab, dass sich Untersuchungen in der Vergangenheit auf wenige Studien an Käfigbienen beschränkten und bienenschädliche Effekte erst ab 150 mg HMF/kg Futtersirup beobachtet wurden. In eigenen Freilanduntersuchungen wurden bis zu 150 mg HMF/kg Apiinvert, einer Fructose-Invertzuckersirup-Mischung, gut toleriert. Es ist davon auszugehen, dass die Menge an bienenverträglichem HMF von den Umgebungsbedingungen und der Gesamtverträglichkeit des Futters abhängt. Aus dieser Datenlage ergibt sich daher keine Notwendigkeit für die Festsetzung eines Grenzwertes für HMF in Bienenfutter.

Der HMF-Gehalt in Bienenfutter nimmt während der Lagerung und Verfütterung temperaturabhängig zu. Ein Höchstgehalt in Bienenfutter zwischen 20 und 40 mg HMF/kg Futtersirup hätte zur Folge, daß die Futterzusammensetzung geändert werden müsste, um über die Kette von Herstellung bis zum Zeitpunkt der Verfütterung die Gehalte sicher einhalten zu können. Begleitende Maßnahmen (Temperierung) wären erforderlich. In der Zusammensetzung abgeänderte Futtersirupe müssten vor Markteinführung auf ihre Eignung unter Praxisbedingungen in allen derzeitigen europäischen Imkerlagen evaluiert werden, um negative Effekte anderer, derzeit nicht vorhersehbarer Variablen sicher ausschließen zu können.

Schlagwörter: Bienenfutter, 5-Hydroxymethylfurfural

Classical beefeed is a concentrated sucrose solution that has to be freshly prepared by the beekeeper. Commercial bee feeds are invert sugar or starch syrups with added fructose that prevents crystallisation and keeps the bee feed fit for use for a longer period of time.

During recent years, maximum levels of 5-hydroxymethylfurfural („HMF“), a conversion product of fructose are increasingly discussed. A comprehensive literature evaluation revealed that studies of the past were limited to a few publications on caged bees and that below 150 mg HMF/kg feed no adverse effects on bees were observed. In own outdoor trials under bee keeping conditions up to 150 mg HMF/kg of a fructose/invert sugar mixture were well tolerated. It can be assumed that the HMF tolerance of a feed depends on environmental conditions as well as the overall bee feed digestibility. From these data, no need for setting maximum levels of HMF in bee feed can be derived.

The HMF content of bee feed increases temperature-dependent during storage and feeding. A limit between 20 and 40 mg HMF/kg feed syrup would prompt reformulations to ensure its compliance throughout the chain from production to the time of exposure to the bee. Accompanying measures (temperature control) would be needed throughout the chain. Reformulated bee feeds would need to be tested in pre-market trials under practical conditions in all European bee keeping climates to safely exclude other potential adverse effect of currently not predictable variables.

Key words: bee feed, 5-hydroxymethylfurfural

1 Einleitung

In den vergangenen Jahren wurde zunehmend über Höchstgehalte von 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), einem Abbauprodukt von Fructose, in Bienenfutter diskutiert. Die Südzucker AG hat in den Jahren 2012/13 gemeinsam mit einem Imker Freilandversuche zur Verträglichkeit von HMF in Bienenfutter durchgeführt. In dieser Ausarbeitung werden diese Versuche vorgestellt sowie der Sachstand zu HMF und Bienenfutter im Allgemeinen erläutert.

2 Honig als natürliches Bienenfutter für den Winter

Der Verdauungstrakt von Insekten und damit auch von Bienen ist evolutiv primitiver als der von Säugern entwickelt. Aufgenommene Substanzen werden entweder „verdaut“ oder müssen ausgeschieden werden. Als Energieträger können faktisch nur Mono- und Disaccharide und deren Metaboliten gut „verdaut“ und verstoffwechselt werden, d.h. in erster Linie Fructose und Glucose sowie Saccharose. Verdauliche Metabo-

liten sind beispielsweise Citronensäure oder Essigsäure, die in gewissen Mengen toleriert werden. Maltodextrine können nur durch begrenzt verfügbare Amylasen genutzt werden.

Salze (Natrium, Kalium, Chlorid – analytisch „Asche“), Oligosaccharide, karamellierte Zucker und andere Umwandlungsprodukte oder Umwelttoxine (z.B. Pflanzenschutzmittel) müssen von Bienen über den Kot ausgeschieden werden. Die Entgiftungskapazität der Nierenstufen von Bienen ist dabei auf einer niedrigeren Entwicklungsstufe als die der Exkretionsorgane von Säugern. Abkoten erfolgt außerhalb des Bienenstocks, sofern die Umgebungstemperaturen dieses zulassen („Flugwetter“). Im Winter hält die Biene ihre Exkrete in der Blase. Dauert die Periode ohne Flugtage zu lange, vergiftet sie sich selbst oder kotet im Stock. Beides erhöht die Krankheitsanfälligkeit (z.B. Amöbenruhr, Pilzkrankungen) und führt zu Völkerverlusten. Alle für den Bienenorganismus nicht verwertbaren Stoffe müssen somit als „bientoxisch“ oder zumindest „bienenunverträglich“ angesehen werden.

Bienen lagern ihr natürliches Winterfutter in Form von Honig in Waben ein. Blütenhonig gewinnt die Biene aus Blütennektar; er gilt als ideales Bienenfutter. Hauptbestandteile von (Blüten)Honig sind Wasser (14–20 %), Glucose (25–30 %) und Fructose (32–42 %); Saccharose und Maltose machen weniger als 10 % aus. Alle übrigen Substanzen sind in Blütenhonig nur in Spuren vorhanden. Rohstoffe für Honigtauhonig (Waldhonig) sind zuckerreiche Säfte von Pflanzen, die von Blattläusen enzymatisch umgewandelt und ausgeschieden werden, um dann von Bienen gesammelt zu werden. Honigtau als Rohstoff kann der Biene Probleme bereiten, wenn er zu viel Melezitose enthält – ein Trisaccharid aus Glucose und Saccharose, das auf Pflanzenlausaktivität zurückgeht. Zu hohe Konzentrationen an Melezitose führen bereits in der Wabe zur Kristallisation (Deifel, 1989). Kristallisierte Saccharide kann die Biene nicht in Lösung bringen: Insbesondere in kalten Wintern kann sie kein Wasser eintragen; zudem sind ihre Möglichkeiten zum mechanischen Rühren begrenzt. Die Biene verhungert trotz voller Waben.

3 Ersatzwinterfutter für Bienen nach letzter Honigentnahme

Die Entnahme von Honig durch den Imker erfordert in der Regel die Bereitstellung eines äquivalenten Futters vor der Einwinterung. Hierzu wurde traditionsgemäß Haushaltszucker als 60%ige wässrige Lösung verwendet. So gelöste Saccharose wird wie Nektar aufgenommen und in einer Futterkette zur Einlagerung mit Speichelsekret (Invertase-haltig) unter entsprechendem Verbrauch von Stoffwechselenergie aufbereitet, um die Saccharose in die für Honig charakteristischen Gehalte von Glucose und Fructose umzuwandeln (s. Anhang III, Tab. 6). Die Bildung von Futterketten kann des Weiteren mit zur Fütterungszeit nicht erwünschtem Bautrieb, (Schein-)Trachtaktivität (Honigeinbringen) sowie Räuberei verbunden sein.

Die Herstellung von Zuckerlösung ist arbeitsaufwendig; außerdem verdirbt Zuckerlösung mikrobiologisch, und zwar umso schneller, je weniger konzentriert sie ist. Umgekehrt ist eine hochkonzentrierte Zuckerlösung mikrobiologisch stabiler, kristallisiert aber aus (Tab. 1). Wie im Falle kristallisierten

Honigs kann die Biene kristallisiertes Futter nicht nutzen. Aus diesem Grunde bestand und besteht der Wunsch nach gebrauchsfertigen Winterfuttermitteln, die mikrobiologisch stabil sind und nicht kristallisieren.

4 Eigenschaften idealer Futtersirupe

Bereits frühzeitig wurde Saccharose unter Zusatz von Essig oder Weinstein erhitzt und partiell zu Glucose und Fructose hydrolysiert (Morland, 1929 zitiert in Bailey, 1966). Die entstehende Fructose ist hygroskopisch und gut löslich, so dass konzentriertere Lösungen, die gleichzeitig mikrobiologisch stabiler sind, möglich wurden. Unbeachtet blieb hierbei die Erhöhung des Aschegehaltes durch die eingebrachte Säure bzw. ihrer Salze, d.h. die Reinheit der Zuckerlösung. Des Weiteren zersetzt sich Fructose unter diesen Bedingungen partiell zu 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), Lävulinsäure und Ameisensäure. Durch Erhitzen werden Zucker teilweise karamellisiert – erkennbar an einer Braunfärbung und charakteristisch für unvollständig raffinierte Rohzucker, die bei der Suche nach preiswerten Bienenfuttern ursprünglich ebenfalls verfüttert wurden. Hydrolyse von Zuckern (Sacchariden), Zersetzung von Fructose und Karamellisierung finden auch bei Raumtemperatur statt – wenn auch sehr viel langsamer.

Als Folge unterschiedlich hohen Bienensterbens Anfang der 1960er Jahre, das mit dem Winterfutter in Verbindung gebracht wurde, untersuchte Bailey 1966 die Bienenfutterverträglichkeit in Abhängigkeit von verschiedenen Zuckerrohstoffen und Herstellungsbedingungen (s. Anhang II). In dieser Untersuchungsreihe wurde erstmals HMF einbezogen. Schlecht verträglich waren Futtersirupe, die mit anorganischen Säuren und/oder unter starker Erhitzung hergestellt waren. Ähnlich schlecht war die Verträglichkeit von unbehandeltem, teilraffiniertem Rohzucker und stark erhitztem, alten Honig.

Heute ist bekannt, dass Futtersirupe vier wesentliche Anforderungen erfüllen müssen:

1. Sie müssen aus Sacchariden bestehen, die voll bienenverfügbar sind; dies sind Glucose, Fructose, Saccharose und Maltose.
2. Sie müssen mikrobiologisch stabil sein; dies erfordert konzentrierte Lösungen.
3. Die hochkonzentrierten Futtersirupe dürfen nicht auskristallisieren; dazu werden hohe Konzentrationen an Fructose benötigt.
4. Sie sollten möglichst geringe Gehalte an Asche, Oligosacchariden, Karamellisierungs- und Zerfallsprodukten von Kohlenhydraten aufweisen, um die Kotbildung gering zu halten; dies schließt Herstellungsverfahren unter Säurezusatz, teilraffinierte (braune) Rohstoffe oder hohe Erhitzungstemperaturen aus.

Die Löslichkeit typischer Kohlenhydrate mit Schlüsseleigenschaften hinsichtlich der chemischen, physikalischen und mikrobiologischen Stabilität von Lösungen bei moderater Umgebungstemperatur sind in Tabelle 1 gegenübergestellt.

In der Konsequenz sind überwiegend fructose-angereicherte, teilhydrolysierte Zuckersirupe aus Saccharose oder teilhydrolysierte, fructose-angereicherte Sirupe aus Stärke als Futter-

Tab. 1: Löslichkeiten und Zusammensetzung verschiedener Kohlenhydrat-Lösungen

	Ungefähre Zusammensetzung (g/100 g TS)	Löslichkeit bei 25 °C (g TS/100 g)	Stabilität einer Lösung bei 25 °C
Fructose, pur	100	80,2	Farb- und HMF-Bildung, Zerfall von Fructose
Glucose, pur	100	50,8	verdünnte Lösung, mikrobiologisch instabil
Saccharose, pur	100	67,5	verdünnte Lösung, mikrobiologisch begrenzt stabil
Maltose pur	100	45,8	verdünnte Lösung, mikrobiologisch instabil
Glucosesirup DE 95 ('Stärkehydrolysat')		ca. 52	Kristallisation der Glucose, verdünnte Lösung, mikrobiologisch instabil, als Bienenfutter ungeeignet
- Glucose	95		
- Maltose	2		
- Glucooligosaccharide	3		
Glucosesirup DE 42		ca. 80 (handelstypisch)	keine Kristallisation, mikrobiologisch stabil, Oligosaccharide schlechter bienenverfügbar
- Glucose	15-21		
- Maltose	10-16		
- Oligosaccharide	63-75		
Maltosesirup		ca. 50	Kristallisation von Glucose und Maltose, verdünnte Lösung mikrobiologisch instabil, als Bienenfutter ungeeignet
- Glucose	25-35		
- Maltose	50		
- Oligosaccharide	15-25		
kommerzieller Futtersirup Apiinvert (saccharose-fruct.-basiert)		ca. 73 (handelstypisch)	keine Kristallisation, mikrobiologisch stabil, voll bienenverfügbar
- Glucose	31		
- Fructose	39		
- Saccharose	30		
kommerzieller Futtersirup (stärke-fruct. basiert)		72 (handelstypisch)	keine Kristallisation, mikrobiologisch stabil, Oligosaccharide schlechter bienenverfügbar
- Glucose	24		
- Fructose	17		
- Maltose	42		
- Oligosaccharide	17		

sirupe beliebt. Die Funktion von Fructose kann nur teilweise von Oligosacchariden übernommen werden. Oligosaccharide sind immer Bestandteil von Stärkesirupen und weniger bienenverträglich als Glucose, Fructose und Saccharose.

5 HMF in fructosehaltigen Sirupen

Fructose ist in Lösung nur begrenzt stabil und zersetzt sich allmählich und temperaturabhängig, wobei u.a. HMF gebildet wird (Ulbricht et al., 1984, Abb. 1). Fructosehaltige Futtersirupe enthalten daher abhängig von ihrem Fructosegehalt immer HMF, das je nach Lager- und Außentemperatur vom Zeitpunkt der Herstellung, über Auslieferung durch Händler an Imker bis zum Zeitpunkt der Verfütterung an die Bienen im Herbst zunimmt.

Der HMF-Gehalt fructosehaltiger Sirupe/Honig steigt mit der Lagerdauer und ist temperaturabhängig. Bei Ausgangsgehal-

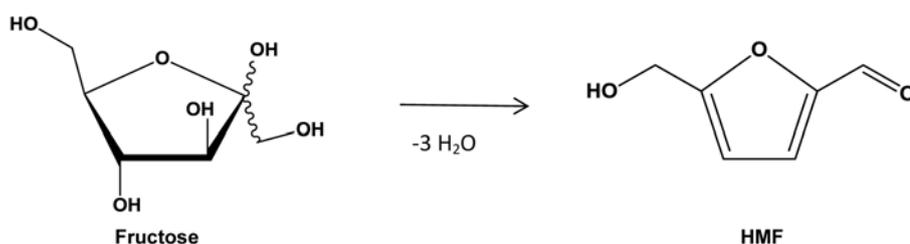


Abb. 1: Umwandlung von Fructose in HMF

ten von 20–25 mg HMF/kg eines fructose-angereicherten Saccharosesirups steigen die Gehalte innerhalb von 12 Monaten bei konstant 20 °C um 5–10 mg/kg, in kleineren Gebinden etwas stärker als in großen. Bei 30 °C nahm der HMF-Gehalt gebindeabhängig um 30–60 mg/kg zu¹. Unter Praxisbedingungen kann bei Fütterung unter hochsommerlichen Temperaturen Ende Juli/Anfang August innerhalb von 2–3 Wochen von Anstiegen von mehr als 20 mg HMF/kg Futtersirup ausgegangen werden.

6 HMF-Analyse

Diese quantitativen Angaben wurden mit HPLC ermittelt. HPLC ist aus heutiger Sicht ein adäquates State-of-the-Art-Verfahren, erfordert aber eine entsprechend apparative Ausstattung des Untersuchungslabors. Die zur Bestimmung von HMF in Honig in § 35 LMBG und DIN 10751 neben HPLC aufgenommene, häufig in Publikationen zitierte photometrische Methode geht auf Winkler (1955) zurück und erfordert den Einsatz von Chemikalien, die heute eher vermieden werden. Paralleluntersuchungen an einem Fructose/Saccharose-basierten Futtersirup zeigten, dass die Winkler-Methode je nach Alter des Sirups zwischen 20 % und 60 % niedrigere Werte als die HPLC-Methode ergibt (Anhang I). Quantitative Aussagen zur Bienenverträglichkeit, die sich auf HMF-Messwerte nach Winkler stützen, würden heute für entsprechend höhere HMF-Gehalte gelten. Eine genaue Korrelation ist ohne Wiederholung der Bienenversuche retrospektive nicht mehr möglich, da die Beziehung zwischen HPLC und Winkler-Methode keine konstante Größe, sondern veränderlich ist. Zudem stand zum Zeitpunkt der Entwicklung der Winkler-Methode nur unreines HMF zur Kalibrierung zur Verfügung. Quantitative Angaben zu HMF und seiner Toxizität in älteren Publikationen sind nicht auf heutige Analysenwerte übertragbar. Aus diesem Grunde müssen Ergebnisse aus früheren experimentellen Bienenversuchen in Bezug auf heute ermittelte HPLC-analytische HMF-Gehalte vorsichtig interpretiert werden.

1 Nicht publizierte Ergebnisse an Südzucker-eigenem Fructose/Saccharose-basierten Bienenfutter.

7 HMF-Gehalt in Futtersirup und Bienen-Lebenserwartung

Insgesamt wurden drei Primärstudien zu HMF gesichtet (Anhang ID): In den eingangs von *Bailey* (1966) zitierten Arbeiten beeinträchtigten bis zu 125 mg/kg HMF in 60%iger reiner Saccharoselösung die Überlebensrate von Bienen in Käfighaltung nicht. Im Unterschied dazu verkürzten 10 000 mg/kg HMF, teilraffiniertes Rohrzucker, salzsäureinvertierte Saccharose, lange oder stark thermisch behandelter Honig und stark erhitzte Saccharose die Lebenserwartung der Bienen in jeweils ähnlicher Größenordnung.

Alle neueren Übersichtsartikel zur Bienenunverträglichkeit von HMF gehen auf die Publikation von *Jachimowicz* und *Sherbiny* (1975) zurück. Die Autoren untersuchten den Einfluss verschiedener kommerzieller Invertzucker- und Saccharose-Bienenfutterlösungen, denen bis zu 750 mg/kg HMF zugesetzt wurden. Die Autoren konstatierten, „wobei eine Konzentration bis [30 mg HMF/kg] Lösung ... für Bienen harmlos erscheint“. Beeinträchtigungen wurden erst mit der nächsthöheren Dosis (>150 mg/kg HMF) festgestellt.

LeBlanc et al. (2009) fokussierten sich auf den Einfluss von Säuren und Basen auf die HMF-Bildung in diversen kommerziellen HFCS (high fructose corn syrup)-Bienenfuttern. Bei HMF-Konzentrationen von 60 bis zu 200 mg/kg Futtersirup wurde kein Einfluss auf die Überlebensrate der HFCS-basierten Futtersirupe untereinander festgestellt.

In jüngerer Zeit trat HMF in Bienenfutter nach überhöhten Winterverlusten im Jahr 2009/10 in den Niederlanden und Belgien in den Fokus. Im genannten Winter stiegen die Verluste von üblicherweise 20 % auf 29 %. Bei der Ursachenfindung wurde eine Fehlproduktion eines bestimmten Bienenfutters identifiziert, in dem HMF-Werte von >400 mg/kg bestimmt worden waren (Niederlands Centrum Bijenonderzoek, 2011). Weitere Einzelheiten zu seiner Zusammensetzung (Asche-, Oligosaccharidgehalt, Pestizidrückstände, Kontaminationen durch Verschleppungen) sind nicht bekannt.

Erst kürzlich veröffentlichten *Krainer* et al. (2016) Untersuchungen zur Verträglichkeit von HMF in Bienenlarven. Konzentrationen bis zu 750 mg HMF/kg Larvenfutter wurden genauso gut wie die Negativkontrolle vertragen. Die Arbeitsgruppe führte erst ab Konzentrationen von 2000 mg HMF/kg Saccharose-Sirup Untersuchungen an adulten Bienen durch und stellte ab Tag 22 einen höheren Totenfall als in der Kontrollgruppe fest. Die Verträglichkeit relevanter Konzentrationen von HMF in Winterfutter wurde in dieser Arbeit nicht untersucht (*Krainer* et al., 2016).

8 Freilanduntersuchungen mit Apiinvert

Im Jahr 2012/13 führte Südzucker eigene Freilanduntersuchungen mit einem Fructose/Saccharose-basiertem Handelsprodukt (Apiinvert) durch, dem reines HMF in Konzentrationen bis zu 150 mg/kg Sirup zugesetzt worden waren. Der Versuch war auf 6 Fütterungsgruppen und insgesamt 60 Völkern ausgelegt. Die Versuchsgruppen standen an unterschiedlichen, klimatisch jedoch vergleichbaren Lagen im Jagsttal (im Norden Baden-Württembergs). Nach Auswinterung wur-

den auch an den Völkern, die mit der höchsten Dosis HMF gefüttert worden waren, keine Beeinträchtigungen festgestellt (Anhang III). Die HMF-Gehalte nahmen in den Waben während des Winters ab.

Aus dieser Studie kann entnommen werden, dass Gehalte von 150 mg/kg HMF in einem Fructose/Saccharose-basierten Futtersirup (Apiinvert) ohne Oligosaccharide und mit sehr geringen Aschegehalten von Bienenvölkern unter Praxisbedingungen, die Flugwetter erlauben, gut vertragen werden.

9 Zusammenfassung und Ausblick

- HMF in Bienenfutter ist zurückzuführen auf die zur Vermeidung von Kristallisation essenzielle Fructose.
- Die publizierten Publikationen zur Bienenverträglichkeit mit HMF beschreiben keine negativen Effekte <150 mg HMF/kg Futter und wurden in Käfighaltung durchgeführt.
- In eigenen Freilanduntersuchungen wurden bis zu 150 HMF mg/kg von Apiinvert (Fructose/Saccharose-basierter Sirup) gut toleriert.
- Es ist davon auszugehen, dass die Menge an bienenverträglichem HMF von den Umgebungsbedingungen und der Gesamtverträglichkeit des Futters abhängt.

Aus dieser Datenlage ergibt sich keine Notwendigkeit für die Festsetzung eines Grenzwertes für HMF in Bienenfutter.

Eine Begrenzung des HMF-Gehaltes in Bienenfutter hätte zur Folge, dass die Futterzusammensetzung geändert werden müsste, um über die Kette von Herstellung bis zum Zeitpunkt der Verfütterung die Gehalte sicher einhalten zu können. Begleitende Maßnahmen (Temperierung) wären erforderlich. In der Zusammensetzung abgeänderte Futtersirupe müssten vor Markteinführung auf ihre Eignung unter Praxisbedingungen in allen derzeitigen europäischen Imkerlagen evaluiert werden, um negative Effekte anderer, derzeit nicht vorhersehbarer Variablen sicher ausschließen zu können.

Literatur

- Bailey, L.* (1966): The effect of acid-hydrolysed sucrose on honeybees. *J. Apicultural Research* 5 (3), 127–136
- Ceksteryte, V.; Racsy, J.* (2006): The quality of syrups used for bee feeding before winter and their suitability for bee wintering. *J. Apic Sci.* 50, 5–14
- Deifel, A.* (1989): Die Chemie des Honigs. *Chemie in unserer Zeit* 23, 25–33
- Jachimowicz, T.; El Sherbiny, G.* (1975): Zur Problematik der Verwendung von Invertzucker für die Bienenfütterung. *Apidologie* 6, 121–143
- Krainer, S.; Brodschneider, R.; Vollmann, J.; Crailsheim, K.; Riessberger-Gallé, U.* (2016): Effect of hydroxymethylfurfural (HMF) on mortality of artificially reared honey bee larvae (*Apis mellifera carnica*). *Ecotoxicology* 25, 320–328
- LeBlanc, B.W.; Eggleston, G.; Sammataro, D.; Cornett, C.; Dufault, R.; Deeby, T.; Cyr, E.St.* (2009): Formation of hydroxymethylfurfural in domestic high-fructose corn syrup and its toxicity to the honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57, 7369–7376
- Niederlands Centrum Bijenonderzoek (2010/2011): NCB Rapporten 02/2010 and 2011
- Ulbricht, R.J.; Northup, S.J.; Thomas, J.A.* (1984): A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. *Fund. Appl. Toxicol.* 4, 843–853
- Ohe, W. von der; Dustmann, J.H.* (1999): Zusammensetzung von bienengerechtem Futterzucker (Zuckerteig und -sirup). *Das Bieneninstitut Celle informiert* 7, 1–3
- Zirbes, L.; et al.* (2013): Hydroxymethylfurfural: A possible emergent cause of honey bee mortality. *J. Agric. Food Chem.* 61, 11865–11870

Anhang I Analytische Aspekte zu HMF in Bienenfutter

Die klassischen Arbeiten von *Jachimowicz* und *Sherbiny* (1975) stützen sich auf eine photometrische Methode nach *Winkler* (1955). Die Methode beruht auf einer Kopplung von HMF mit *p*-Toluidin/Barbitursäure. Das Addukt wird photometrisch bei 550 nm bestimmt. Die Methode ist in die § 35 LMBG-Methoden L40.00 10/1 und DIN 10751-1 zur Bestimmung von HMF in Honig aufgenommen. Aufgrund der Giftigkeit des Reagenz kann diese Methode heute nicht mehr als State-of-the-Art für die Routine-Praxis gelten.

Das Absorptionsmaximum von HMF im UV-Bereich bei 284 nm nutzt die Methode von *White* (Schweizer Lebensmittelbuch). Es wird die Differenz der Absorption vor und nach Bisulfit-Zugabe gemessen. Das gebildete Bisulfit absorbiert nicht mehr bei 284 nm. Die Absorption bei 336 nm wird zur Korrektur interferierender Substanzen abgezogen. Wird diese Methode angewandt, würden sulfitierte Zuckerlösungen niedrigere HMF-Werte suggerieren.

Speziell zur Untersuchung von Apiinvert wurde die UV-Methode von *White* in den 1980er Jahren durch Südzucker weiterentwickelt (Abzug von 1/2 [Absorption bei 245 nm und 325 nm], empirisch abgeleiteter Faktor zur Korrektur anderer UV-aktiver Substanzen). Diese Variante erfordert wenig Zeitaufwand und kommt ohne Chemikalien und kosten- und pflegeintensive Geräte aus (SZ-UV-Methode).

Die exaktesten Werte für Routinezwecke liefern heutzutage HPLC-Methoden, die erst seit Ende der 1980er Jahre großflächig eingeführt werden konnten. Im Rahmen um die Diskussion um HMF in Bienenfutter wurde jüngst die § 35 LMBG-Methode L40.00-10/3 erfolgreich in Zuckersirupen validiert.

Alle photometrischen Methoden sind störanfällig hinsichtlich farbgebender Inhaltsstoffe. HPLC-Methoden erfordern für Betriebslabore einen etwas höheren Wartungsaufwand.

Um eine Vergleichbarkeit zwischen den skizzierten biologischen Studien und heute bestimmten HMF-Gehalten zu ermitteln, wurde Proben von südzuckereigenem Apiinvert mittels aller drei Methoden untersucht.

Hierbei stellte sich heraus, dass die Korrelation der Ergebnisse stark von Zuckerspektrum und Alter abhängt (Tab. 2 und 3).

In überaltertem Futtersirup wurden mittels HPLC um rund 60 % höhere HMF-Gehalte als mit der *Winkler*-Methode bestimmt, während die SZ-UV-Methode sehr viel höhere Werte lieferte.

Tabelle 3 zeigt die Korrelationsfaktoren in 4 Wochen altem Fructose/Saccharose-basiertem Futtersirup, der im Anschluss bis zu 2 Wochen bei 40 °C inkubiert wurde.

In frisch hergestelltem Apiinvert unterscheiden sich die mittels SZ-UV-Methode gemessenen Werte kaum von den HPLC-Analysen (Tab. 3). Dagegen scheinen während der Lagerung eine Reihe von UV-aktiven Substanzen gebildet zu werden, die mittels UV-Methode scheinbar höhere HMF-Gehalte im älteren Sirup suggerieren (Tab. 2). Diese Methode ist daher nur zum Vergleich von Proben gleichen Alters und gleicher Zusammensetzung geeignet. Ihr Vorteil liegt darin, dass sie keine Chemikalien benötigt.

Die *Winkler*-Methode verwendet Reagenzien, die nur noch ungerne verwendet werden (*p*-Toluidin, Barbitursäure). Sie lieferte bei diesen Futtermitteln niedrigere Werte als die heutige HPLC-Methode. Sofern sie in experimentellen Bienenstudien zur Untersuchung eingesetzt wurde, würden heute mittels HPLC höhere Werte bestimmt werden, d.h. die beobachteten bienentoxischen Effekte der Vergangenheit würden heute mit höheren HMF-Werten assoziiert werden (vgl. Tab. 2).

Anhang II Veröffentlichte Studien zu HMF an Bienen Publizierte experimentelle Untersuchungen

Bientoxizität kann experimentell im Labor anhand des Zeitraumes bestimmt werden, in dem 50 % der Bienen in Käfighaltung sterben (auch teilweise „LT₅₀“ genannt). Dieser Median der Lebenserwartung wird in der Regel mit demjenigen einer Kontrollgruppe verglichen. Käfigbienen nehmen allgemein

Tab. 2: Analyseergebnisse überlagerten Fructose/Saccharose-basierten Futtersirupes*

	Methode	Probe A	Probe B	Probe C
(1) HMF in mg/kg	HPLC	43,7	29,5	59,7
(2) HMF in mg/kg	SZ-UV-Methode	66,2	45,9	84,6
Quotient (1)/(2)	HPLC/SZ-UV	0,66	0,64	0,71
(3) HMF in mg/kg	<i>Winkler</i>	28,2	18,8	36,4
Quotient (1)/(3)	HPLC/ <i>Winkler</i>	1,55	1,57	1,64
Fructose in g/100 g	HPLC	36,5	33,8	37,1
Glucose in g/100 g	HPLC	31,3	28,6	32,6
Saccharose in g/100 g	HPLC	3,3	9,5	1,7
Andere Saccharide in g/100 g	HPLC	0,7	0,6	0,9

* Es handelte sich um überlagerte Restbestände aus Februar–Mai 2013, die an unterschiedlichen Orten ohne Temperaturkontrolle eingelagert waren und im Januar 2015 untersucht wurden.

Tab. 3: Analyseergebnisse 4-Wochen alten Futtersirupes, der bis zu 2 Wochen bei 40 °C gelagert wurde

	Methode	Probe D 4 Wochen, RT	Probe D + 1 Woche 40 °C	Probe D + 2 Wochen 40 °C
(1) HMF n mg/kg	HPLC	18,0	22,7	27,3
(2) HMF n mg/kg	SZ-UV-Methode	19,0	27,3	33,3
Quotient (1)/(2)	HPLC/SZ-UV	0,95	0,83	0,82
(3) HMF n mg/kg	<i>Winkler</i>	14,6	22,2	25,3
Quotient (1)/(3)	HPLC/ <i>Winkler</i>	1,23	1,02	1,08
Fructose in g/100 g	HPLC	27,8	29,0	29,9
Glucose in g/100 g	HPLC	22,2	23,1	25,3
Saccharose in g/100 g	HPLC	21,3	19,2	17
Andere Saccharide in g/100 g	HPLC	0,7	0,6	0,9

mehr Futter auf – und damit die jeweilige Prüfsubstanz – als freilebende Bienen (*LeBlanc et al., 2009*).

In der imkerlichen Praxis wird Bienentoxizität anhand der Völkerverluste nach Auswinterung, Verkotung des Stockes und ähnlicher deskriptiver Parameter beurteilt.

Die zur Bienentoleranz von HMF in Futtermitteln verfügbaren experimentellen Daten beschränken sich auf wenige Veröffentlichungen. Sofern durchgeführt, wurde HMF mittels photometrischer Methoden (UV oder *Winkler*) bestimmt.

Erste systematische Untersuchungen mit Bienenfutter führte *Bailey 1966* durch und nutzte Saccharose als Referenz. Er untersuchte den Einfluss von Futtersirupen aus diversen Herstellungsarten, darunter Salzsäure-, Citronensäure-, Weinsäure- und enzymatisch behandelte Saccharose mit unterschiedlich starker und langer Hitzeeinwirkung, daneben nicht- oder teilweise raffinierten Zucker, hitzesterilisierten Honig oder Reinsubstanzen von Zusätzen und Abbauprodukten in Saccharoselösung. Dieses Versuchsprogramm schloss erstmals auch HMF als eines der Abbau- bzw. Reaktionsprodukte bei der Bienenfuttermittelherstellung ein.

Die Versuche sind in Tabelle 4 aufgeführt. Die ursprüngliche Auswertung wurde als prozentuale mediane Lebenserwartung von 30 Bienen ausgedrückt, die Testfutter erhielten, verglichen mit derjenigen von 30 Bienen, die Kontrollfutter (60%ige Saccharoselösung) erhielten, um die unterschiedlich langen Überlebenszeiten der Kontrollen zu normieren. Kontrolle und

Testgruppe bestanden jeweils aus Bienen gleichen Ursprungs und Alters.

Nach dieser Auswertung wurde eine 50%ige Reduktion der Median-Lebenserwartung mit allen säurehydrolytischen Verfahren und starker Erhitzung beobachtet. Die gleiche Reduktion der Lebenserwartung wurde mit unbehandeltem, teil- bzw. nicht-raffiniertem Rohrzucker und erhitztem Honig bestimmt. Von den untersuchten Reinchemikalien waren mit den jeweils untersuchten Konzentration (in mg/kg) HMF (10 000), Lävulinsäure (10 000), Ameisensäure (4000), Formaldehyd (2500) und Aceton (5000) ähnlich toxisch.

Als gut verträglich stellten sich enzymatische Hydrolyse und schonende Säureaufschlüsse ohne längere thermische Belastung heraus. Auf 125 mg/kg HMF bzw. Lävulinsäure verdünnte Saccharoselösungen hatten laut Autoren keinen Effekt auf die Überlebensrate von Bienen.

Aus den Ergebnissen ist zu entnehmen, dass verschiedene Säureanionen, Aschegehalt, Erhitzungsprodukte (Karamell), nicht raffinierter Zucker und Abbauprodukte etc. zu einer ähnlichen Verringerung der Lebenserwartung der Bienen verglichen mit reiner Zuckerlösung führten. Da zum damaligen Zeitpunkt die verschiedenen Testfutter nicht näher analysiert wurden, sind darüber hinaus keine Schlussfolgerungen möglich.

Jachimowicz und El Sherbiny (1975) werden üblicherweise in Zusammenhang mit HMF und Bienentoxizität zitiert: Je 100 Jungbienen von 0–3 Tagen in Käfigen aus Holzrahmen von

Tab. 4: Überlebensrate von Jungbienen in Käfighaltung in Abhängigkeit vom Futter (nach *Bailey, 1966*)

Ansatz	Testfutter	Futterzubereitung			Analytische Beschreibung in mg/kg	Prozentuale Lebensdauer von 15/30 Testbienen vgl. mit Saccharose-Kontrolle (Test/Kontrolle · 100)
		Hydrolyse	Thermische Behandlung	Neutralisation		
1	Saccharose, invertiert	HCl	70 °C, 45 min	NaOH	NaCl: 200 HMF: 200	23
2	Teilraffiniertes Rohrzucker	HCl	70 °C, 45 min	NaOH	Asche: 2000	30
3	Rohrzucker	HCl	70 °C, 45 min	NaOH	Asche: 4000 HMF: 2000	26
4	Saccharose, invertiert	Weinsäure (0,5 %)	75 °C, 300 min	NaHCO ₃	ohne HMF-Angabe	21
5 (a)	Saccharose, invertiert	Citronensäure	75 °C, 300 min	NaHCO ₃	HMF: 400	43
5 (b)	Saccharose, invertiert	Citronensäure	75 °C, 300 min	keine	HMF: 400	45
6	Glucose-Sirup (Stärkehydrolysat)	Mineralsäure			ohne HMF-Angabe	46
7	Teilraffiniertes Rohrzucker Rohrzucker „Barbados syrup“				ohne HMF-Angabe	33
8	Honig, aufgeschlossen	H ₃ PO ₄ (0,01 %)	107 °C, 60 min		HMF: 1000	62
9	Honig, erhitzt		erhitzt auf 110 °C in 8 min und plötzliche Abkühlung		ohne HMF-Angabe	42
10	Saccharose, teilinvertiert	Weinstein (0,1 %)	3 min kochen		ohne HMF-Angabe	79
11 (a)	Saccharose, angesäuert invertiert	ad pH 4,5 (Citronensäure) + Invertase			HMF: 15	115
11 (b)	Saccharose, invertiert	Invertase			ohne HMF-Angabe	134
12	Glucose-Fructose-Mix (1:1)				ohne HMF-Angabe	96
13	1 % HMF in Saccharose				HMF: 10 000	38
14	1 % Lävulinsäure in Saccharose					25
15	0,4 % Ameisensäure in Saccharose				Ameisensäure: 4000	43
16	0,25 % Formaldehyd in Saccharose					19
17	0,5 % Aceton in Saccharose					81
18	0,5 % Citronensäure in Saccharose				Citronensäure: 5000	102
19	0,6 % Essigsäure in Saccharose				Essigsäure: 6000	85

Die Kontrollgruppe erhielt 60 % Saccharose; die Testlösungen wurden refraktometrisch auf 60 % Zucker-TS eingestellt.

17 · 17 · 4,5 cm wurden mit verschiedenen Futterlösungen ernährt. Deren Toxizität bzw. Verträglichkeit wurde anhand des täglichen Totenfalles verfolgt. Die übliche Lebensdauer dieser Bienen beträgt rund 40 Tage.

Untersuchte Futterlösungen:

- I Glucose/Fructose/Saccharose 7:7:1 (aus den Einzelchemikalien angesetzt);
- II Glucose/Fructose/Saccharose 7:7:1, pH = 3,9 (Citronensäure) = Standard-Futterlösung;
- III Invertzuckersirup aus Säureinversion, Laevosan 75 % TS, 225 mg/kg HMF (gemäß heutiger HPLC ca. 300 mg/kg), pH = 3,9, 2:1 mit Wasser verdünnt = 150 mg HMF pro kg Futter-Lösung; (HPLC ca. 200 mg/kg); Laevosan ist ein nicht mehr erhältliches Handelsprodukt. Mineralstoffe (Asche) 0,2 g/kg in der verdünnten Futter-Lösung;
- IIA Standard-Futterlösung II plus 30 mg/kg HMF;
- IIB Standard-Futterlösung II plus 150 mg/kg HMF;
- IIC Standard-Futterlösung II plus 750 mg/kg HMF.

HMF stammte von der Fa. Merck-Schuchardt. Die Reinheiten der damaligen Zeit lagen unter 90 % und müssen aufgrund der Reaktivität/Herstellbedingungen einen großen Teil an Begleitsubstanzen wie Furanen, Diels-Alder-Addukten und anderen heterozyklischen Verbindungen enthalten haben. HMF wurde nur in Laevosan mittels *Winkler* (1955) bestimmt. In Versuch 1 wurden die Futtersirupe I, II und III so lange verfüttert, bis in einer der Gruppen alle Bienen verstorben waren. Dies war nach 24 Tagen in Gruppe III der Fall; 50 % Totenfall war in dieser Gruppe nach 15 Tagen zu verzeichnen, während er zu diesem Zeitpunkt für die Gruppen I und II nur 12 % betrug.

In Versuch 2 wurden Futterlösungen II, IIA, IIB, IIC und III verfüttert. Die höchste Sterblichkeit wurde mit Lösung IIC (750 mg/kg HMF) festgestellt (100 % Totenfall nach 20 Tagen). Die 50%ige Lebenserwartung mit dieser Lösung betrug 12 Tage, diejenige mit Laevosan 16 Tage (150–200 mg/kg HMF), die von IIB (150 mg/kg HMF) 18 Tage. 30 mg/kg HMF (IIA) und die Standardfutterlösung II wiesen die gleiche Sterblichkeit auf (rund 10% nach 16 Tagen). Eine Wiederholung im darauffolgenden Jahr erbrachte ein konsistentes Ergebnis. Die Autoren schlussfolgerten „*wobei eine Konzentration bis [30 mg HMF/kg] Lösung ... für Bienen harmlos erscheint*“. Effekte wurden erst mit 150 mg/kg HMF beobachtet. Nicht einfließen konnte in die Bewertung die additive Belastung durch Asche und Begleitstoffe im HMF selbst. Ferner kann davon ausgegangen werden, dass aus einer Standardlösung bei pH = 3,9 ebenfalls HMF gebildet wird.

Eine jüngere Arbeit aus dem United States Department of Agriculture (USDA) legte den Fokus auf den Einfluss von Säuren und Basen auf die HMF-Bildung in diversen kommerziellen HFCS-Bienenfuttern (*LeBlanc et al.*, 2009). HFCS-Bienenfutter werden aus Stärke-Hydrolysaten und partieller enzymatischer Umwandlung der Glucose in Fructose hergestellt. Basis des Futtersirups der Studie war ein kommerzieller HFCS mit 55 % Fructose und einem Grundgehalt von 57 mg/kg HMF (1 Jahr alt, photometrische Bestimmung nach *Winkler*), der auf 100, 150, 200 und 250 mg/kg HMF supplementiert und über einen Zeitraum von 5–26 Tagen verfüttert wurde. Da der Ausgangswert mittels *Winkler* bestimmt wurde, ist zu vermu-

ten, dass die tatsächlichen Gehalte um rund 10–20 mg HMF/kg höher lagen. Laut Autoren enthalten solche Sirupe auch Oligosaccharide, SO₂ von der Sulfitation, weitere Hydrolyse-Produkte und Pektine. Analytische Angaben hierzu wie auch zu Gesamtaschegehalt, Proteinen etc. fehlen.

Die Sterblichkeit der HMF-Gruppen unterschied sich mit Ausnahme der 250-mg/kg-HMF-Gruppe nicht untereinander. 50%iger Totenfall lag für die >100 mg/kg-Gruppen nach rund 16 Tagen vor, für die niedrigste HFCS-55-Basis-Gruppe nach ca. 20 Tagen. Die Saccharose-Gruppe wurde aufgrund der hohen Reinheit (>99,7 %) von den Autoren als valide Kontrollgruppe verworfen; ihr HMF-Gehalt wurde nicht bestimmt. Eine Ableitung eines 'No Observed Effect Level' (toxikologischer Endpunkt in der Toxizitätsbestimmung) ist aus dieser Studie nicht möglich.

Als einzigen Freilandversuch zu HMF zitieren *Zirbes et al.* (2013) *Ceksteryte* und *Racys* (2006), die beobachteten, dass 48 mg/kg HMF in Bienenfutter auf Maisbasis für überwinternde Bienen harmlos waren und in der Wabe eine Abnahme an HMF zu beobachten war.

Epidemiologische Daten zu HMF – Bienenvölkersterben Belgien/Niederlande 2009/10

Das hohe Bienenvölkersterben von 29 % in den Niederlanden und Belgien im Winter 2009/10 wird in Verbindung mit HMF-Gehalten in Invertzucker aus Rüben diskutiert (Niederlands Centrum Bijenonderzoek, 2011). Dieses war assoziiert mit Sint Ambrosiussirup „Fructo-Bee“. Spezifiziert waren 35 % Fructose, 32 % Dextrose und 33 % Saccharose (bezogen auf den Trockensubstanzgehalt von 73 %).

Reste des Futtersirups und Futter aus Waben wurden im darauffolgenden Frühjahr im Institut für Bienenkunde Celle untersucht. Bestimmt wurden Glucose, Fructose, teilweise Saccharose und HMF.

Im Futtersirup betrug der Fructose- und Glucosegehalt jeweils ca. 30 %. Der Saccharosegehalt deutete mindestens auf unterschiedliche Chargen, wenn nicht unterschiedliche Produkte hin: ein Drittel der Sirupe enthielt ca. 12 %, ein weiteres Drittel weniger als 1 % und 2 Proben ca. 4 % Saccharose. Die Addition der drei Zucker ergab für alle Sirupe ungefähr 66 % (d.h. 7 % der angegebenen Trockenmasse wurden nicht wiedergefunden). Die Sirupe mit den geringsten Saccharosegehalten wiesen die höchsten HMF-Gehalte auf (>400 mg/kg HMF und max. 1 % Saccharose). Diejenigen Sirupe mit 12 % Saccharose wiesen <200 mg/kg HMF auf). Spekuliert wurde auch über teilweise zu niedrige Fructose/Glucose-Verhältnisse und Kristallisationsneigung.

Die Autoren beschreiben dies später als Fehlproduktion (*Zirbes et al.*, 2013). Nähere Angaben sind nicht zu finden. Denkbar sind die Verwendung erhitzter oder überlagerter Fructose, Hitzeexposition und Alter des Sirups vor Fütterung etc. Auch liegen keine Angaben zu Aschegehalt, pH-Wert oder Oligosacchariden vor.

Nach Korrektur der Daten um Ambrosius-Fructo-Bee-Fälle betrug die Sterblichkeit im Berichtsgebiet 2009/10 23 %, in den beiden Folgejahren je 21 % und 2012/13 14 % (Niederlands Centrum Bijenonderzoek).

Anhang III Südzucker-eigene Untersuchungen zur Bienen- verträglichkeit von HMF

In der aufgeführten Literatur wurden keine bienenschädigenden Effekte mit HMF <150 mg/kg Futtersirup berichtet. Über diese Untersuchungen hinaus waren keine öffentlich zugänglichen Daten zur Bientoxizität von HMF verfügbar. Parallel dazu stehen immer wieder postulierte Grenzwerte zwischen 20 und 40 mg HMF/kg Futtersirup im Raum.

Da verfügbare Daten zu Fructose/Saccharose-basierten Futtersirupen nur aus Käfighaltung zur Verfügung standen, entschloss sich Südzucker 2012/13 zu Freilandversuchen unter Praxisbedingungen. Insgesamt war der Versuch auf 60 Jungvölker in 6 Fütterungsgruppen ausgelegt. Die Versuchsgruppen standen an unterschiedlichen, klimatisch vergleichbaren Lagen im Jagsttal.

Die Bienen wurden mit Original-Apiinvert, Apiinvert mit HMF-Zusätzen und mit 60%iger Zucker-Lösung (Raffinade) gefüttert (vgl. Tab. 5). Jedes Volk erhielt ab dem 28.07.2012 12–14 kg Futtersirup, den die Bienen nach 16 Tagen eingelagert hatten.

Die Futtersirupe wurden unmittelbar nach Herstellung und am Ende der Einlagerung (10.08.2012) untersucht. Apiinvert bestand aus 28 % Fructose, 22 % Glucose und 21 % Saccharose; Leitfähigkeitsasche <0,05 %, der pH-Wert lag bei 4,0. Der HMF-Gehalt stieg während der Verfütterung aufgrund der sommerlichen Temperaturen in diesem Zeitraum um 20 mg/kg (Tab. 5).

Die Völker wurden nach der Auswinterung im März 2013 auf Schädigungen untersucht (visuelle Kontrolle des Totenfalles, Gesundheit und Verhalten durch den Imker; Abb. 3). Ein Volk überlebte nicht aufgrund von Weisellosigkeit² (Apiinvert *ad* 80 HMF), ein weiteres verzeichnete hohe Verkotung und hohen Totenfall (Apiinvert *ad* 20 HMF). Der Standort mit höchstem HMF-Zusatz hatte einen höheren Futterbedarf, ein Volk davon war leicht verkotet. Dieses sind typische Einzelergebnisse und nicht auf HMF-Gehalte zurückzuführen. HMF-bedingte Bienenschädigungen wurden auch in der höchsten Dosierungsgruppe nicht beobachtet.

Nach der Auswinterung wurde am 24.04.2013 aus je 3 Stöcken pro Fütterungsgruppe aus den Waben eingelagertes Futter analysiert (Tab. 6, Abb. 2 und 4)

2 Als weisellos wird ein Volk bezeichnet, das keine Königin mehr hat.

Tab. 5: HMF-Gehalte in den Futtersirupen des angelegten Versuchs (6 × 10 Völker)

	HMF (HPLC) Herstellung: 06.07.2012 in mg/kg	HMF (HPLC) nach Fütterungsende 10.08.2012 in mg/kg
Apiinvert, original	7	25
Apiinvert <i>ad</i> 20 HMF*	20	43
Apiinvert <i>ad</i> 40 HMF*	39	62
Apiinvert <i>ad</i> 80 HMF*	81	97
Apiinvert <i>ad</i> 150 HMF*	141	162
Zucker/H ₂ O 60:40	keine Analyse	keine Analyse

* Das verwendete HMF wies eine Reinheit von mehr als 99 % auf.



Abb. 2: Beprobung des Restfutters nach Auswinterung

Im eingelagerten Wabenfutter wurden die gleichen Gehalte von Fructose, Glucose und Saccharose bestimmt (Abb. 6, Tab. 6), unabhängig davon ob der Futtersirup aus 60 % Saccharose oder Apiinvert bestanden hatte. Diese waren einer Blütenhonig-Zusammensetzung sehr ähnlich (Abb. 6). Vom Zeitpunkt der Fütterung bis zur Analyse im April nahm der HMF-Gehalt der Fütterungsgruppen mit 40–150 mg/kg Zusatz in den Waben ab, während er mit Saccharose-Verfütterung leicht zunahm (Abb. 7).

Aus der Studie kann entnommen werden, dass Gehalte von 150 mg/kg HMF in einem Fructose/Saccharose-basierten Futtersirup (Apiinvert) ohne Oligosaccharide und sehr geringen Aschegehalten von Bienenvölkern unter Praxisbedingungen,

Tab. 6: Analytische Parameter von eingelagertem Restfutter aus Waben (HPLC)

	HMF in mg/kg	Fructose in g/100 g	Glucose in g/100 g	Saccharose in g/100 g
Apiinvert, original	8	38	29	8
Apiinvert <i>ad</i> 20 HMF*	16	37	30	9
Apiinvert <i>ad</i> 40 HMF*	21	37	30	8
Apiinvert <i>ad</i> 80 HMF*	20	37	29	10
Apiinvert <i>ad</i> 150 HMF*	36	38	31	5
Zucker/H ₂ O 60:40	9	35	28	9

* Das verwendete HMF wies eine Reinheit von mehr als 99 % auf.



Abb. 3: Bienenvolk bei imkerlicher Begutachtung

die Flugwetter erlauben, gut vertragen werden. Die HMF-Gehalte nehmen in den Waben während des Winters ab. Die Zusammensetzung des eingelagerten Wabenfutters ist unabhängig davon, ob reine Saccharose oder Apinvert verfüttert wird.

Danksagung

Die in dieser Veröffentlichung beschriebenen Freiland-Untersuchungen an Bienenvölkern wurden vom Imker *Günter Hartmann* (Südzucker AG Werk Offenau) durchgeführt; das Konzept wurde maßgeblich von *Hermann Seibert* erstellt, der auch zusammen mit *Manuel Sohn* die Herstellung der Futtersirupe begleitete (beide Abteilung Verfahrenstechnik/Zuckertechnologie der Südzucker AG).



Abb. 4: Beispiel einer Restfutterprobe



Abb. 5: Herstellapparatur für Versuchssirupe bestehend aus Edelstahlbehälter, Rührwerk und Blattührer (Technikum, Südzucker AG)

Die analytischen Arbeiten wurden von der Zentralen Analytik der Südzucker AG unter Leitung von Dr. *Dierk Martin* durchgeführt.

Zu Auswertungen trugen Dr. *Sonja Ehrhardt*, Dr. *Nicola Höfer*, Dr. *Rainer Kliß* und *Sabine Scheffler* bei.

Dank für konstruktive Diskussionsbeiträge zum Manuskript gilt Dr. *Klaus Bürcky*, *Andreas Haupt*, Dr. *Wolfgang Kraus* und Prof. Dr. *Markwart Kunz*.

Eingegangen am 3. Mai 2016.

Anschrift der Verfasserin: *Gunhild Koziowski*, Südzucker Group, Zentralabteilung Forschung, Entwicklung und Services (CRDS), Wormser Straße 11, 67283 Obrigheim/Pfalz, Deutschland; e-Mail: Gunhild.Koziowski@suedzucker.de

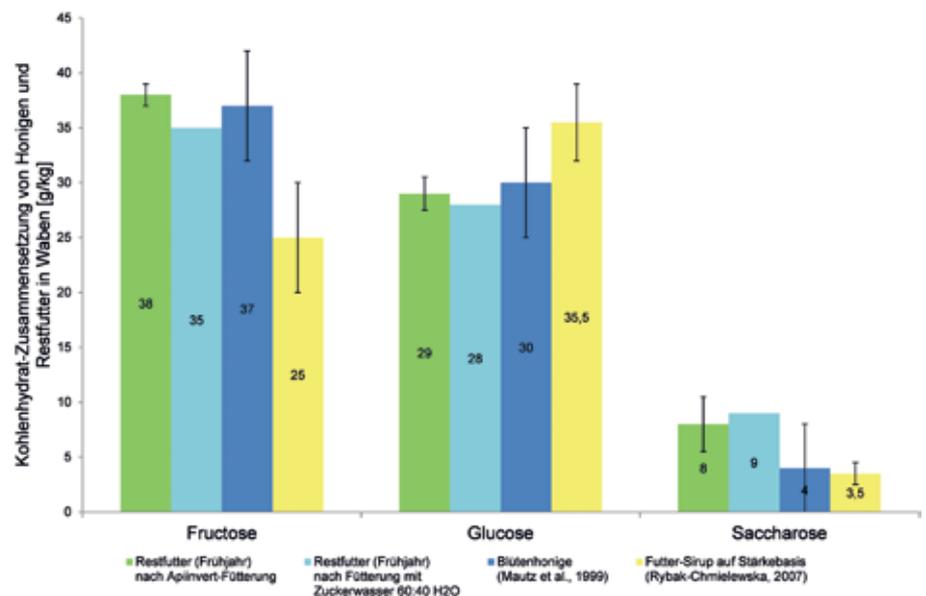


Abb. 6: Kohlenhydrat-Zusammensetzung von Restfutter, Futtermitteln aus Stärkehydrolysaten und Blütenhonigen

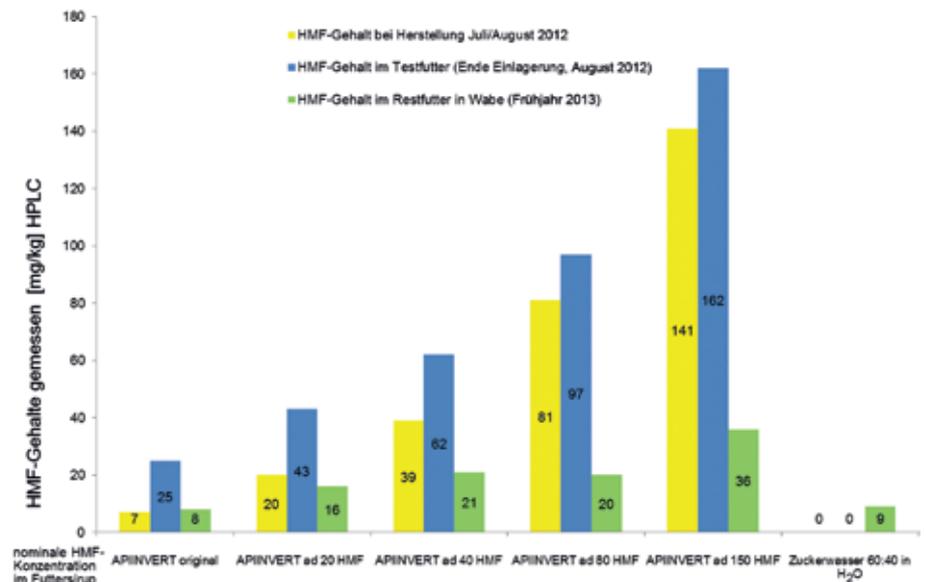


Abb. 7: HMF-Gehalte in Bienenfutter zu Beginn und am Ende der Einlagerung (August) und im Restfutter nach Auswinterung (Frühjahr)