



## Entwicklung eines Rückstands-Kontrollsystems im Bereich Honig aus ökologischer Bienenhaltung

### Erstellt von:

Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz  
und Lebensmittelsicherheit  
Institut für Bienenkunde Celle  
Herzogin-Eleonore-Allee 5, 29221 Celle  
Tel.: +49 5141 90503-47, Fax: +49 5141 90503-44  
E-Mail: o.boecking@bieneninstitut.de  
Internet: <http://www.laves.niedersachsen.de/>

Gefördert vom Bundesministerium  
für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz  
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau

Dieses Dokument ist über <http://forschung.oekolandbau.de> verfügbar.



**Schlussbericht**  
**zum Vorhaben 02OE554**  
im Rahmen der Forschungsprojektförderung  
„Bundesprogramm Ökologischer Landbau“  
  
Aktenzeichen: 514-43.50/02OE554

**„Entwicklung eines Rückstands-Kontrollsystems im  
Bereich Honig aus ökologischer Bienenhaltung“**

**Berichtszeitraum 01.12.02 –15.02.04**

Dr. Otto Boecking & Dipl. Ing. agr. Ulrike Kubersky

NIEDERSÄCHSISCHES LANDESAMT FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ  
UND LEBENSMITTELSICHERHEIT (LAVES),  
Institut für Bienenkunde Celle

ehemals: Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde

Herzogin-Eleonore-Allee 5, 29221 Celle

## Inhaltsverzeichnis

	<b>Seite</b>
<b>1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts</b>	<b>3</b>
1.1 Planung und Ablauf des Projekts	4
1.1.1 Zusammenführung der Akteure im Projekt	6
1.1.2 Experimentelle Versuche zum Rückstandsverhalten organischer Säuren im Honig gekoppelt mit Labor-Rückstandsanalytik	7
1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	10
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>12</b>
2.1 Experimentelle Versuche zum Rückstandsverhalten organischer Säuren im Honig	12
- Reihenuntersuchung unter Laborbedingungen	12
- „Worst case“ –Studien	13
- Sensorische Tests	18
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>20</b>
3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	20
3.1.1 Reihenuntersuchungen unter Laborbedingungen	20
3.1.2 „Worst case“-Studien	22
3.1.3 Sensorische Tests	29
3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	33
<b>4. Zusammenfassung</b>	<b>35</b>
<b>5. Ursprünglich geplante und tatsächlich erreichte Ziele</b>	<b>38</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>39</b>
<b>Anhang</b>	<b>I - VI</b>

Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und  
 Lebensmittelsicherheit (LAVES) - Institut für Bienenkunde Celle  
 Herzogin-Eleonore-Allee 5  
 29221 Celle, NDS  
 Tel.: 05141 – 90503 – 40, Fax: 05141 – 90503 – 44  
 info@bieneninstitut.de [www.bieneninstitut.de](http://www.bieneninstitut.de)

## 1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Als Gesamtzielsetzung sollte ein fehlendes Rückstands-Kontrollsystem für organische Säuren im Honig entwickelt werden. Rückstandsuntersuchungen für Honige aus Öko-Imkereien beschränken sich in Deutschland bislang auf Varroazide, die regulär in der konventionellen Imkerei eingesetzt werden. Sie berücksichtigen aber nicht diejenigen Varroazide, die in der VO EG Nr. 1804/1999 für Öko-Imkereien ausgewiesen sind und auch potenziell zu Rückständen im Honig führen können und als Folge dem Inverkehrbringen dieses Lebensmittels entgegenstehen.

Mit dem zu entwickelnden Rückstands-Kontrollsystem kann zukünftig den besonderen Qualitätsansprüchen der Konsumenten an das Naturprodukt Honig vertrauenswürdig und transparent im Sinne des vorbeugenden Verbraucherschutzes entsprochen werden. Darüber hinaus ist ein solches Kontrollsystem für die Öko-Imkereien selber für Zwecke der Prozess- und Produkt-Optimierung sowie der Selbstkontrolle hilfreich.

### **Das Vorhaben hat einen direkten Bezug zu den besonderen Problemen der Öko-Imkereien, die als Schwachstellen gelöst werden müssen.**

Für Öko-Imkereien ergibt sich die Schwierigkeit, die tiergesundheitsrelevante Notwendigkeit einer Varroa-Bekämpfung mit den Qualitäts- und lebensmittelrechtlichen Anforderungen an die Bienenprodukte in Einklang zu bringen. Zur Aufrechterhaltung und Verbesserung der Gesundheit der Bienenvölker steht dem Öko-Imker nach der VO EG Nr. 1804/1999 nur ein eng begrenztes Mittelspektrum zur Verfügung, um die parasitische Milbe *Varroa destructor* zu bekämpfen. Dies umfasst in Deutschland, gemäß der nationalen Rechtsordnung, lediglich die Ameisen- und Milchsäure und nach neuerlicher Zulassung auch das Thymol. Aufgrund dieser Situation ergibt sich die Notwendigkeit, dass jeglicher Einsatz dieser Varroazide wirkungsvoll sein muss, aber keine Beeinträchtigung der Honigqualität nach sich ziehen darf.

### **Das Vorhaben hat einen direkten Bezug zur Zielsetzung der Forschungs- und Entwicklungsvorhaben in der tierischen Produktion, indem es zur**

Verbesserung präventiver Tiergesundheitskonzepte beitragen kann. Eine Verbesserung der bestehenden therapeutischen Konzepte zur Varroose-Bekämpfung für die Praxis entsteht als Kopplungsprodukt aus den gezielten Untersuchungen zum Medikamenteneinsatz und den seriellen Rückstandsuntersuchungen im Projektansatz. Aus den Ergebnissen können beispielsweise Wartezeiten für die verschiedenen organischen Säuren nach dem Varroazid-Einsatz bei spezifischer Völkerführung abgeleitet werden, die bislang fehlen.

## **Das Vorhaben hat einen direkten Bezug zu den rechtlichen und politischen Rahmenbedingungen der speziellen Förderbereiche.**

Mit der Entwicklung eines Rückstands-Kontrollsystems für organische Säuren im Honig aus ökologischer Bienenhaltung können die Öko-Imker und deren Verbände den eigenen Qualitätsaussagen und den Ansprüchen des Konsumenten vertrauenswürdig entsprechen. Ein solches Kontrollsystem dient sowohl der Prozess- als auch der Produkt-Optimierung.

### **1.1. Planung und Ablauf des Projekts** (siehe auch Abb. 1)

In der Ablaufplanung sollten sechs wesentliche Meilensteine erreicht werden, die trotz ihrer Eigenständigkeit eng miteinander verzahnt und chronologisch aufeinander abgestimmt waren. Eine schematische Übersichtsdarstellung über die Planung und den Ablauf des Projektes befindet sich in Abbildung 1.

1. Meilenstein: Die Gesamtzielsetzung sollte zu Beginn des Projektes mit den einschlägigen Öko-Verbänden abgeglichen werden, da das Rückstands-Kontrollsystem später in der Praxis akzeptiert und von den einschlägigen Öko-Verbänden weitergetragen werden muss.

2. Meilenstein: Rückstandswerte organischer Säuren sollten in Modellversuchen nach Zwischentrachtbehandlungen und Reihenuntersuchungen ermittelt werden. Erfahrungswerte über das Rückstandsverhalten von organischen Säuren, wie sie gemäß der Standard-Zulassung als Varroazide eingesetzt werden, fehlten und mussten erarbeitet werden.

3. Meilenstein: „Worst case“-Studien sollten potenzielle Gefahrenspektren und Extremwerte fehlerhafter Varroazid-Anwendungen eingrenzen helfen. Trotz intensiver Schulung und Beratungshilfen kann es zu fehlerhaften Varroazid-Anwendungen in der Imkerpraxis kommen. Diese zu simulieren sollte vor allem helfen, Extremwerte für die Rückstandswerte zu erarbeiten, die für die spätere Festlegung von Höchstmengenwerten benötigt werden.

4. Meilenstein: Höchstmengenwerte organischer Säuren im Honig sollten erarbeitet werden.

5. Meilenstein: Ein Rückstands-Kontrollsystem für Honig sollte erarbeitet werden. Die Ergebnisse aus den vorgenannten Meilensteinen sollten hierbei, neben den bestehenden Datenbankenwerten des Bieneninstitutes Celle über natürliche Säuregehalte im Honig, eine der Grundlagen für die Erarbeitung eines Rückstands-Kontrollsystems für Honig sein.

6. Meilenstein: Der Wissenstransfer der Ergebnisse in die Praxis sollte neben der Ergebnisdarstellung des Projekts und späteren Einspeisung in das Internetportal durch die Erarbeitung eines Leitfadens für die imkerliche Praxis erfolgen.

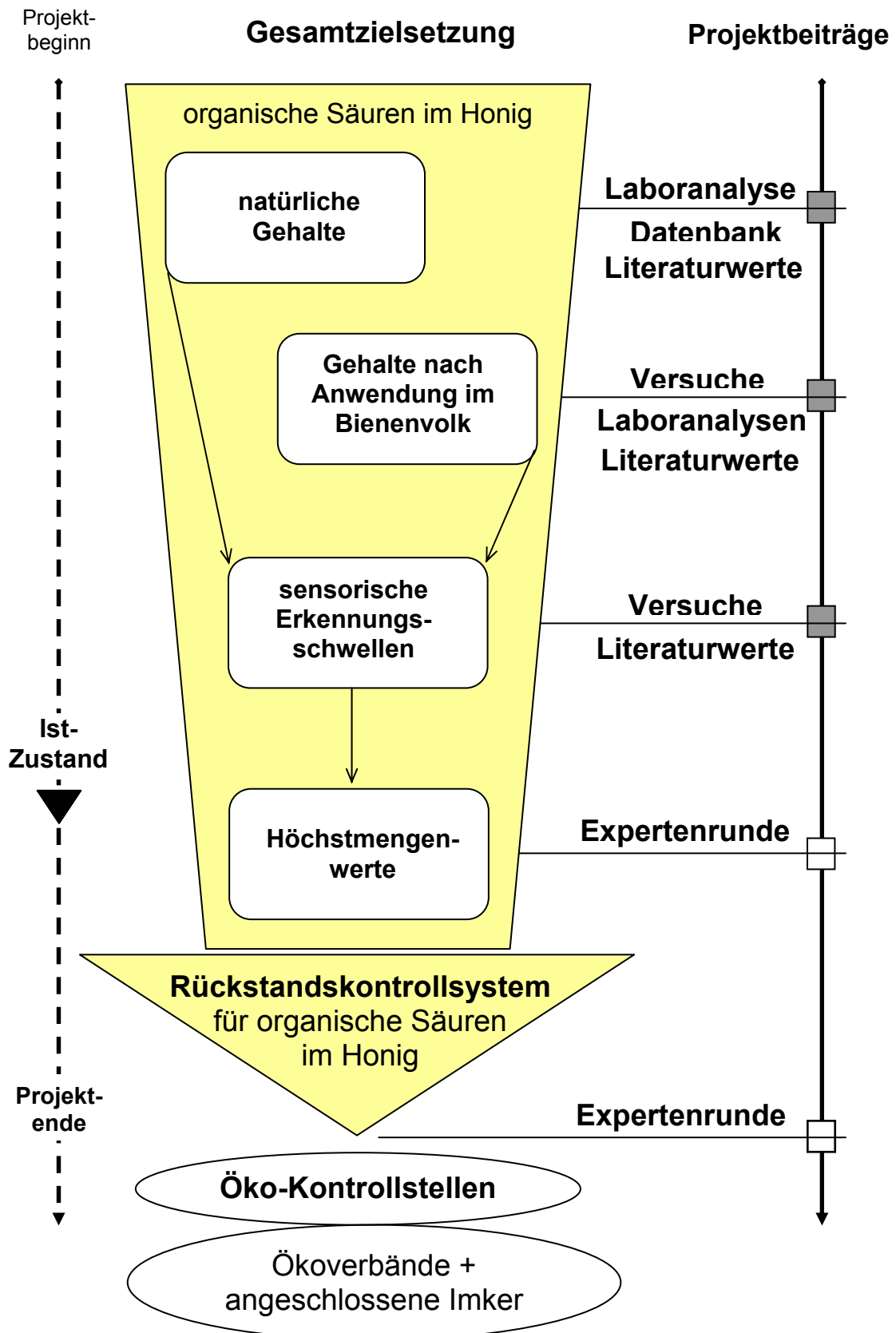


Abb. 1 Übersicht über die Planung und den Ablauf des Projektes

Zum heutigen Berichtsstand (März 2004) ist die Mehrzahl der in der Ablaufplanung vorgesehenen Meilensteine erreicht worden. Die Festlegung von Höchstmengenwerten bzw. *action limits* als Grundbestandteile des Rückstandskontrollsystems für organische Säuren im Honig soll in einer Expertenrunde getroffen werden. Dazu bietet sich ein Internationales Symposium am 27.-28. April 2004 an, wenn in Celle der Weltimkerkongress „Apimondia“ ein Spezialsymposium „*Prevention of Residues in Honey – Changes in Beekeeping Practice*“ abhalten wird.

### 1.1.1. Zusammenführung der Akteure im Projekt

In einer Gesprächsrunde mit den einschlägigen Öko-Verbänden sollte die Gesamtzielsetzung des Projektes abgeglichen werden. Die Gesprächsrunde mit Vertretern der Öko-Verbände fand am 27.02.03 in Celle statt (siehe Ergebnisprotokoll Anlage I). Obwohl wir bemüht waren, die wichtigsten deutschen Öko-Verbände einzubeziehen, sind wenige Vertreter unserer Einladung gefolgt. Nach anfänglichen Unsicherheiten auf Seiten der Öko-Verbände über die Projektziele und mögliche negative Signalwirkung, die von der Projektarbeit auf die Öffentlichkeit ausgehen könnte, wurde das Projekt gut aufgenommen. Es herrschte allgemein Konsens über die Sinnhaftigkeit und Notwendigkeit der anstehenden Untersuchung bezüglich der Rückstände organischer Säuren im Honig.

Die anwesenden Vertreter der Öko-Verbände erklärten sich bereit, die Imker ihrer Verbände für eine Zusammenarbeit mit dem Bieneninstitut Celle zu gewinnen. Diese sollte so aussehen, dass Imker dem Bieneninstitut anonymisierte Proben zukommen lassen, die nach ihrer eigenen Einschätzung potentiell erhöhte Säurekonzentrationen aufweisen. Für die Auswertung wurde im Sommer seitens des Bieneninstituts ein Fragebogen zur Vorgehensweise bei der Varroa-Behandlung erstellt (siehe Anhang V). Der Bioland-Verband gab in seinem „Imker-Rundbrief“ die notwendigen Informationen über das Projekt direkt an die Imker weiter.

Darüber hinaus ist das Projekt und dessen Zielsetzung den Mitgliedern der *Arbeitsgemeinschaft der Bienenwissenschaftlichen Institute e.V.* auf deren Jahrestagung in Schmitten-Arnoldshain (Oberursel) im März 2003 vorgestellt und zur Diskussion gestellt worden (siehe Posterdarstellung Anlage III). Weiterhin wurde das Projekt im Mai 2003 den Mitgliedern der „*European Working Group for Integrated Varroa Control*“ vorgestellt. Durch diese Vernetzung sollte nicht nur eine erweiterte Sensibilisierung für die Problematik der potenziellen Rückstandsbildung organischer Säuren erreicht werden. Vielmehr sollte ein direkter Datenaustausch mit bestehenden Arbeitsgruppen zur Erarbeitung von Höchstwerten bzw. *action limits* ermöglicht werden. Ein Teil dieser Expertenrunde wird bei der Etablierung des anvisierten Rückstandskontrollsystems beteiligt.

### **1.1.2. Experimentelle Versuche zum Rückstandsverhalten organischer Säuren im Honig gekoppelt mit der Labor-Rückstandsanalytik**

Schon vor Projektbeginn lagen aus früheren Untersuchungen zu organischen Säuren auch anderer Arbeitsgruppen Ergebnisse zur Rückstandsbildung vor. Eine umfangreiche Literaturrecherche (siehe Anhang IV) wies aber derart diverse Versuchsbedingungen aus, dass die Daten schwer vergleichbar sind. So unterscheiden sich beispielsweise die verwendeten Säurekonzentrationen oder die Art der Anwendung am Bienenvolk. Es fehlt oftmals der Bezug zur Völkerkonstitution und Trachtsituation, die einer Säureanwendung folgte.

Mit eigenen Modelluntersuchungen, die aus den Erfordernissen der Praxis abgeleitet wurden, sollten auf Basis der Standardzulassung für Ameisensäure bzw. Milchsäure fehlende Daten erschlossen werden. Bei allen experimentellen Versuchen wurde Ameisensäure (60 % ad us. vet.) und Milchsäure (15 % ad us. vet.) gemäß der Standardzulassung verwendet. Oxalsäure wurde im Vorgriff einer möglichen Standardzulassung als Träufelbehandlung mit einer Oxalsäure (35 g/L)-Zuckerlösung in alle Untersuchungen mit einbezogen.

#### **► Reihenuntersuchung unter Labor- und Praxisbedingungen:**

Reihenuntersuchungen sollten Erkenntnisse zur Dynamik von Rückständen organischer Säuren im Honig erbringen. Daneben sollten serielle Probenziehungen nach der Varroazid-Applikation dazu dienen, Wartezeiten für die Anwendung der verschiedenen untersuchten Varroazide einzugrenzen.

Die bisher veröffentlichten Daten konzentrieren sich überwiegend auf die Stabilität und Dynamik organischer Säuren unter Bedingungen innerhalb des Bienenvolkes. In eigenen Versuchen wurden Proben verschiedener Misch- und Sortenhonige künstlich mit diesen Varroaziden versetzt, um dagegen Erkenntnisse zur Dynamik von Rückständen organischer Säuren im Honig unter unterschiedlichen Lagerbedingungen zu gewinnen. Gerade für die imkerlicher Praxis ist die Frage, ob sich eventuell vorhandene Rückstände im Honig bei Lagerung als stabil erweisen, von Bedeutung.

Bei den Untersuchungen kamen sowohl Ameisen-, als auch Milch- oder Oxalsäure zum Einsatz. Die künstlich zugesetzten Mengen wurden dabei so gewählt, dass sie in der Größenordnung potenzieller Rückstände im Honig nach Varroa-Behandlung in der Imkerpraxis lagen. Ein Teil der Honigproben wurde anschließend in geschlossenen Honiggläsern bei Zimmertemperatur (20-25 °C), ein anderer Teil im Kühllager (13-17 °C) aufbewahrt. Die Stabilität der organischen Säuren im Honig unter diesen verschiedenen Lagerbedingungen sollte in regelmäßigen Intervallen über einen Zeitraum von mindestens 20 Wochen überprüft werden. Eine abschließende Messung wurde nach etwa 46 Wochen angeschlossen.



**► „Worst case“ –Studien:**

Zur Erarbeitung von potenziellen Gefahrenspektren und Extremwerten sollten beispielhaft fehlerhafte Varroa-Bekämpfungsmaßnahmen mit organischen Säuren vorgenommen werden.

Zwischentrachtbehandlungen gekoppelt mit seriellen Rückstandsuntersuchungen sollten Erkenntnisse über Auswirkungen verschiedener Anwendungszeitpunkte auf die Gehalte organischer Säuren im Honig der Folgetracht bzw. im Winterfutter bringen. Gemäß der Standard-Zulassung für organische Säuren sind nach deren Anwendung am Bienenvolk Wartezeiten von 6 Monaten vorgesehen. In der imkerlichen Praxis werden bei starkem Varroa-Reinvasionsdruck mitunter bereits im Frühjahr Behandlungen der Bienenvölker mit organischen Säuren vorgenommen. Dies kann potenziell zu belasteten Frühjahrshonigen führen.

Mit Hilfe von Reihenuntersuchungen sollte der Einfluss solch früher Behandlungen auf die Gehalte organischer Säuren in der Folgetracht bzw. im Winterfutter überprüft werden. In ersten Versuchen unter Praxisbedingungen wurden daher ab Mitte März zunächst sechs Völker im Abstand von 3 Wochen zweimalig mit 15 %iger Milchsäure behandelt (Sprühbehandlung). Weitere Tests mit 60%iger Ameisensäure an 54 Völkern sowie Vergleichstest mit Oxal- und Milchsäure an 30 Völkern folgten ab Anfang Mai und wurden bis zum Ende der Bienensaison Mitte September fortgesetzt. Bei diesen Untersuchungen sollte auch überprüft werden, ob unter Einhaltung spezifischer imkerlicher Betriebsweisen Zwischentrachtbehandlungen ohne negative Auswirkungen auf die Rückstandsgehalte der Folgetracht möglich sind.

**► Sensorische Tests: Untersuchungen zum Einfluss erhöhter Mengen organischer Säuren auf den Geschmack von Honig**

In Zusammenhang mit Rückständen organischer Säuren im Honig durch Maßnahmen zur Varroa-Bekämpfung ergibt sich die Frage, inwieweit erhöhte Mengen organischer Säuren den Geschmack des Honigs beeinflussen können. Dieser Aspekt erlangt besondere Relevanz, wenn der Konsument geschmackliche Veränderungen an dem Naturprodukt wahrnimmt und der entsprechende Honig der Honig-VO nicht mehr entspricht. Literaturangaben über entsprechende Schwellenwerte liegen kaum vor. Aus der Schweiz ist eine Untersuchung veröffentlicht (Bogdanov et al., 1998), deren Ergebnisse zeigen, dass der Geschmack von Honig nach der Säurebehandlung beeinträchtigt sein kann. Ameisensäure hatte dabei den größten potentiellen Einfluss auf den Honiggeschmack, Milchsäure hingegen den geringsten.

Die Vorschriften in der Lebensmittelgesetzgebung auf nationaler und internationaler Ebene verbieten beim Honig allerdings jegliche Zusätze, welche seinen Geschmack verändern. Laut DEUTSCHER HONIG-VERORDNUNG beispielsweise dürfen Honige keinen künstlich veränderten Säuregrad besitzen und auch keinen artfremden

Geruch oder Geschmack aufweisen. Über die natürlichen Gehalte hinaus erhöhte Werte organischer Säuren im Honig, die aus einer Varroazid-Anwendung resultieren, haben je nach Honigsorte jedoch mitunter einen starken Einfluss auf den Geschmack. Immer wieder sind nach Auskunft von Öko-Kontrollstellen bei den amtlichen Kontrollen Honige aus Praxisbetrieben zu beanstanden, die aufgrund eines erhöhten Säuregeschmacks auffallen. Eigene sensorische Untersuchungen sollten die geschmacklichen Erkennungsschwellen organischer Säuren im Honig eingrenzen, um in Ergänzung zu den oben genannte Untersuchungen entsprechende Schwellenwerte für die Festlegung von Höchstmengen bzw. *action limits* zur Verfügung zu haben. Als Erkennungsschwelle wird die niedrigste Konzentration einer Säure im Honig bezeichnet, die geschmacklich erkannt wird. Mit Hilfe von Honigverkostungen durch sensorisch geschulte Testpersonen wurden in zwei Testreihen diese Erkennungsschwellen für die verschiedenen organischen Säuren in Honig, welche als Varroazide eingesetzt werden, eingegrenzt.

## 1.2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Wirksamkeit und Bienenverträglichkeit organischer Säuren und ätherischer Öle, die als Varroazide in der Imkerei eingesetzt werden, sind umfangreich untersucht. Die daraus entwickelten Varroa-Bekämpfungsverfahren werden auf europäischer Ebene im Rahmen der „*European Working Group for Integrated Varroa Control*“ mittlerweile vernetzt, abgeglichen und vereinheitlicht. Zur Umsetzung der vorhandenen Konzepte in die Praxis bedarf es weiterhin einer steten Schulung der Imkerschaft über die Beratung.

Erfahrungswerte über das Rückstandsverhalten organischer Säuren in den Bienenprodukten, die als Varroazide eingesetzt werden, sind bislang unzureichend erarbeitet. Da organische Säuren zu den natürlichen Bestandteilen eines jeden Honigs gehören, wird oftmals kein Problem in einer möglichen Rückstandsbildung durch den Einsatz als Varroazid gesehen. Dieses wenig ausgeprägte Bewusstsein in der Imkerschaft wird eventuell gestärkt durch die Tatsache, dass eine gesundheitliche Beeinträchtigung der Verbraucher bei der Größenordnung potenzieller Rückstände im Honig nicht zu erwarten ist. Dennoch ist eine Erhöhung der Säurekonzentrationen über die natürlichen Gehalte hinaus nicht mit der europäischen und nationalen Gesetzgebung (Honigverordnung) vereinbar.

Aus früheren Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen lagen Ergebnisse zur Rückstandsbildung organischer Säuren nach Anwendung im Bienenvolk vor. Eine umfangreiche Literaturrecherche (siehe Anhang IV) wies aber derart diverse Versuchsbedingungen aus, dass die Daten schwer vergleichbar sind. So unterscheiden sich beispielsweise die verwendeten Säurekonzentrationen oder die Art der Anwendung am Bienenvolk. Es fehlt oftmals der Bezug zur Völkerkonstitution und Trachtsituation, die einer Säureanwendung folgte. Es fehlten insbesondere Untersuchungen zum Rückstandsverhalten organischer Säuren und deren Dynamik bei Anwendung unter Praxisbedingungen. Daraus konnte wiederum abgeleitet werden, dass es einen Bedarf für eine Weiterentwicklung therapeutischer Konzepte zur Varroose-Bekämpfung gab, welche die Rückstandsbildung mitberücksichtigten. Mit eigenen Modelluntersuchungen, die aus den Erfordernissen der Praxis abgeleitet wurden, sollten auf Basis der Standardzulassung für Ameisensäure bzw. Milchsäure fehlende Daten erschlossen werden.

Eine der wenigen Untersuchungen zum geschmacklichen Einfluss organischer Säuren ist aus der Schweiz veröffentlicht (Schweiz. Bienen-Zeitung 121(9) 581-585, [1998]). Die Ergebnisse der sensorischen Prüfung zeigten hier, dass der Geschmack

von Honig nach der Säurebehandlung beeinträchtigt sein kann. Ameisensäure hatte dabei den größten Einfluss auf den Honiggeschmack, Milchsäure den geringsten. Die Vorschriften in der Lebensmittelgesetzgebung auf nationaler und internationaler Ebene verbieten beim Honig jedoch jegliche Zusätze, welche seinen Geschmack verändern.

Bei den Labor-Nachweisverfahren für organische Säuren konnte auf Standard-Untersuchungsverfahren mittels enzymatischer Kits zurückgegriffen werden. Lediglich beim Milchsäurenachweis stellte sich heraus, dass sich das Standardverfahren nicht auf die Matrix Honig übertragen ließ, da sogenannte Schleichreaktionen auftraten.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Experimentelle Versuche zum Rückstandsverhalten organischer Säuren im Honig

#### ► Reihenuntersuchung unter Laborbedingungen:

Zielsetzung: Nach Anwendung organischer Säuren zur Varroa-Bekämpfung kann es zu Rückständen im Honig kommen. Für die praktische Imkerei interessiert die Frage nach der Stabilität dieser Rückstände. Um Erkenntnisse zur Dynamik von Rückständen organischer Säuren im Honig unter Lagerbedingungen zu gewinnen, wurden Proben verschiedener Misch- und Sortenhonige künstlich mit diesen Varroaziden versetzt. Die Stabilität dieser experimentell erhöhten Gehalte an organischen Säuren in den Honigproben sollte unter verschiedenen Lagerbedingungen (Kaltlagerung / Warmlagerung) über einen Zeitraum von 41 bis 46 Wochen verfolgt werden.

Vorgehensweise: Für diese Untersuchung standen vier verschiedene typische Sorten- und Mischhonige zur Verfügung. Neben einem Raps- und einem Heidehonig wurde ein Wald- und ein Blütenhonig, sowie zusätzlich ein Waldhonig aus Süddeutschland in die Versuche mit einbezogen. Diese Auswahl repräsentiert Honige mit einem Spektrum an unterschiedlichen, sortentypischen natürlichen Gehalten der organischen Säuren. Alle verwendeten Honige wurden zuvor Pollenanalytisch eingeordnet und auf alle anderen wichtigen Honig-Qualitätsparametern [nach DIN] hin überprüft.

Als organische Säuren wurde Ameisen-, Milch- und Oxalsäure den Honigen homogen zugesetzt. Die zugesetzten Mengen wurden dabei so gewählt, dass sie in der Größenordnung potenzieller Rückstände im Honig nach Varroa-Behandlungen lagen. In je 500 g Honig der oben genannten Sorten wurden definierte Mengen jeweils einer Säure (Ameisensäure 98%: 0,418 ml; Oxalsäurelösung 35 g/l: 4,00 ml; Milchsäure 90%: 0,683 ml) mittels Pipetten eingegeben und mit Hilfe eines Rührwerkes 10 Minuten gleichmäßig eingerührt. Anschließend wurden jeweils 21 g der so präparierten Honige in kleine Probengefäße (Honiggläschen mit max. Füllmenge 30 g) gefüllt und diese mit einem Schraubverschluss mit Deckeleinlage luftdicht verschlossen. Die Aufbewahrung der Proben erfolgte entweder bei Zimmertemperatur (20-25 °C) oder im Kühlraum bei 13-17 °C.

Die jeweiligen seriellen Messungen der Gehalte an organischen Säuren erfolgte anhand enzymatischer Nachweisverfahren (Böhringer, Mannheim). Hierbei wurde bei jedem Messansatz stets eine Probe eines Labor-internen „Standardhonigs“ parallel mitgemessen, von dem alle Qualitätsparameter bekannt waren.

Die seriellen Probenuntersuchungen erfolgten nach der Beimengung an zuvor festgelegten Terminen: vor Zusatz der organischen Säuren (Nullprobe: erfasst die nativen Gehalte), 1 Tag nach Zusatz (0h-Wert), nach einer Woche (1W-Wert), und in der weiteren Abfolge von 3, 5, 10, 22 und nach 41 bzw. 46 Wochen (3W bis 46W-Wert).

► „Worst case“ –Studien:

**Serielle Probenziehungen nach Varroazid-Applikation**

Allgemeine Zielsetzung: In der imkerlichen Praxis kann aufgrund massiven Varroabefalls eine Behandlung der Völker in Zwischentrachtzeiten sinnvoll sein. Konzepte zur rückstandsfreien Zwischentrachtbehandlung mit organischen Säuren fehlen bislang. Behandlungsversuche gekoppelt mit seriellen Rückstandsuntersuchungen sollten Erkenntnisse über Auswirkungen verschiedener Zwischentrachtbehandlungen auf die Gehalte organischer Säuren im Honig der Folgetracht bzw. im Winterfutter erbringen. In ersten Versuchen unter imkerlichen Praxisbedingungen wurden daher ab Mitte März zunächst sechs Völker mit 15 %iger Milchsäure behandelt (Sprühbehandlung). Weitere Tests mit 60%iger Ameisensäure an 54 Völkern sowie Vergleichstest mit Oxal- und Milchsäure an 30 Völkern folgten ab Anfang Mai und wurden bis zum Ende der Bienensaison Mitte September fortgesetzt.

Vorgehensweise bei der Probenahme: Die Probenahmen erfolgte bei allen im folgenden beschriebenen Behandlungsversuchen auf die gleiche Weise. In bestimmten zeitlich festgelegten Intervallen wurden direkt vor Ort an den Bienenständen Honigproben aus den Waben entnommen. Die Entnahme des Honigs erfolgte gleichmäßig über alle Waben eines Volkes verteilt, um so eine repräsentative Stichprobe zu erhalten. Dabei wurden sowohl reine Honigwaben als auch Futterkränze über Brutzellen berücksichtigt.

Mit Hilfe eines Metallspatels wurden zunächst die Zellstrukturen zerstört, um den Honig zu entnehmen und in Kunststoffbeutel zu überführen. Das anschließende Aufhängen der Beutel für einige Stunden in einem warmen Raum sollte bewirken, dass sich die bei der Analyse störenden Wachspartikel vom Honig vollständig trennen konnten.

In etwas abgewandelter Form erfolgte auch die Probeentnahme zu den Honigernte- bzw. Schleuderterminen. Um die Gehalte an organischen Säuren im Honig der Brut- bzw. Honigräume getrennt erfassen zu können, wurden hier zunächst den Versuchsvölkern alle Honigwaben entnommen. Diese wurden jeweils separat getrennt von den Waben anderer Völker ausgeschleudert. Bei Völkern, die außerdem über

größere Mengen an Honigvorräten im Brutraum verfügten, wurden auch diese Waben, wiederum getrennt, ausgeschleudert.

Nach jeder Schleuderung erfolgte eine vollständige Entleerung und Reinigung der Schleuder. Anschließend wurde der Honig gleichmäßig verrührt und Zufallsstichproben als Mischproben entnommen.

Lediglich bei der Probenziehung aus der Heidetracht erfolgte ein weiterer Zwischenschritt, der sich aus der spezifisch natürlichen zähen Konsistenz von Heidehonig ergab. Die Proben mussten zunächst vorsichtig erwärmt werden, um dann das Honig-Wachs-Gemisch durch Seiertücher (Gaze) zu pressen. Auf diese Weise konnte der grobkristalline und zähe Heidehonig für die Analyse extrahiert werden.

### **Serielle Probenziehungen nach Milchsäure-Applikation**

Zielsetzung: Milchsäure hat ebenso wie Oxalsäure keine varroazide Wirkung in die verdeckelten Brutzellen hinein. Sie wird von den Imkern deshalb üblicherweise in der brutfreien Winterszeit angewendet, wenn die Varroamilben sich ausschließlich auf den erwachsenen Bienen aufhalten. In Abhängigkeit von dem Brutaufkommen kann Milchsäure jedoch prinzipiell zu jeder Jahreszeit eingesetzt werden. So kann beispielsweise im zeitigen Frühjahr, bei entsprechendem Varroadruck eine solche Varroa-Bekämpfungsmaßnahme sinnvoll erscheinen, womit Milchsäure eine Alternative zur Behandlung der Völker mit Ameisensäure darstellen kann.

In einem Behandlungsversuch im zeitigen Frühjahr sollte der Frage nachgegangen werden, wie stark sich die aus einer solchen Behandlung resultierenden Milchsäurerückstände in der Nachfolgetracht wiederfinden lassen.

Vorgehensweise: Als erster „Worst case“-Versuch wurde im März zunächst bei sechs Bienenvölkern im Abstand von 3 Wochen zweimalig Milchsäure angewandt (15 %ige MS, Sprühbehandlung). Die erste Behandlung erfolgte Mitte März, eine zweite schloss sich in der zweiten Aprilwoche an. Es wurden jeweils ca. 5 ml 15%-ige Milchsäure pro Wabenseite mittels Handzerstäuber direkt auf die auf den Waben ansitzenden Bienen versprüht. Mit Hilfe von seriellen Probenuntersuchungen sollte dann der Einfluss dieser Behandlungen auf die Gehalte organischer Säuren im Honig der Folgetracht bzw. im Winterfutter überprüft werden. Dazu wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten jeweils direkt von der Wabe Honigproben aus den Versuchsvölkern entnommen und diese im Labor auf ihre Milchsäure-Gehalte hin untersucht.

Bei der Analyse auf der Basis enzymatischer Nachweisverfahren (Milchsäure-Kit, Fa. Boehringer) stellte sich zu Beginn der Untersuchungen heraus, dass sich dieses

Standardverfahren zum Nachweis organischer Säure in Lebensmitteln nicht auf die Matrix Honig übertragen lässt, da hierbei sogenannte Schleichreaktionen auftreten. Zur Validierung mussten zunächst umfassendere Reihenuntersuchungen im Labor durchgeführt werden. Aus diesen Ergebnissen heraus erfolgte später eine Abwandlung des Standardnachweisverfahrens. Hierbei wurde neben der Erfassung der Gesamt-Milchsäuregehalte eine Differenzierung nach L- und D-Milchsäure vorgenommen.

Die Probennahmen erfolgten unmittelbar vor der Behandlung, sowie eine bzw. drei Wochen nach der 1. Behandlung. Weitere Stichproben wurden zwei Tage, eine Woche und 5 Wochen nach der 2. Milchsäure-Behandlung entnommen.

### **Serielle Probenziehungen nach Ameisensäure-Applikation**

Zielsetzung: Im Gegensatz zu Milch- und Oxalsäure hat die Ameisensäure nachweislich eine varroazide Wirkung auch in die verdeckelte Brut hinein. Daraus ergibt sich die prinzipielle Vorzüglichkeit dieser organischen Säure als geeignetes Instrument zur frühzeitigen Eindämmung des Milbenpopulationswachstums während der Bienensaison. Gemäß der Standardzulassung dürfen Behandlungen nur dann erfolgen, wenn im selben Jahr kein Honig mehr von den behandelten Völkern geerntet wird. In Abhängigkeit von Milbenaufkommen und Außentemperatur kann diese Säure jedoch theoretisch zu jeder Jahreszeit eingesetzt werden.

Ist der Varroadruck besonders stark, kann dies dazu führen, dass Imker - entgegen den oben aufgeführten Vorgaben der Standardzulassung - Ameisensäure zur Zwischentrachtbehandlung einsetzen. Ist nämlich das Milbenpopulationswachstum schon während der Frühsommerentwicklung des Bienenvolkes oder durch Reinvansion zusätzlicher Milben erkennbar angestiegen, könnte eine Zwischentrachtbehandlung eine Dezimierung der Varroapopulation bewirken und die Chance einer Honigernte aus der Folgetracht sichern helfen. Hierbei besteht jedoch aufgrund des geringen Zeitraumes von der Behandlung hin zur Honigernte die Gefahr der Rückstandsbildung im Honig. Verlässliche Konzepte zur rückstandsfreien Zwischentrachtbehandlung mit organischen Säuren fehlen bislang. Deren Entwicklung war deshalb das Ziel eigener Versuche zur Sommerbehandlung mit Ameisensäure.

Ausgehend von theoretischen Überlegungen haben wir dazu folgendes Modell zugrunde gelegt: Die Gesamtrückstandsmenge im Bienenvolk ist abhängig von der zum Zeitpunkt der Behandlung vorhandenen Futterreserven und deren spätere Verkonsumierung durch das Bienenvolk. Umfangreiche Futterreserven bieten eine größere Kontaminationsmöglichkeit im Vergleich zu geringen Reserven. Ein starker Futtermittelverzehr durch das Bienenvolk kann zuvor vorhandene Rückstandsmengen



verringern. Ebenso können anschließende Massentrachten zur Verdünnung und reduzierenden Effekten beitragen.

Zur Überprüfung dieses Modells wurden die folgenden Versuche gestaltet: Versuchsvölker wurden mit unterschiedlichen Reserven an Wabenhonig ausgestattet, so dass vor der Ameisensäure-Applikation Völker mit viel Futter, Völkern mit wenig Futter im Vergleich gegenübergestellt wurden. Anschließend folgte nach der Behandlung eine Wanderung mit diesen Völkern in eine Massentracht.

Vorgehensweise: Die Ameisensäure-Behandlung im Sommer erfolgte an insgesamt 54 Versuchsvölkern. Mit je 18 Bienenvölkern wurde jeweils nach der Ameisensäure-Behandlung Mitte Juni die Sommerraps- und auch Lindentracht, sowie Ende Juli die Heidetracht angewandert. Gemäß dem Modell der Persistenz der Rückstände in Abhängigkeit der Futtervorräte der Völker zum Zeitpunkt der Behandlung und der folgenden „Verwirtschaftung“ dieser Reserven wurde die Versuchsvölker zunächst nach ihren Futterreserven in unterschiedliche Gruppierungen eingeteilt.

Als Vorbereitung musste zunächst dazu unter Zuhilfenahme von Schätzrahmen die Futtervorräte der einzelnen Völker abgeschätzt werden. Es folgte eine Aufteilung in drei Versuchsgruppen, bestehend aus jeweils 6 Völkern, die entweder viel (im Mittel 15,5 kg) oder wenig (im Mittel 9,3 kg) Futtervorräte zugeteilt bekamen. Wenn nötig wurden den Völkern Futterwaben zur Futterreduzierung entnommen bzw. zusätzliche zu den vorhandenen Waben dazu gegeben. Die dritte Gruppe stellte die Kontrolle dar. Hier wurden alle Futtervorräte in den Völkern belassen.

Die anschließende zweimalige Schwammtuch-Behandlung in den ersten beiden Gruppen wurde mit 60%iger Ameisensäure (ad us. vet.) in einer Aufwandmenge von 44 ml pro Volk vorgenommen. Die Völker der Kontrollgruppe blieben unbehandelt. Die Probenziehung erfolgte jeweils am Tag vor der ersten Behandlung und am Tag nach der zweiten Behandlung. So war der Bezug und der Vergleich zu den natürlichen Säuregehalten in den Völkern vor der Behandlung möglich. Anschließend wurden die entsprechenden Trachten angewandert. Weitere Proben für die Laboruntersuchungen wurden nach vier Wochen bzw. zur Ernte der jeweiligen Folgetracht gezogen.

### **Serielle Probenziehungen nach Oxalsäure- und Milchsäure-Applikation**

Zielsetzung: Oxal- bzw. Milchsäure-Behandlungen bieten sich als Milben-reduzierende Maßnahmen bei Jungvölkern an. Ein Konfliktpotenzial ergibt sich nur dann mit den aus der Behandlung resultierenden Rückständen im Honig, wenn diese Völker noch im Jahr ihrer Erstellung in einer Spättracht eingesetzt werden sollen. Die Jungvolkbildung ist besonders für Öko-Imker neben dem Einsatz von Medikamenten

ein wesentlicher Bestandteil imkerlicher Maßnahmen im Bekämpfungskonzept. So werden beispielsweise im Zuge des sogenannten „Rotationsverfahrens“ zum Aufbau von Jungvölkern bei dieser Betriebsweise den Wirtschaftsvölkern zum Zeitpunkt der Rapshonigernte im Juni erwachsene Bienen als Kunstschwarm oder als „Treiblinge“ entnommen. Ausgestattet mit einer jungen Königin entwickeln sich diese Jungvölker bei entsprechender Pflege (regelmäßige Aufbaufütterung) zu starken Überwinterungseinheiten. Stellt sich jedoch eine aussichtsreiche Heidetracht im August/September desselben Jahres ein, so werden selbst diese Jungvölker von den Imkern in der Heide aufgestellt. Von besonderem Interesse ist dann die Auswirkung der zurückliegenden Sommerbehandlung mit Oxal-, bzw. Milchsäure auf den zu erntenden Heidehonig aus solchen Völkern. Die Zeitspanne zwischen Behandlung der sich im Aufbau befindenden Völker bis hin zur Heidehonigernte beträgt gerade einmal zwei Monate. Vom theoretischen Ansatz her könnte aber aufgrund von Verdünnungseffekten durch die regelmäßigen Aufbaufütterungen die Rückstandsbildung gering sein. Auch lässt sich annehmen, dass die begrenzten Futterreserven zum Zeitpunkt der Behandlung ohnehin eine geringe Aufnahmekapazität für die Rückstände darstellen.

Vorgehensweise: Die Auswirkungen einer Sommerbehandlung mit Oxal-, bzw. Milchsäure auf die Gehalte dieser Säuren im Honig der Folgetracht wurde an Jungvölkern (gebildet als sogenannte Treiblinge) untersucht. Auch hier wurde die Entwicklung von Rückständen dieser organischen Säuren nach der Behandlung bis zur Wanderung dieser Völker in die Spättracht (Heide) durch serielle Probenziehungen verfolgt.

Die erste Oxal- bzw. Milchsäure-Behandlung in diesen Jungvölkern erfolgte Anfang Juli. Die Oxalsäure-Behandlung von zwölf 1-zargigen Völkern erfolgte als einmalige Träufelbehandlung mit jeweils 40 ml Oxalsäure (35 g/L)-Zuckerlösung. Milchsäure kam in Form von 15 %iger Milchsäure (ad us. vet.) zum Einsatz. Insgesamt 12 Völkern wurden jeweils zweimalig im Abstand von 5 Tagen mit 8 ml MS pro bienenbesetzte Wabenseite im Sprühverfahren behandelt. Sechs Völker blieben unbehandelt und dienten als Kontrolle.

Die Aufstellung und Behandlung der Völker erfolgte an zwei verschiedenen Standorten. Da die als Treiblinge gebildeten Jungvölker zum Aufbau starker Einheiten unter einem regelmäßigen Futterstrom stehen mussten und nicht durch massive Futtermasse in ihrer Entwicklung eingeschränkt werden sollten, mussten diese bis zur Wanderung in die Heide-Tracht stetig mit Futterteig bzw. Futtersirup gefüttert werden. Anfang August (02.08.03) wurden die Völker dann auf zwei verschiedenen Standorte in die Heide gestellt.

Da aufgrund des trockenen Sommers 2003 die Trachtverhältnisse in der Heide äußerst ungünstig waren, wurden die Völker ab Mitte August mit Heidehonig gefüttert, um somit eine Heidetracht für diesen Versuch zu simulieren.

Proben für die Laboruntersuchungen wurden am Tag vor der ersten Behandlung (01.07.03) und am Tag nach der zweiten Behandlung (08.07.03) entnommen.

Anschließend wurden die entsprechenden Trachten angewandert. Weitere Proben wurden nach vier Wochen bzw. zum Erntezeitpunkt gezogen.

### ► Sensorische Tests

Zielsetzung: Treten Rückstände organischer Säuren im Honig nach Varroa-Bekämpfungsmaßnahmen auf, so ergibt sich die Frage, inwieweit erhöhte Säurekonzentrationen auch den Geschmack des Honigs beeinflussen können. Neben den erhöhten Säurekonzentrationen im Honig, ist eine geschmackliche Veränderung des Honigs ein weiterer Beanstandungsgrund für rückstandsbelastete Honige bei der Honiganalytik. Sensorische Tests sollten Erkenntnisse zu den geschmacklichen Erkennungsschwellen organischer Säuren im Honig liefern.

Vorgehensweise: In diese Untersuchungen waren 15 in der Honigbeurteilung geschulte Testpersonen einbezogen. Ihre Aufgabe bestand darin, jeweils Honigproben, denen unterschiedliche Dosierungen organischer Säuren (Ameisen-, Milch- oder Oxalsäure) künstlich zugesetzt waren, zu verköstigen. Mit Ausnahme einer Probe ohne Säurezusatz als Bezugsprobe waren die in ihrer Dosierung gestaffelten Proben für die Testpersonen kodiert. Anhand eines Fragebogens sollten die Honigproben beurteilt werden, um sie anschließend in Abweichung zur Bezugsprobe in einer Rangfolge zu sortieren. Den Testpersonen war weder bekannt, welche Säuren den Proben jeweils zugesetzt waren, noch in welchen Konzentrationen diese vorlagen. Pro untersuchter Säure ergaben sich 4-6 Einzelproben. Um die Gesamtprobenzahl für die Tester zu begrenzen, war eine Beschränkung auf wenige Sortenhonige notwendig. Im ersten Durchgang erfolgte der Sensoriktest auf der Basis eines sortenreinen Rapshonigs, der einen im Geschmack eher milden Charakter aufweist. Im zweiten Durchgang konnte der Test zusätzlich auf einen Wald- und Blütenhonig ausgedehnt werden. Waldhonig besitzt natürlicherweise einen kräftigeres Aroma und einen saureren Geschmack.

Die Rapshonigproben wurden jeweils mit Ameisen-, Milch- oder Oxalsäure in je vier verschiedenen Konzentrationen versetzt (siehe Tabelle 1). Aufgrund der ermittelten Ergebnisse des ersten sensorischen Tests konnten im zweiten Testdurchgang die eingerührten Säuremengen nach oben hin eingegrenzt werden und dem Honig in feineren Abstufungen als im ersten Test zugeführt werden (siehe Tabelle 2).

Die Rückgabe der Ergebnisse der einzelnen Testpersonen erfolgte in anonymisierter Form. Die statistische Absicherung dieser Tests erfolgte nach KRAMER (1974).

Tabelle1: Erster Versuchsdurchgang: künstlicher Säurezusätze zu einem Rapshonig zur Erarbeitung von geschmacklicher Erkennungsschwellen durch geschultes Testpersonal im Sensoriktest.

<b>Rapshonig</b>	Säurezusatz zum Rapshonig [mg/kg]					
Ameisensäure	0	150	300	450	600	
Milchsäure	0	500	1000	1500	2000	
Oxalsäure	0	150	300	450	600	

Tabelle2: Zweiter Versuchsdurchgang: künstlicher Säurezusätze zu einem Rapshonig bzw. einem Waldhonig zur Erarbeitung von geschmacklicher Erkennungsschwellen durch geschultes Testpersonal im Sensoriktest.

<b>Rapshonig</b>	Säurezusatz zum Rapshonig [mg/kg]					
Milchsäure	0	300	400	500	700	1000
Oxalsäure	0	50	100	150	200	

<b>Wald- und Blütenhonig</b>	Säurezusatz zum Wald- und Blütenhonig [mg/kg]					
Ameisensäure	0	150	300	450	600	
Milchsäure	0	300	500	1000	1500	2000
Oxalsäure	0	450	600	750	900	1050

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

#### 3.1.1 Reihenuntersuchungen unter Laborbedingungen

##### **Rückstandsuntersuchungen von gelagertem Honig nach Säurezusatz**

Ziel dieser Untersuchung war es, die Entwicklung von Rückständen verschiedener organischer Säuren (Ameisen-, Milch- und Oxalsäure) im Honig bei unterschiedlichen Lagerbedingungen (Zimmertemperatur bzw. Kühlager) über mehrere Monate zu verfolgen. Vier verschiedene Honige (Raps-, Heide-, Wald- sowie Wald- und Blüten-honig) wurden mit definierten Mengen organischer Säuren versetzt. Die zugesetzten Mengen wurden dabei so gewählt, dass sie potenziellen Rückständen nach wiederholter Varroa-Behandlung in der imkerlichen Praxis entsprachen (siehe Abbildung 2 und 3 alle weiteren Ergebnisse im Anhang II). Diese Rückstandswerte übertrafen somit die sortentypischen natürlichen Gehalte dieser Honige (siehe Tabelle 3).

Die eingerührten Säuremengen (Ameisensäure 1000 mg/kg, Oxalsäure 200 mg/kg, Milchsäure 1500 mg/kg) ließen sich mit Hilfe enzymatischer Nachweisverfahren zum Großteil in den Proben wiederfinden. Die Wiederfindungsrate lag für Ameisensäure durchschnittlich bei 89%, für Oxalsäure durchschnittlich bei 100%. Lediglich Milchsäure zeigte mit 79% eine geringere Wiederfindungsrate.

Die Ergebnisse zeigen, dass überhöhte Gehalte organischer Säuren im Honig außerhalb des Bienenvolkes unter den für Honig üblichen Lagerbedingungen über die Zeit nicht wesentlich reduziert werden. Wird demnach ein mit Rückständen belasteter Honig dem Bienenvolk entnommen, kann auch nach längeren Wartezeiten davon ausgegangen werden, dass diese Rückstände nachweisbar sind und damit zu jeder Zeit zu einer Beanstandung des Honigs führen können. In der Tendenz kam es bei der mehrwöchigen Lagerung zwar zu einer leichten, geringfügigen Abnahme der experimentell erhöhten Säuregehalte. Doch selbst nach 41- bis 46-wöchiger Lagerung befanden sich die Werte weiterhin auf einem sehr hohen Niveau und unterschieden sich deutlich von den natürlichen Ausgangswerten. Diese anhaltend hohen Werte fanden sich bei allen drei zugesetzten organischen Säuren, unabhängig von der Honigsorte und den unterschiedlichen Lagertemperaturen der Proben. Bei Milchsäure ließ sich sogar im Verlauf der Untersuchungsperiode ein leichter Anstieg der Gehalte im Honig nachweisen (Abb. 6 und 7). Letzteres ist vermutlich auf chemische Umwandlungsprozesse im Honig zurückzuführen.

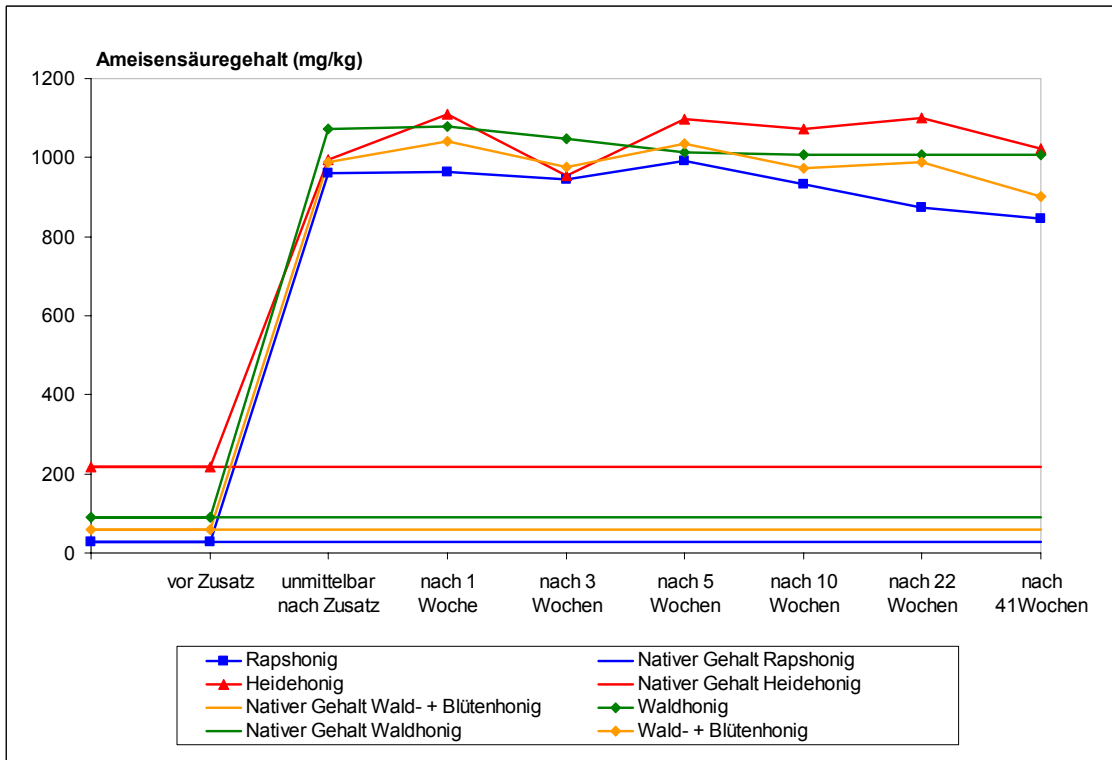


Abbildung 2: Verlauf der Ameisensäuregehalte im Honig nach Zusatz von Ameisensäure bei ständiger Kühlung [13-17 °C].

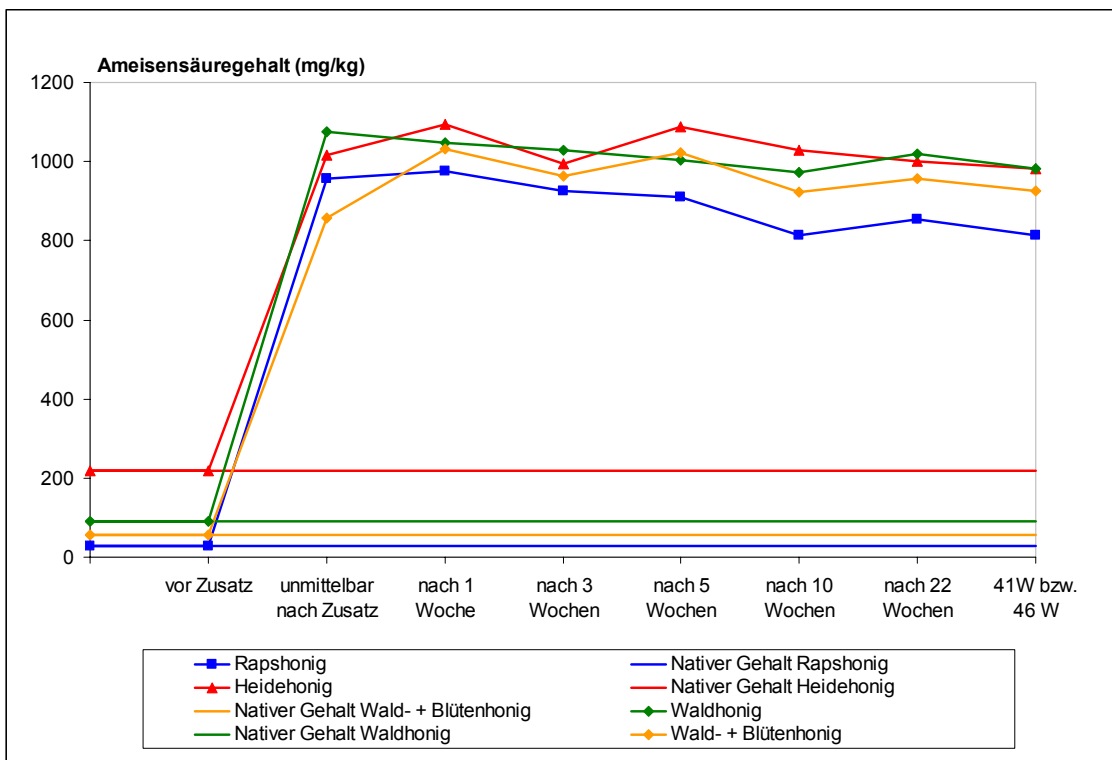


Abbildung 3: Verlauf der Ameisensäuregehalte im Honig nach Zusatz von Ameisensäure bei ständiger Lagerung unter Raumtemperatur [20-25 °C].

Tabelle 3: Natürliche Gehalte organischer Säuren der untersuchten Honige.

[mg/kg]	Ameisensäure	Oxalsäure	Milchsäure
Rapshonig	29,3	14,5	33,3
Heidehonig	216,9	61,1	32,1
Wald- + Blütenhonig	57,6	74,7	97,3
Waldbonig	89,2	94,2	133,3

### 3.1.2 „Worst case“-Studien

#### Serielle Probenziehungen nach Milchsäure-Applikation

In diesem „Worst case“-Versuch mit einer Milchsäure Sprühbehandlung im zeitigen Frühjahr sollte der Frage nachgegangen werden, wie stark sich die aus einer solchen Behandlung resultierenden Milchsäure-Rückstände in der Nachfolgetracht wiederfinden lassen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die nach der Behandlung entstandenen überhöhten Milchsäuregehalte im Honig über die Zeit bis hin zur Folgetracht nicht wesentlich reduziert wurden. In den Honigräumen waren 5 Wochen nach Ende der Behandlung deutlich geringere Rückstandswerte als in den Bruträumen der Völker nachzuweisen. Dennoch lagen auch hier die Werte deutlich über den Ausgangswerten.

Der natürliche Gehalt an Milchsäure lag vor der Milchsäureapplikation in den zu behandelten Völkern bei durchschnittlich 83,1 mg/kg Honig ( $\pm 13,4$ ;  $n=6$ ). Bei den untersuchten Bienenvölkern wurde im Abstand von 3 Wochen zweimalig Milchsäure im Sprühverfahren angewandt. Die sich anschließende enzymatische Laboruntersuchung der Futterproben zeigte, dass die erste Behandlung nur eine geringfügige Erhöhung der Milchsäuregehalte bewirkt hatte. Hingegen stiegen die Werte nach der zweiten Behandlung bei allen Völkern deutlich an (siehe Abbildung 8). Fünf Wochen nach der zweiten Behandlung wurden Rückstandswerte im Honig aus dem Brutraum in Höhe von durchschnittlich 395,6 mg MS / kg Honig  $\pm 88,0$  gemessen ( $n=6$ ; 284,8 – 513,2 mg MS / kg Honig). Im Honigraum lagen die Werte hingegen bei 56,7 mg MS / kg Honig  $\pm 44,5$  ( $n=6$ ; 81,2 – 216,7 mg MS / kg Honig). Die zwischenzeitige graduelle Verringerung der Säurekonzentration bereits eine Woche nach Beginn der ersten Behandlung könnte eventuell versuchsbedingt durch Verdünnungseffekte nach geringfügiger Nachfütterung der Versuchsvölker erklärt werden.

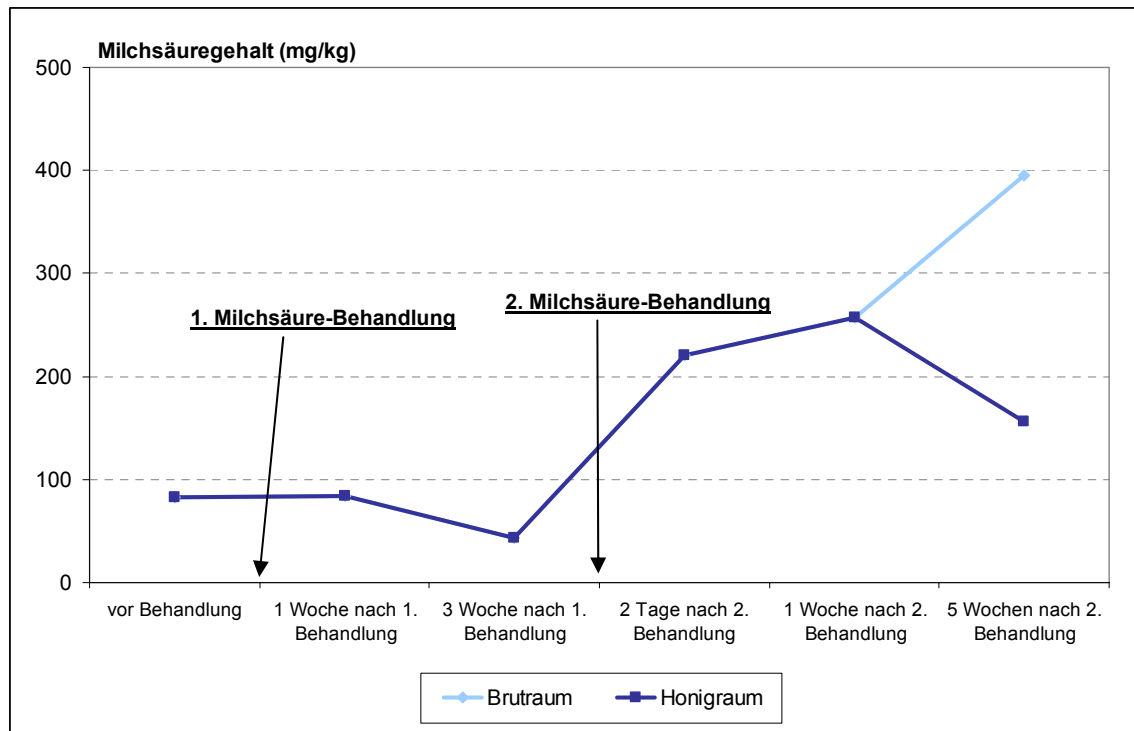


Abbildung 8: Milchsäuregehalte im Winterfutter vor und nach Milchsäure-Applikation im Bienenvolk.

### Serielle Probenziehungen nach Ameisensäure-Applikation als Zwischentrachtbehandlung

In diesem „Worst case“-Versuch mit Ameisensäure-Behandlungen im Sommer sollte der Frage nachgegangen werden, wie stark sich die aus einer solchen Zwischentrachtbehandlung resultierenden Ameisensäure-Rückstände in der Nachfolgetracht wiederfinden lassen. Dabei wurde postuliert, dass die Gesamtrückstandsmenge im Bienenvolk abhängig ist von der zum Zeitpunkt der Behandlung vorhandenen Futterreserven und deren spätere Verkonsumierung durch das Bienenvolk. Ebenso könnten anschließende Massentrachten zur Verdünnung und reduzierenden Effekten beitragen.

Den Untersuchungsergebnissen zufolge scheint dieses theoretische Konzept immer dann aufzugehen, wenn die Völker tatsächlich anschließend in einer Massentracht ausreichend Nektar sammeln können. Dies traf in den eigenen Untersuchungen bei der Lindentracht zu, als diejenige auf die Behandlung folgende Massentracht (Abb. 9). Tatsächlich wiesen die Völker mit wenig Futter nach der Behandlung zunächst niedrigere Ameisensäure-Rückstandswerte auf (MW 279,3 mg/kg  $\pm$  60,5; n=6), als die Völker mit viel Futter (MW 381,6 mg/kg  $\pm$  146,2; n=6). Auch zum Erntetermin fanden sich in der Völkergruppe „wenig Futter“ noch niedrigere Ameisensäuregehalte



(MW 350,2 mg/kg  $\pm$  48,5; n=6), als in der Gruppe „viel Futter“ (MW 379,9 mg/kg  $\pm$  48,7; n=6). Die Unterschiede waren hier allerdings bedeutend geringer.

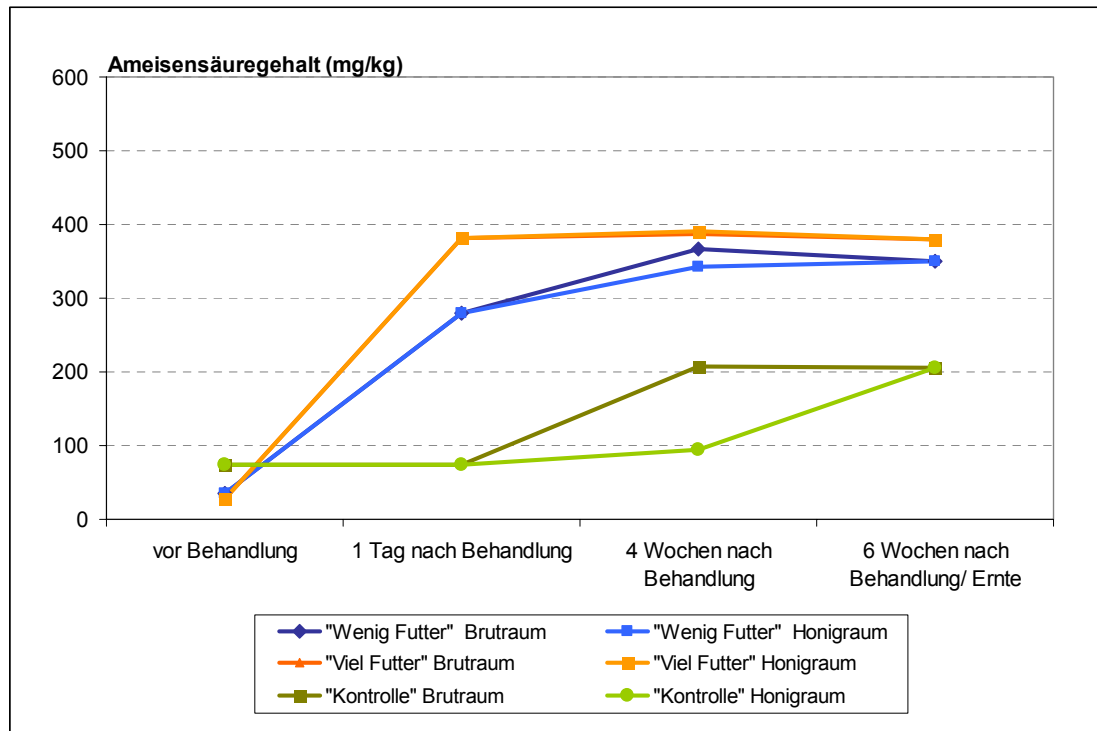


Abbildung 9: Entwicklung der Ameisensäuregehalte im Honig nach Ameisensäure-Applikation im Bienenvolk und anschließender Wanderung in eine Linden-Tracht

Insgesamt zeigte sich jedoch, dass zu diesem späten Zeitpunkt die Gehalte im Honig aller behandelten Völker immer noch deutlich über den natürlichen Gehalten der Kontrollgruppe lagen (MW 205,1 mg/kg  $\pm$  30,4; n=6).

Demnach ist ein Gesamteffekt für eine sichere Rückstandsreduzierung nicht abzuleiten. Das Risiko einer Rückstandsbelastung aus der Zwischentrachtbehandlung wäre damit für die später zu schleudernde Folgetracht zu groß.

Aufgrund ungünstiger klimatischer Verhältnisse (lang anhaltende Hitzeperiode ohne Niederschläge) war die Nektarbildung bei dem Sommerraps-Versuch im Versuchsjahr 2003 unzureichend, so dass man hier nicht von einer Massentracht sprechen konnte. Die Honigbienen konnten nicht die normalerweise zu erwartenden großen Mengen an Nektar eintragen. Der Nektarfluss war in diesem Versuch so gering, dass der Versuch vorzeitig abgebrochen werden musste. Bei diesem unzureichenden Trachtangebot zeigten sich bezüglich der Ameisensäuregehalte das umgekehrte Bild wie im obigen Versuch geschildert (Abb. 10). Bei denjenigen Völkern, die zum Zeitpunkt der Varroa-Behandlung nur noch wenig Futterreserven besaßen, liessen sich bereits einen Tag nach der Entnahme der Ameisensäure-Schwammtücher deutlich höhere Ameisensäuregehalte im Honig (MW 479,2 mg/kg  $\pm$  152,3; n=6)

finden, als bei den Völkern mit viel Futter (MW 353,8 mg/kg  $\pm$  57,4; n=6). Im Honig in den Bruträumen wurde dieses Rückstandsniveau bis zu dem Probeentnahmeterrin vier Wochen nach Abschluss der Ameisensäure-Behandlung gehalten („wenig Futter“: MW 475,5 mg/kg  $\pm$  46,8; n=6; „viel Futter“: MW 358,4 mg/kg  $\pm$  121,6; n=6). Sofern zum Versuchsende Honig in den Honigräumen vorhanden war, liessen sich hier zum Teil sogar noch höhere Ameisensäuregehalte finden.

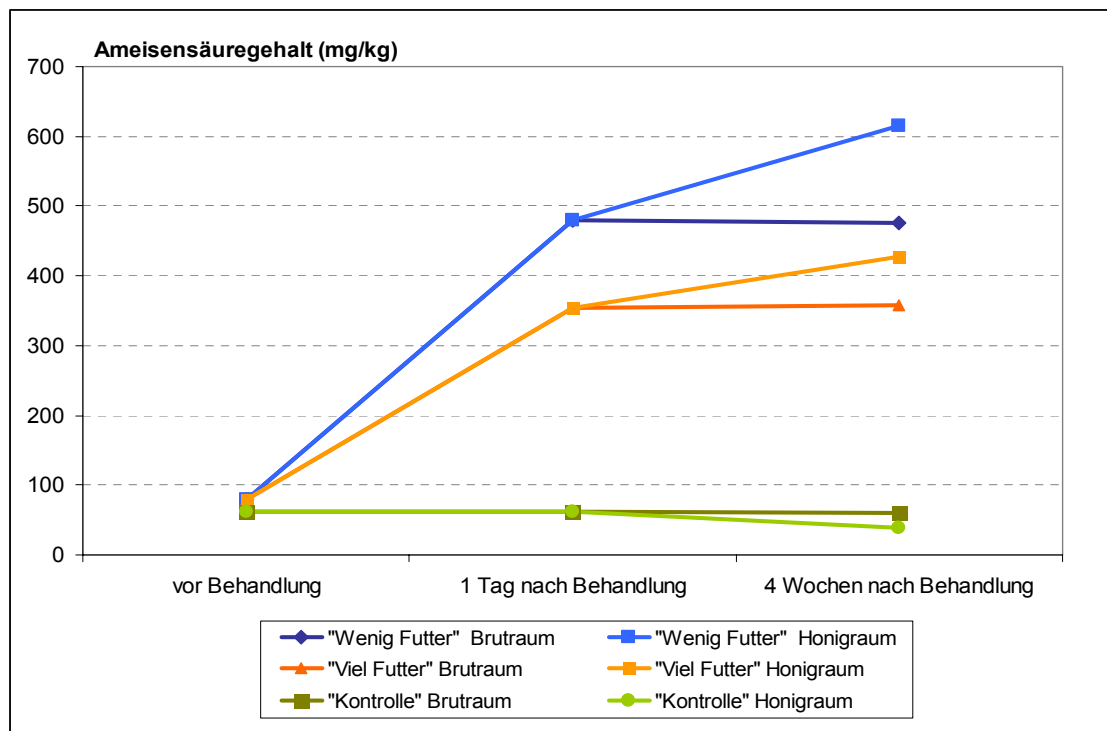


Abbildung 10: Entwicklung der Ameisensäuregehalte im Honig nach Ameisensäure-Applikation im Bienenvolk und anschließender Wanderung in eine Sommerraps-Tracht

Eine weitere Völkergruppe wurde nach der Anwendung der Ameisensäure in die Heide als Spättracht gewandert. Auch hier war im Untersuchungsjahr aufgrund der klimatischen Verhältnisse die Nektarbildung nur gering, so dass damit keine Massentracht gegeben war. Durch regelmäßige Fütterung der Versuchsvölker mit Heidehonig konnte jedoch eine Heidetracht-Situation simuliert werden.

In der Völkergruppe „viel Futter“ erreichten die Ameisensäuregehalte im Honig unmittelbar nach der Behandlung Werte von durchschnittlich 358,5 mg/kg ( $\pm$  153,1; n=6), während in der Völkergruppe „wenig Futter“ geringere Rückstandswerte in Höhe von durchschnittlich 285,7 mg/kg ( $\pm$  98,0; n=6) zu finden waren. Bis zur Ernte hatte sich dieses Verhältnis umgedreht. Zu diesem Zeitpunkt lagen die Ameisensäuregehalte bei der Völkergruppe mit „viel Futter“ mit durchschnittlich 278,4 mg/kg ( $\pm$  46,0; n=6) deutlich unter den Gehalten der Völkergruppe mit „wenig Futter“: Letztere wies einen durchschnittlich Ameisensäuregehalt von 397,0 mg/kg

Honig ( $\pm 72,6$ ;  $n=6$ ) auf. Insgesamt zeigte sich jedoch, dass zu diesem späten Zeitpunkt die Gehalte im Honig aller behandelten Völker immer noch deutlich über den natürlichen Gehalten der Kontrollgruppe lagen.

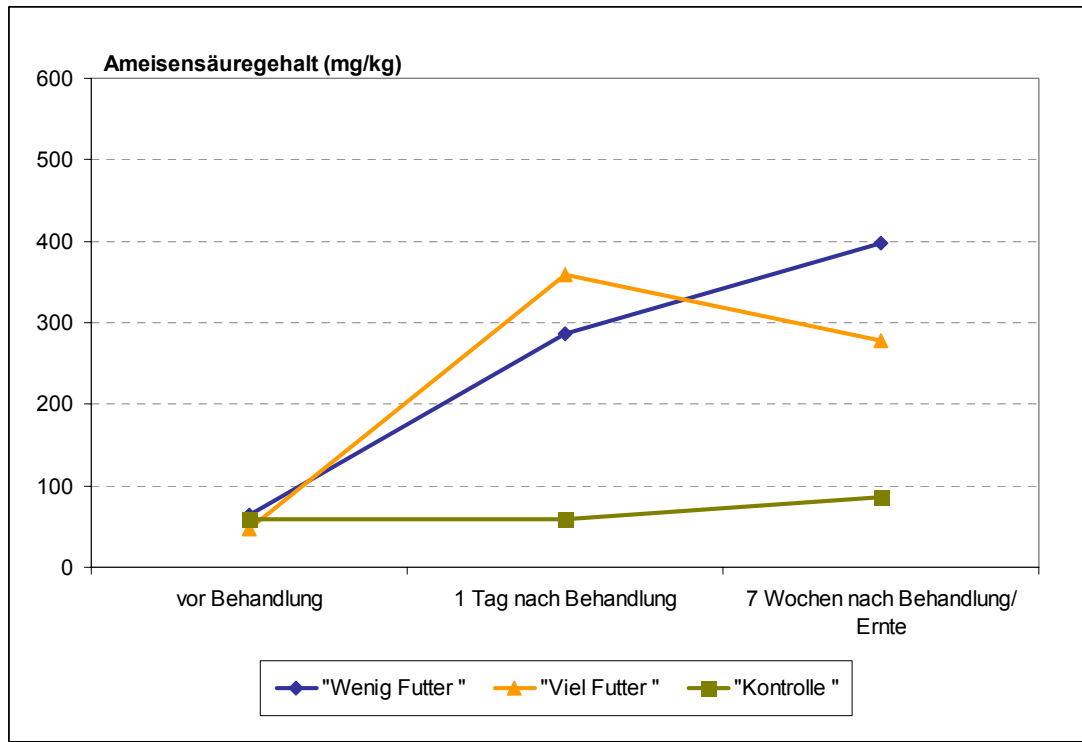


Abbildung 11: Entwicklung der Ameisensäuregehalte im Honig nach Ameisensäure-Applikation im Bienenvolk und anschließender Wanderung in eine Heide-Tracht

Zusammenfassend lässt sich aus den vorgestellten Untersuchungen schließen, dass eine kalkulierbare Sicherheit für eine Rückstandsreduzierung nicht für Zwischentracht-Behandlungen abzuleiten ist, wenn die Völker anschließend in eine Massentracht eingestellt werden. Damit wäre das Risiko einer Rückstandsbelastung aus der Zwischentrachtbehandlung für die später zu schleudernde Folgetracht zu groß.

### Serielle Probenziehungen nach Oxalsäure- und Milchsäure-Applikation

Die Auswirkungen einer zweimaligen Sommerbehandlung Anfang Juli mit Oxal-, bzw. Milchsäure auf die Gehalte an Oxal- und Milchsäure im Honig der Folgetracht (Heide) wurde an Jungvölkern untersucht. Insbesondere sollte geprüft werden, ob mögliche Verdünnungseffekte durch die regelmäßig verabreichten Aufbaufütterungen der Jungvölker oder die begrenzten Futterreserven zum Zeitpunkt der Behandlung Einfluss auf die Rückstandsbildung haben.

Die Versuchsergebnisse zeigen, dass ein Imker Varroa-behandelte Jungvölker nicht im gleichen Jahr zur Spättracht-Nutzung einsetzen kann. Das Risiko einer Rückstandsbelastung aus der Behandlung wäre für die später zu schleudernde Folgetracht (Spättracht) zu groß.

Erwartungsgemäß waren unmittelbar nach der Oxalsäurebehandlung erhöhte Säuregehalte in den Versuchsvölkern zu finden waren (Abb. 12). Diese lagen mit durchschnittlich 37,6 mg OS / kg  $\pm 14,3$  (17,6 – 61,3 mg OS / kg Honig; n=12) deutlich über den Werten der Kontrollvölker zum selben Zeitpunkt (MW 11,8 mg OS / kg  $\pm 3,3$ ; n=6). Anders gestaltete sich die Situation drei Wochen nach Ende der Säurebehandlungen zum Zeitpunkt der Wanderung in die Heidetracht. Der durchschnittlichen Oxalsäuregehalte hatte sich bis dahin mit durchschnittlich 22,8 mg OS / kg Honig ( $\pm 6,6$ ; n=12) den Gehalten der Kontrollgruppe (MW 12,3 mg OS / kg Honig  $\pm 1,9$ ; n=6) angenähert. Möglicherweise resultiert diese Verringerung der Rückstandswerte aus der regelmäßigen Aufbaufütterung der Jungvölker mit Futtersirup.

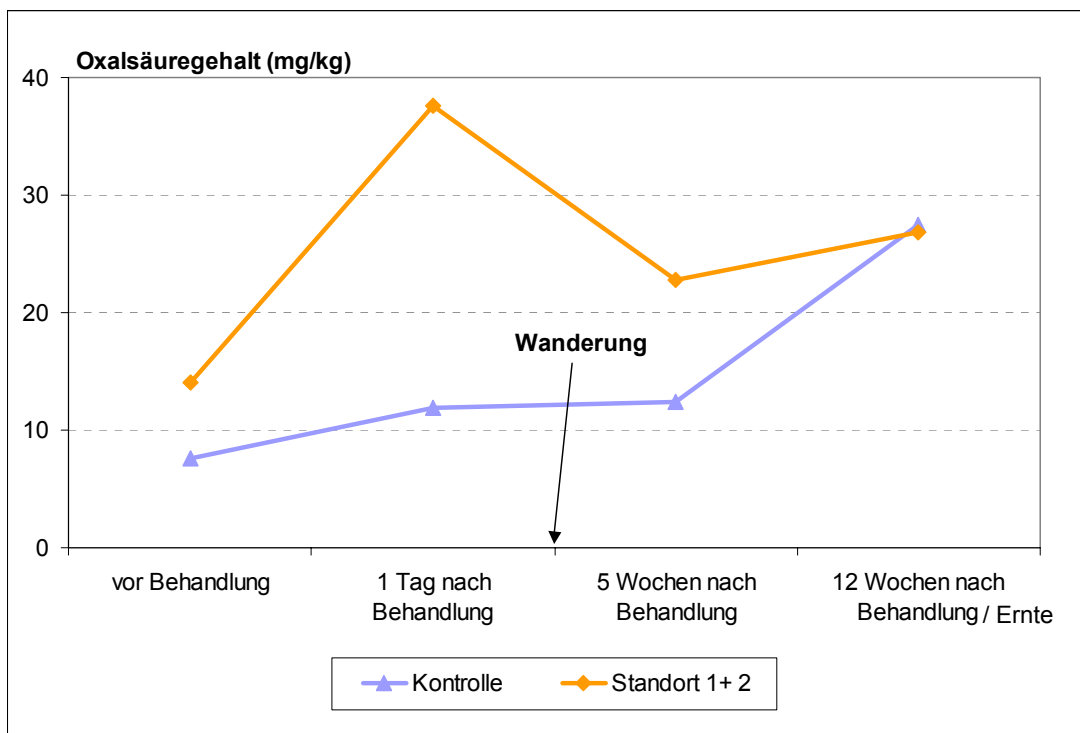


Abbildung 12: Entwicklung der Oxalsäuregehalte im Honig nach Oxalsäure-Applikation im Bienenvolk und anschließender Wanderung in eine Heide-Tracht

In der Heidetracht selber stiegen die Oxalsäuregehalte dann wiederum etwas an (behandelte Völker: MW 26,9 mg OS / kg Honig  $\pm 9,0$ ; n=12). Dies galt auch für die Kontrollvölkergruppe (MW 27,4 mg OS / kg Honig  $\pm 15,1$ ; n=6). Dieser Anstieg lässt sich durch den Eintrag des Heidehonigs erklären, dessen nativen Oxalsäuregehalte

üblicherweise höher sind als bei anderen Sortenhonigen. Typische natürliche Oxalsäurewerte liegen bei Heidehonig um die 60 mg OS / kg Honig.

Auch wenn in diesem Fall die Oxalsäuregehalte im Honig der Spättracht offensichtlich unbeeinflusst von der Sommerbehandlung der neu gebildeten Jungvölker sind, lässt sich ohne die Festlegung von Grenzwerten bzw. action limits keine allgemeingültige Empfehlung für die imkerliche Praxis ableiten.

Etwas anders stellt sich das Bild bei den mit Milchsäure behandelten Völkern dar (Abb. 13). Bereits unmittelbar nach dem Ende der Behandlung lässt sich ein Milchsäuregehalt von durchschnittlich 978,2 mg MS / kg Honig ( $\pm 301,2$ ;  $n=12$ ) nachweisen. Dieser unterscheidet sich deutlich von den nativen Gehalten der Honigproben, die einen Tag vor Behandlungsbeginn ermittelt wurden (durchschnittlich 100,6 mg MS / kg Honig  $\pm 21,1$ ;  $n=12$ ).

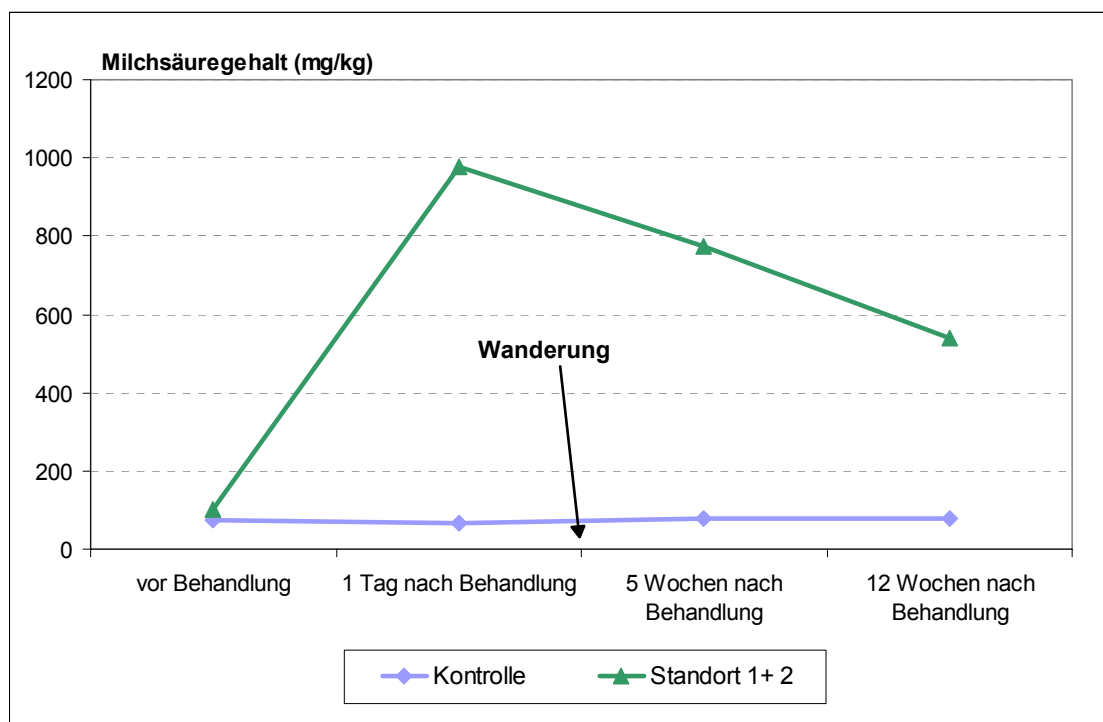


Abbildung 13: Entwicklung der Milchsäuregehalte im Honig nach Milchsäure-Applikation im Bienenvolk und anschließender Wanderung in eine Heide-Tracht

Zum Erntetermin hin, zwölf Wochen nach dem Ende der Behandlung, kam es zu einer deutlichen Reduktion der Milchsäuregehalte im Honig. Dennoch lagen die Werte mit 539,9 mg MS / kg Honig ( $\pm 99,1$ ;  $n=12$ ) deutlich über den genannten Ausgangswerten bzw. den Milchsäuregehalten im Honig der Kontrollvölker. Die ermittelten Milchsäuregehalte im Honig der Kontrollvölker blieben über den gesamten

Untersuchungszeitraum nahezu konstant (vor der Behandlung: MW 72,9 mg MS / kg Honig  $\pm$ 18,6; n=6; 12 Wochen nach der Behandlung: MW 78,9 mg MS / kg Honig  $\pm$ 25,9; n=6).

### 3.1.3 Sensorische Tests

Mit Hilfe sensorischer Tests sollten die geschmacklichen Erkennungsschwellen von Ameisen-, Milch- und Oxalsäure im Honig untersucht werden. Als Erkennungsschwelle wird die niedrigste Konzentration einer Säure im Honig bezeichnet, die geschmacklich erkannt wird. Dazu sind zwei Testreihen durchgeführt worden. Die erste Testreihe diente einer groben Annäherung an die Erkennungsschwellen in Rapshonig. In einer zweiten Testreihe erfolgte eine stärkere Eingrenzung der geschmacklich wirksamen Gehalte durch feiner abgestufte Säurebeimischungen in die Geschmacksproben, sowie eine Ausdehnung der Versuche auf einen Wald-/Blütenhonig.

Die in diesen Untersuchungen ermittelten geschmacklichen Erkennungsschwellen liegen in etwa in der Größenordnung, in der auch potenziell Rückstände organischer Säuren nach einer Varroa-Behandlung im Honig zu finden sind (Abb. 14 u. 15). Die statistisch abgesicherten Erkennungsschwellen sind in Tabelle 4 zusammengefasst (Rohdaten-bezug siehe Anhang VI). Aus diesen Untersuchungen kann abgeleitet werden, dass immer dann, wenn Rückstände aus Varroa-Behandlungen im Honig vorhanden sind, die Wahrscheinlichkeit einer geschmacklichen Auswirkung gegeben ist.

Tabelle 4: Geschmackliche Erkennungsschwellen organischer Säuren in Honig (Angaben in mg/kg Honig) [KRAMER 1974]

	1. Sensoriktest	2. Sensoriktest
<b>Milchsäure</b>	Rapshonig 500-1000 mg/kg	Rapshonig 300 - 700 mg/kg Waldhonig 300 mg/kg
<b>Oxalsäure</b>	Rapshonig 150 mg/kg	Rapshonig 50 - 200 mg/kg Waldhonig 450 mg/kg
<b>Ameisensäure</b>	Rapshonig 150 mg/kg	Waldhonig 150 mg/kg

Interpretation der Ergebnisse der Sensoriktests (Rohdatenbezug siehe Anhang VI):

Der Sensoriktest zur Milchsäure ergab bei Rapshonig, dass nach der Beurteilung durch die Testpersonen sich die Bezugsprobe signifikant von den übrigen Proben unterschied, denen Milchsäure zugesetzt war. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Proben mit jeweils 300, 400, 500 oder 700 mg Säurezusatz je kg Honig war jedoch geschmacklich durch die Testpersonen nicht zu differenzieren. Ab einem Milchsäurewert von 700 mg Milchsäure je kg Honig wurde dieser Zusatz eindeutig sicher geschmacklich erkannt. Es ist demnach davon auszugehen, dass die Erkennungsschwelle zwischen 300 und 700 mg/kg liegt.

Bei Waldhonig hingegen konnten die Testpersonen bereits bei 300 mg/kg im Honig eine geschmackliche Veränderung gegenüber der unversetzten Bezugsprobe sicher feststellen.

Ähnlich Verhältnisse zeigten sich bei der Oxalsäure: Die Bezugsprobe ohne Oxalsäurezusatz konnte beim Rapshonig signifikant von den anderen Proben unterschieden werden. Nicht signifikant waren allerdings die Unterschiede in der geschmacklicher Differenzierung zwischen den Proben, die mit 50, 100, 150 bzw. 200 mg Oxalsäure/ kg Honig versetzt waren. Ab einem Oxalsäurewert von 200 mg Oxalsäure je kg Honig wurde dieser Zusatz eindeutig sicher geschmacklich erkannt. Demnach ist die geschmackliche Erkennungsschwelle zwischen 50 und 200 mg Oxalsäure /kg Honig zu suchen.

In Waldhonig stellten die Probanden eine geschmackliche Veränderung gegenüber der Bezugsprobe bei 450 mg Oxalsäure/ kg Honig fest. Möglicherweise liegt die geschmackliche Erkennungsschwelle ähnlich wie bei Rapshonig noch niedriger. Aufgrund der Notwendigkeit der mengenmäßigen Eingrenzung des Probenumfangs waren jedoch in unsere Untersuchungen hier keine niedrigeren Dosierungen einbezogen.

Bei Ameisensäure zeigte sich, dass sowohl bei Raps- als auch bei Waldhonig die Probe mit dem geringsten Zusatz (150 mg/kg) als geschmacklich abweichend herausgefunden wurde und damit einen signifikanten Unterschied zu allen anderen Proben aufwies. Die geschmackliche Erkennungsschwelle von Ameisensäure liegt somit bei beiden Honigen bei einem Gehalt von 150 mg/ kg im Honig.

Im Vergleich zu den bislang nur aus der Schweiz veröffentlichten Daten zu diesem Thema konnten wir deutlich niedrigere Geschmacksschwellen für alle drei untersuchten Säuren feststellen (vgl Tabelle 5). Dieser Unterschied in den Untersuchungsergebnissen kann eventuell in unterschiedlichen Testverfahren begründet sein.

Tabelle 5: Untersuchungsergebnisse des Schweizerischen Zentrums für Bienenkunde in Liebefeld (1998): Geschmackliche Erkennungsschwellen organischer Säuren in Honig (Angaben in mg/kg Honig)

<b>Milchsäure</b>	Rapshonig	800 - 1600 mg/kg
<b>Oxalsäure</b>	Akazienhonig	300 - 400 mg/kg
	Waldhonig	700 - 900 mg/kg
	Gesamt	400 - 900 mg/kg
<b>Ameisensäure</b>	Akazienhonig	150 - 300 mg/kg
	Waldhonig	300 - 600 mg/kg
	Gesamt	300 - 600 mg/kg

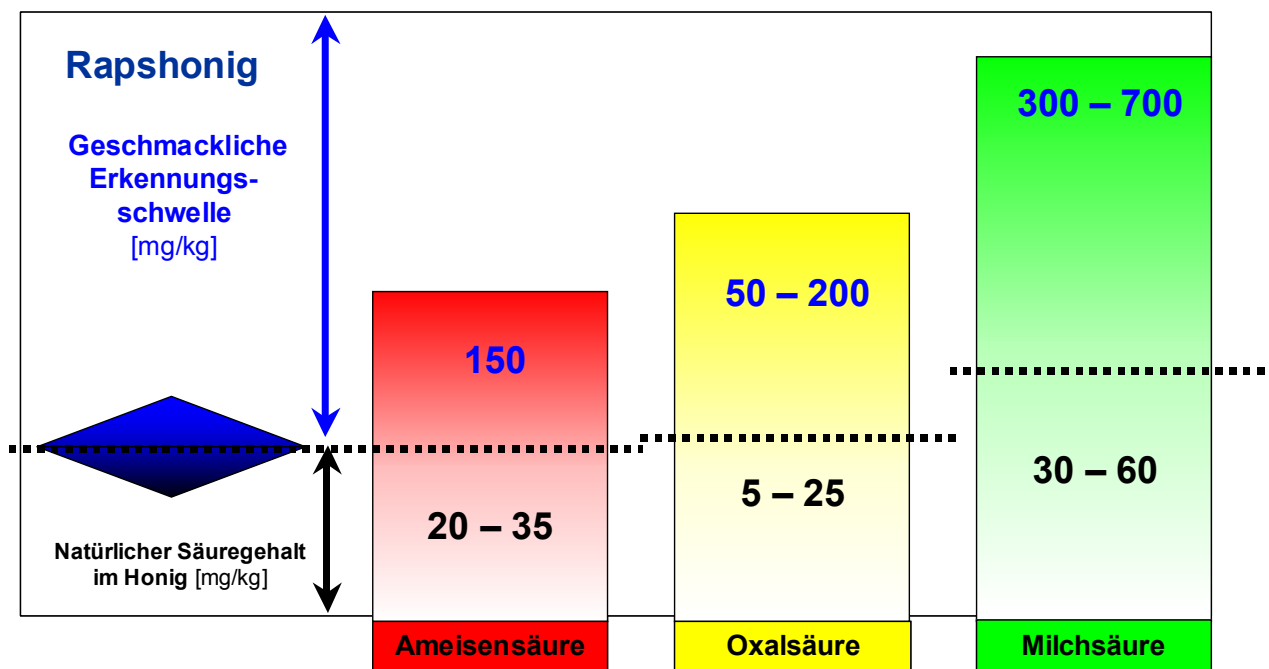


Abb. 14: Geschmackliche Erkennungsschwellen organischer Säuren in Rapshonig (Angaben in mg/kg Honig)



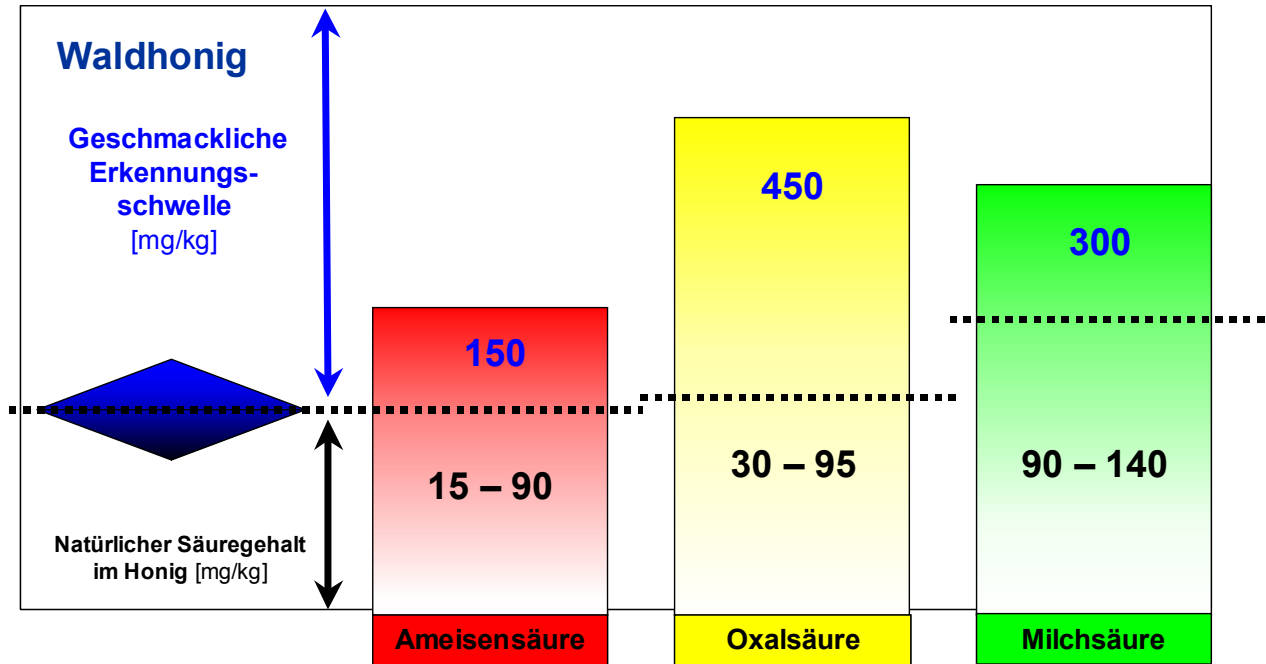


Abb. 15: Geschmackliche Erkennungsschwellen organischer Säuren in Waldhonig (Angaben in mg/kg Honig)

### 3.2. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Das avancierte Rückstands-Kontrollsystem für organische Säuren im Honig soll später von den einschlägigen Öko-Verbänden in der Praxis umgesetzt werden. Dies wird zwei Ebenen umfassen; zum einen soll über die Öko-Kontrollstellen das System bei der Produktkontrolle eingesetzt werden. Damit wird das bestehende Kontrollsystem der Öko-Verbände ergänzt, das lediglich Rückstandsuntersuchungen für Varroazide umfasst, die regulär in konventionellen Imkereien eingesetzt werden. Mit dem erweiterten Rückstands-Kontrollsystem kann zukünftig den besonderen Qualitätsansprüchen der Konsumenten an das Naturprodukt Honig vertrauenswürdig und transparent und im Sinne des vorbeugenden Verbraucherschutzes entsprochen werden. Zum anderen ist ein solches Kontrollsystem für die Öko-Imkereien selber für Zwecke der Prozess-Optimierung und Selbstkontrolle hilfreich. Letzteres bedarf einer intensiven Unterstützung durch die imkerliche Beratung in Trägerschaft der Öko-Verbände. Hier bietet sich bei der Umsetzung ergänzend auch der Bienenzuchtberatungsdienst des Bieneninstitutes Celles an. Damit wäre eine erfolgreiche Verwertung und Umsetzung der Projektergebnisse in der Praxis möglich.

Das für deutsche Öko-Imkereien zu etablierende Rückstands-Kontrollsystem ist auch in europäischen Nachbarländer nutzbar. Neben den jeweiligen nationalen Gesetzgebungen und den Richtlinien der Öko-Verbände gebietet auch die Europäische Gesetzgebung eine Vermeidung von Rückständen in den Bienenprodukten [EU-Verordnung Nr.2377/90 und 434/9 zu Rückstandshöchst-mengen aus Medikamenteneinsatz und EU-Verordnung Nr. 1804/99 zur tierischen Erzeugung im Ökologischen Landbau].

Rückstands-Kontrollsystem müssen durch fachliche Begleitung regelmäßig potenziell neuen Anforderungen angepasst werden. Dies kann zukünftig, aufbauend auf das entwickelte System, auch durch andere Institutionen, wie beispielsweise Lebensmitteluntersuchungsämter, geleistet werden. Nach der neuerlichen Zulassung eines Thymol-Präparates „Apiguard“ als zusätzliches Varroazid ist zukünftig auch eine Regelung für Rückstände ätherischer Öle zu erarbeiten.

#### **Bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse**

Mit Beginn der Projektarbeit ist das Projekt und dessen Zielsetzung vielschichtig präsentiert und zur Diskussion gestellt worden. Zunächst erfolgte diese Präsentation bei den Vertretern der einschlägigen Öko-Verbände und bei den Mitgliedern der AG der Bienenwissenschaftlichen Institute e.V. auf deren Jahrestagung in Schmittens-Arnoldshain (Oberursel) im März 2003 (siehe Posterdarstellung Anlage III). Im Mai

2003 wurde das Projekt den Mitgliedern der „*European Working Group for Integrated Varroa Control*“ vorgestellt.

Darüber hinaus ist eine Präsentation der Ergebnisse im Rahmen einer Expertenrunde anlässlich eines Internationalen Symposiums im April 2004 geplant, wenn in Celle der Weltimkerkongress „Apimondia“ ein Spezialsymposium „*Prevention of Residues in Honey – Changes in Beekeeping Practice*“ abhalten wird.

Nach Festlegung der Höchstmengenwerte für Rückstände organischer Säuren im Honig müssen die Ergebnisse später der Zielgruppe der Imker und der Berater (wie Bienenzuchtberatern) zur Verfügung gestellt werden. Dazu sollen die Ergebnisse der Rückstandsversuche zielgruppenspezifisch aufgearbeitet werden und in den einschlägigen Bienenzeitungen und wissenschaftlichen Veröffentlichungsorganen publiziert werden und weiter ihre Verbreitung in Vorträgen finden. Ein Leitfaden zur Praxisanwendung für Öko-Imker ist ausgearbeitet worden.

Schließlich bedarf es noch einer Einspeisung der Projektergebnisse in das Internetportal des BÖL, wenn das Vorhaben entgültig abgeschlossen ist.

## 4. Zusammenfassung

Als Gesamtzielsetzung sollte ein fehlendes Rückstands-Kontrollsystem für organische Säuren im Honig entwickelt werden. Dieses Kontrollsystem soll diejenigen organischen Säuren berücksichtigen, die in der VO EG Nr. 1804/1999 für Öko-Imkereien als Varroazide ausgewiesen sind und potenziell zu Rückständen führen können. Mit diesem Instrument kann zukünftig den besonderen Qualitätsansprüchen der Konsumenten an das Naturprodukt Honig vertrauenswürdig und transparent im Sinne des vorbeugenden Verbraucherschutzes entsprochen werden. Darüber hinaus ist ein solches Kontrollsystem für die Öko-Imkereien selber für Zwecke der Prozess- und Produkt-Optimierung sowie zur Selbstkontrolle hilfreich. Rückstände organischer Säuren umfassen jede künstlich erhöhte Säurekonzentrationen im Honig. Ab bestimmten Schwellen werden diese geschmacklich wirksam. Diese Rückstände stellen keinerlei Gesundheitsrisiko für den Honigkonsumenten dar. Sie verstoßen aber gegen den Grundsatz der Honigverordnung, dass Bestandteile des Honigs nicht über ihre natürlichen Gehalte verändert sein dürfen.

Werden bei der Varroa-Bekämpfung die Vorgaben der Standardzulassung für Ameisen- bzw. Milchsäure eingehalten, wird die Rückstandsproblematik normalerweise nicht berührt. Gemäß der Standardzulassung ist eine Varroa-Behandlung mit organischen Säuren nur dann zulässig, wenn die Anwendung nach der letzten Honigernte des Jahres erfolgt bzw. bei Sommerbehandlung erst die Honigernte der Tracht des Folgejahres genutzt wird.

In der imkerlichen Praxis kann jedoch aufgrund massiven Varroabefalls eine Behandlung der Völker beispielsweise im zeitigen Frühjahr oder während Zwischentrachtzeiten notwendig sein. Daraus können Rückstandsbelastungen der Folgetracht resultieren. Die Imker befinden sich damit in einem Dilemma, dessen Aktualität sich in Honigproben widerspiegelt, die bei der amtlichen Honigüberwachung auffallen. Honige mit deutlich erhöhten Säuregehalten und deutlich saurem Geschmack zeigen anschaulich den Bedarf eines Kontrollsystem für organische Säuren im Honig sowie für Konzepte zur Rückstandsvermeidung in der imkerlichen Praxis.

Grundlage für die Erarbeitung eines solchen Rückstands-Kontrollsystems sollten neben bestehenden Datenbankenwerten des Bieneninstitutes Celle über natürliche Säuregehalte im Honig und Literaturdaten zur Rückstandsproblematik eigene Modelluntersuchungen sein. Mit Hilfe dieser eigenen Untersuchungen, die aus den Erfordernissen der Praxis abgeleitet wurden, konnten für Ameisensäure, Milchsäure

sowie für Oxalsäure fehlende Daten erschlossen werden. „Worst case“-Studien sollten potenzielle Gefahrenspektren aufgrund fehlerhafter Varroazid-Anwendungen eingrenzen helfen. Die Simulation solch falscher Varroa-Behandlungen sollte außerdem der Erarbeitung von extremen Rückstandswerte dienen, die für die spätere Festlegung von Höchstmengenwerten benötigt werden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

**Rückstände organischer Säuren im Honig bleiben bei Lagerung weitestgehend stabil.** Dotierte Proben vier verschiedener Sortenhonige wiesen über einen Zeitraum von über 40 Wochen die üblicherweise nach Behandlungen vorzufindenden weit überhöhten Rückstandswerte auf. Die Art der Lagerbedingungen (kalt/warm) war dabei unerheblich.

**Zwischentrachtbehandlungen hatten selbst nach anschließend einsetzender Massentracht einen negativen Effekt auf Rückstandsgehalte der später geernteten Honige.**

Die Versuche ergaben, dass eine kalkulierbare Sicherheit für eine Rückstandsreduzierung bei Zwischentracht-Behandlungen mit organischen Säuren und anschließender Anwanderung einer Massentracht nicht gegeben ist. Das Risiko einer Rückstandsbelastung aus einer solchen Zwischentrachtbehandlung für die später zu schleudernde Folgetracht ist zu groß.

Bei diesen Untersuchungen wurde postuliert, dass die Gesamtrückstandsmenge aus einer Varroa-Behandlung im Bienenvolk abhängig ist von der zum Zeitpunkt der Behandlung vorhandenen Futterreserven und deren spätere Verkonsumierung durch das Bienenvolk. Ebenso könnten anschließende Massentrachten zur Verdünnung und reduzierenden Effekten beitragen. Die Untersuchungsergebnisse zeigten jedoch, dass

- die geernteten Honige der Folgetracht 5 Wochen nach einer Frühjahrsbehandlungen mit Milchsäure Rückstandswerte aufwiesen, die deutlich über den natürlichen Gehalten lagen. Ein theoretisch zu erwartender Verdünnungseffekt durch die anschließende Massentracht blieb aus,
- auch Zwischentrachtbehandlungen mit Ameisensäure im Sommer die selben Effekte auf die Nachfolgetrachten zeigten,
- Varroa-behandelte Jungvölker im gleichen Jahr nicht zur Spättracht-Nutzung eingesetzt werden können, da das Risiko einer Rückstandsbelastung aus der Behandlung für die später zu schleudernde Folgetracht (Spättracht) zu groß ist.

**Die Erarbeitung sensorischer Erkennungsschwellen organischer Säuren im Honig haben gezeigt, dass immer dann, wenn Rückstände aus Varroa-**

**Behandlungen im Honig vorhanden sind, die Wahrscheinlichkeit einer geschmacklichen Auswirkung gegeben ist.** Die in diesen Untersuchungen ermittelten geschmacklichen Erkennungsschwellen liegen in etwa in der Größenordnung, in der auch potenziell Rückstände organischer Säuren nach einer Varroa-Behandlung im Honig zu finden sind. Dabei hatte Ameisensäure den größten Einfluss auf den Geschmack, Milchsäure den geringsten.

Zum heutigen Berichtsstand (März 2004) ist die Mehrzahl der in der Ablaufplanung vorgesehenen Meilensteine erreicht worden. Die Festlegung von Höchstmengenwerten bzw. *action limits* als Grundbestandteile des Rückstandskontrollsystems für organische Säuren im Honig soll in einer Expertenrunde getroffen werden. Dazu bietet sich ein Internationales Symposium am 27.-28. April 2004 an, wenn in Celle der Weltimkerkongress „Apimondia“ ein Spezialsymposium „*Prevention of Residues in Honey – Changes in Beekeeping Practice*“ abhalten wird.

## 5. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Zum heutigen Berichtsstand (März 2004) ist die Mehrzahl der in der Ablaufplanung vorgesehenen Projektziele erreicht worden. Die Festlegung von Höchstmengenwerten bzw. *action limits* als ein Grundbestandteil des Rückstands-Kontrollsystems soll in einer Expertenrunde getroffen werden. Dazu bietet sich ein Internationales Symposium im April 2004 in Celle an, wenn der Weltimkerkongress „Apimondia“ in Zusammenarbeit mit dem Bieneninstitut Celle ein Spezialsymposium „Prevention of Residues in Honey – Changes in Beekeeping Practice“ abhalten wird.

geplante Projektziele	erreichte Ziele
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Abgleichung der Gesamtzielsetzung des Projektes mit den einschlägigen Öko-Verbänden zu Beginn des Projektes.</b> Die wichtigsten deutschen Öko-Verbände sollten zu Projektbeginn einbezogen werden. Nur wenige Vertreter sind unserer Einladung gefolgt.</li> </ul>	√
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Rückstandswerte organischer Säuren sollten in Modellversuchen nach Zwischentrachtbehandlungen und in Reihenuntersuchungen ermittelt werden.</b> Auf der Basis der Standardzulassung für Ameisensäure bzw. Milchsäure wurden fehlende Daten erschlossen, die als Grundlage für die Festlegung von Höchstmengen notwendig sind. Im Vorgriff auf eine mögliche Standardzulassung von Oxalsäure ist diese Säure ebenfalls in alle Untersuchungen einbezogen worden.</li> </ul>	√
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>„Worst case“-Studien sollten potenzielle Gefahrenspektren und Extremwerte fehlerhafter Varroazid-Anwendungen eingrenzen helfen.</b> Diese werden für die spätere Festlegung von Höchstmengenwerten benötigt.</li> </ul>	√
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Höchstmengenwerte organischer Säuren im Honig sollten erarbeitet bzw. eventuell als <i>action limits</i> festgelegt werden.</b></li> </ul>	Expertenrunde im April 2004
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Ein Rückstands-Kontrollsystem für organische Säuren im Honig sollte erarbeitet werden.</b></li> </ul>	Expertenrunde im April 2004
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Der Wissenstransfer der Ergebnisse in die Praxis sollte neben der Ergebnisdarstellung des Projekts und späteren Einspeisung in das Internetportal durch die Erarbeitung von Leitfäden für die imkerliche Praxis erfolgen.</b> Nach endgültigem Abschluss der vorgenannten Punkte kann auch die Erstellung eines Leitfadens für die imkerliche Praxis abgeschlossen werden.</li> </ul>	teilweise

## 6. Literaturverzeichnis

- Boecking O., von der Ohe W. (2001)  
Varroa-Bekämpfungskonzept für Niedersachsen  
Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde, Celle, Info 15.
- Bogdanov S., Kilchenmann V., Fluri P., Bühler U., Lavanchy P. (1998)  
Einfluss von organischen Säuren und Komponenten ätherischer Öle auf den  
Honiggeschmack,  
Schweiz. Bienen-Zeitung 121(9), 581-585.
- Bogdanov S., Charrière J.-D., Imdorf A., Kilchenmann V., Fluri P. (2002)  
Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid  
under field conditions,  
Apidologie 33, 399-409.
- Bogdanov S., Imdorf A., Charrière J.-D., Fluri P., Kilchenmann V. (2002)  
Rückstandsgefahren für Bienenprodukte,  
ADIZ 12, 8-10.
- Brodsgaard C.J., Jensen S.E., Hansen C.W., Hansen H. (1999)  
Spring treatment with oxalic acid in honeybee colonies as varroa control,  
Horticulture.
- Capolongo F., Baggio A., Piro R., Schivo A., Mutinelli F., Sabatini A.G., Colombo R.,  
Marcazzan G.L., Massi S., Nanetti A. (1996)  
Trattamento della varroasi con acido formico: accumulo nel miele e influenza  
sulle sue caratteristiche,  
L'Ape nostra Amica 18, 4-11.
- Del Nozal M.J., Bernal J.L., Marinero P., Diego J.C., Frechilla J.I., Higes M., Llorente  
J. (1998)  
High performance liquid chromatographic determination of organic acids in  
honeys from different botanical origin,  
J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 21, 3197-3214.
- Del Nozal M.J., Bernal J.L., Diego J.C., Gomez L.A., Ruiz J.M., Higes M. (2000)  
Determination of oxalate, sulfate and nitrate in honey and honeydew by ion-  
chromatography,  
J. Chromatogr. A 881, 629-638.
- EU (1999)  
Council Regulation No. 1804 on organic farming, Chapter Beekeeping and  
Beekeeping Products,  
Official Journal of the European Communities of 19 July 1999, L 222, C.  
Bruxelles, Belgium.  
Available at: [http://europa.eu.int/eurlexx/pri/en/oj/dat/1999/1\\_222/1\\_222199908824en00010028.pdf](http://europa.eu.int/eurlexx/pri/en/oj/dat/1999/1_222/1_222199908824en00010028.pdf).
- Imdorf A., Kilchenmann V. (1990)



Milchsäure – ein Varroabekämpfungsmittel für den Kleinimker,  
Schweizerische Bienenzeitung 113 (8), 441-443.

Kary I. (1987)

Untersuchungen zur Rückstandsproblematik in Bienenhonig im Rahmen der  
Varroatosebekämpfung,  
Dissertation, Giessen, Deutschland.

Kramer A. (1974)

A non-parametric ranking method for the statistical evaluation of sensory data.  
Chemical Senses and Flavour 1, 121-133.

Kraus B., Berg S., Schulz A., Otten C. (1993)

Untersuchungen zur Bekämpfung der Varroatose mit Milchsäure,  
Landesanstalt für Bienenzucht, Mayen.

Moosbeckhofer R., Pechhacker H., Unterweger H., Bandion F., Heinrich-Lenz A.  
(2003)

Investigations on the oxalic acid content of honey from oxalic acid treated and  
untreated bee colonies;  
Eur. Food Res. Technol. 217, 49-52.

Mutinelli F., Baggio A., Capolongo F., Piro R., Prandin L., Biasion L. (1997)

A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of  
varroosis,  
Apidologie 28, 461-462.

Mutinelli F., Capolongo F., Baggio A., Piro R., Shivo, A. (1997)

Formic and oxalic acids in the control of varroosis: their way into the honey,  
J. vet. Pharmacol. Therap. 20 (Suppl. 1), 162.

Mutinelli F. et al. (1997)

L'acido ossalico nella lotta alla varroasi,  
L'ape 4/1997, p. ????

Nanetti A., Ghini S., Gattavecchia E., Bartolomei P., Marcazzan G.L., Massi S.  
(2002)

Pharmacodynamics of oxalic acid and treatment residues in honey,  
1<sup>st</sup> Apimondia Symposium, Ccelle.

Radtke J., Hedtke C. (1998)

Gehalt an Ameisensäure und freien Säuren nach Sommerbehandlung mit  
Ameisensäure,  
Apidologie 29, 404-406.

Sabatini A.G., Marcazzan G.L., Colombo R., Garagnani M. (1994)

Applicazione di un metodo enzimatico per la determinazione dell'acido formico  
e dell'acido lattico presenti nel miele,  
Apicoltura 9, 135-145.

Stoya W., Wachendörfer G., Kary I., Siebentritt P., Kaiser E. (1986)

Ameisensäure als Therapeutikum gegen Varroatose und ihre Auswirkungen auf den Honig,  
Deutsche Lebensmittel-Rundschau 82, 217-221.

Stoya W., Wachendörfer G., Kary I., Siebentritt P., Kaiser E. (1987)  
Milchsäure als Therapeutikum gegen Varroatose und ihre Auswirkungen,  
Deutsche Lebensmittel-Rundschau 83, 283-286.

Unterweger H., Wacha C., Bandion F. (2001)  
Bestimmung von Oxalsäure in Honig mittels GC-MS (SIM),  
Ernährung 25, 111-115.

Wachendörfer G., Keding H. (1986)  
Beurteilung von Rückständen im Honig aus der Sicht der amtlichen  
Lebensmittelüberwachung nach Anwendung von Medikamenten zur  
Bekämpfung der Varroatose,  
ADIZ 8, 245-249.

Wachendörfer G., Klepsch A., Stoya W., Kaiser E. (1985)  
Derzeitiger Stand der medikamentellen Behandlung der Varroatose mit neuen  
Ameisensäure-Verdunstungssystemen,  
ADIZ 10, 300-305.

Wehling M., von der Ohe W., von der Ohe K. (2002)  
Honiganalyse. Natürlicher gehalt von Ameisensäure und Oxalsäure in Honigen  
verschiedener botanischer Herkunft,  
Deutsches Bienen Journal 6, 247.

- Anhang I** - Ergebnisprotokoll der Diskussionsrunde über das Projekt  
(3 Seiten)
- Anhang II** - Differenzierte grafische Darstellung der erhobenen Ameisensäure-  
Rückstandswerte  
(8 Seiten)
- Anhang III** - Poster präsentiert auf der AG der Bienenwissenschaftlichen  
Institute e.V. in Schmitten-Arnoldshain (Oberursel) im März 2003  
(1 Seite)
- Anhang IV** - Literaturdatenrecherche zu Rückstandswerten organischer Säuren  
(8 Seiten)
- Anhang V** - Fragebogen zur Vorgehensweise bei der Varroa-Behandlung  
(5 Seiten)
- Anhang VI** - Rohdaten und statistische Auswertung der Sensoriktests  
(8 Seiten)

**Ergebnisprotokoll der Diskussionsrunde über das Projekt  
„Entwicklung eines Rückstands-Kontrollsystems im Bereich Honig aus  
ökologischer Bienenhaltung“  
im Rahmen der Forschungsprojektförderung  
„Bundesprogramm Ökologischer Landbau“  
am 27.02.03 im Bieneninstitut Celle**

**Anwesend:**

Siegfried Berrenrath	Gäa e.V.
Dr. Otto Boecking	Bieneninstitut Celle (Projektleiter)
Frau Borchert	Ökosiegel e.V.
Helmut Kläge	Gäa e.V.
Ulrike Kubersky	Bieneninstitut Celle (wissenschaftl. Mitarbeiterin im Projekt)
Dr. Cord Lüllmann	Institut für Honiganalytik, Bremen
Petra Melloh	Bieneninstitut Celle (Laborkraft im Projekt)
Dr. Werner von der Ohe	Leiter des Bieneninstituts Celle
Ansgar Westerhoff	Bioland e.V.
Frau Wollenberg	Fachverein für Öko-Kontrolle e.V., in Vertretung für Biopark e.V.

**Weiterhin eingeladen waren:**

Jens Binder	Naturland e.V. (abgesagt)
Richard Göderz	AG der Öko-Kontrollstellen (krankheitshalber abgesagt)
Jürgen Löwer	Deutscher Imkerbund (krankheitshalber abgesagt)
Dr. Klaus Wallner	Deutscher Imkerbund (abgesagt)
Michael Weiler	Demeter-Bund e.V.
Britta Weitbrecht	Biokreis e.V.

**Protokollführerin:** Ulrike Kubersky

**Ziel der Diskussionsrunde:**

Auf Basis fachlicher und sachlicher Auseinandersetzung sollten die eingeladenen Vertreter der Ökologischen Anbauverbände, der Öko-Kontrollstellen und des Imkerbundes über den Hintergrund, Zielsetzung und Ablauf des Projektes informiert und in die Projektarbeit einbezogen werden. Sie sollten weiterhin als Multiplikatoren für die Verbreitung der Projektergebnisse gewonnen werden.

## **Projektdarstellung:**

Das Niedersächsische Landesinstitut für Bienenkunde Celle gilt als Kompetenzzentrum für Honig und Honigqualitätsuntersuchungen. Im Rahmen der Bestimmung der Qualitätsparameter von Honigen werden regelmäßig auch die organischen Säuren erfasst, die natürlicherweise im Honig vorkommen. Sortenhonige weisen ein deutlich differenziertes Spektrum an organische Säuren auf.

Im Rahmen von Routineuntersuchungen sind Honige aufgetreten, die überhöhte Gehalte organischer Säuren zeigten. Diese resultierten aus Anwendungen organischer Säuren zur Varroa-Bekämpfung. Erhöhte Säuregehalte können zu einer geschmacklichen Beeinträchtigung der Honige führen und sind nach der nationalen und europäischen Gesetzgebung nicht zu tolerieren. Entsprechende Honige sind nicht mehr verkehrsfähig.

Werden organische Säuren gemäß der Standardzulassung zur Varroa-Bekämpfung eingesetzt, kommt es trotz anfänglicher Erhöhung später, innerhalb eines Zeitraumes von etwa einem halben Jahr, zu einer natürlichen Reduktion der überhöhten Säuregehalte.

In der imkerlichen Praxis verkürzen sich allerdings gelegentlich die Zeitspannen zwischen Varroa-Behandlung und nachfolgender Honigernte um ein Wesentliches. Dies ist beispielsweise bei starkem Varroa-Druck der Fall, wenn trotz geplanter Ausnutzung von Spättrachten Zwischentracht-Behandlungen durchgeführt werden müssen. Ein rechtzeitiger Abbau der Rückstände organischer Säuren im Honig kann hier nicht mehr erfolgen. Es verbietet sich jedoch eine Behandlung von Völkern, von denen im selben Jahr noch Honig geerntet wird. Dieses Problem begrenzt sich nicht nur auf Öko-Imkereien, ist aber hier von besonderer Wichtigkeit, da den Öko-Imkern nach der derzeitigen Rechtslage einzig die organischen Säuren Milchsäure und Ameisensäure als Medikamente zur Varroa-Bekämpfung zur Verfügung stehen. Aus diesem Anlass und auf Anregung von Imkern setzt sich aktuell eine Arbeitsgruppe des Bieneninstituts Celle mit dieser Thematik auseinander. Hierbei handelt es sich um ein Projekt im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau, gefördert durch das BMVEL mit einer Förderungsdauer von 13 Monaten.

Die Projektziele lassen sich in zwei Bereiche einteilen:

1. Erarbeitung von Leitfäden zur Varroabekämpfung mit organischen Säuren (Ameisen-, Milchsäure und im Vorgriff auf eine eventuelle gesetzliche Zulassung auch Oxalsäure ) für die imkerliche Praxis. Damit soll zukünftig die Gefahr der Rückstandsbildung schon im Vorfeld minimiert werden. Dem Imker werden Empfehlungen zur praktischen Anwendung organischer Säuren an die Hand gegeben, die ihm helfen können, oben erwähnte Beanstandungen zu vermeiden. Geplant sind Reihenuntersuchungen zum Rückstandsverhalten organischer Säuren im Honig unter praktischen Bedingungen. Eben solche Untersuchungen unter Laborbedingungen sind bereits angelaufen.

Darüber hinaus sollen weitere Untersuchungen konkrete Ergebnisse zu Rückständen nach Zwischentrachtbehandlung erbringen, auch „Worst case“- Studien sind geplant.

2. Ein Rückstandskontrollsystem für organische Säuren im Honig soll als Ergänzung zum bestehenden Kontrollsystem erarbeitet werden.

Aus Daten der o.g. Untersuchungen sollen Höchstmengenwerte oder „action limits“ abgeleitet werden. Diese sollen als Basis für ein zukünftiges Kontrollsystem für organische Säuren dienen. Ein solches Kontrollsystem gibt es im analytischen Bereich für organische Säuren im Honig bislang nicht und soll am Ende dieses Projektes stehen.

3. Empfehlungen zur praktischen Anwendung organischer Säuren an die Hand gegeben, die ihm helfen können, oben erwähnte Beanstandungen zu vermeiden. Geplant sind Reihenuntersuchungen zum Rückstandsverhalten organischer Säuren im Honig unter praktischen Bedingungen. Eben solche Untersuchungen unter Laborbedingungen sind bereits angelaufen.

Darüber hinaus sollen weitere Untersuchungen konkrete Ergebnisse zu Rückständen nach Zwischentrachtbehandlung erbringen, auch „Worst case“- Studien sind geplant.

#### **Ergebnis der Diskussionsrunde:**

Nach anfänglichen Unsicherheiten auf Seiten der Öko-Verbände über die Projektziele und mögliche negative Signalwirkung, die von der Projektarbeit auf die Öffentlichkeit ausgehen könnte, herrschte allgemein Konsens über die Sinnhaftigkeit und Notwendigkeit der anstehenden Untersuchung bezüglich der Rückstände organischer Säuren im Honig.

Das Projekt gliedert sich ein in die Zielsetzungen des „Bundesprogramms Ökologischer Landbau“, bestehende Kontrollsysteme zu verbessern und zu ergänzen, um die unter Bezug auf die Öko-Richtlinien gemachten Qualitätsaussagen vertrauenswürdig an die Verbraucher zu kommunizieren.

Die anwesenden Vertreter der Öko-Verbände erklärten sich bereit, den Verbänden angeschlossene Imker für eine Zusammenarbeit zu gewinnen. Diese kann so aussehen, dass Imker dem Bieneninstitut anonymisierte Proben zukommen lassen, die nach ihrer eigenen Einschätzung erhöhte Säurekonzentrationen aufweisen. Für die Auswertung wird seitens des Bieneninstituts ein Fragebogen bezüglich der Vorgehensweise bei der Varroa-Behandlung erstellt.

Es ist ein weiteres Treffen mit den eingeladenen Teilnehmern gegen Ende der Projektarbeit (Herbst/Winter 2003) geplant.

## Anhang II – Differenzierte grafische Darstellung der erhobenen Ameisensäure Rückstandswerte (8 Seiten)

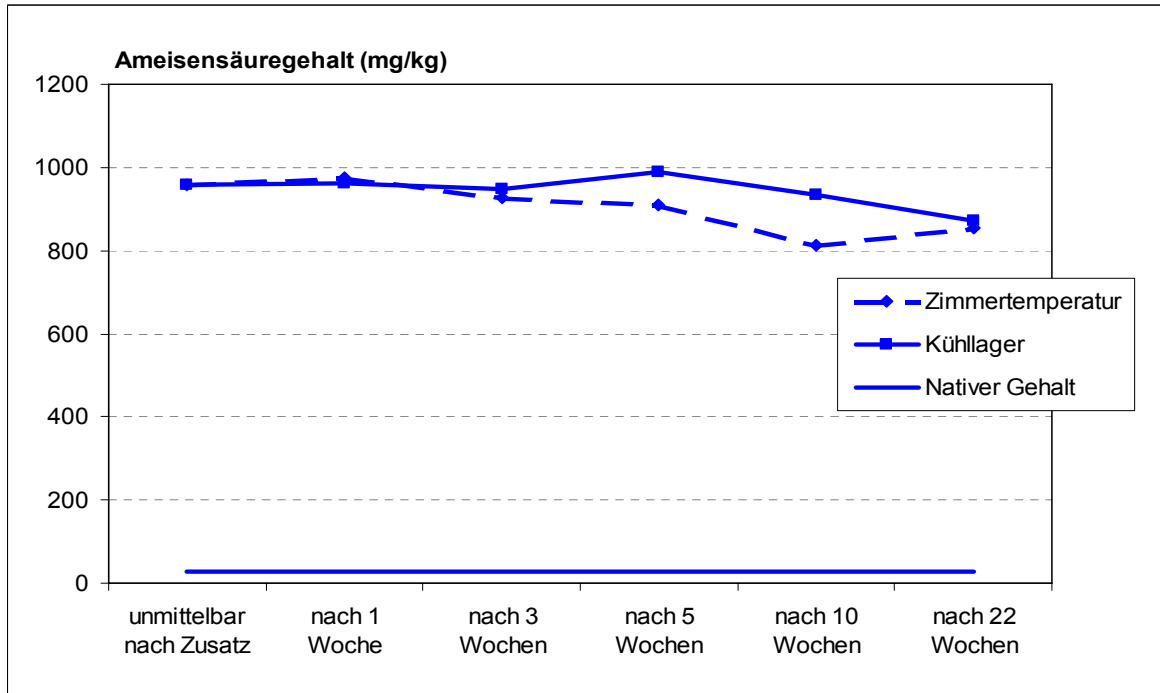


Abbildung II-1: Ameisensäuregehalt im Rapshonig nach Zusatz von Ameisensäure

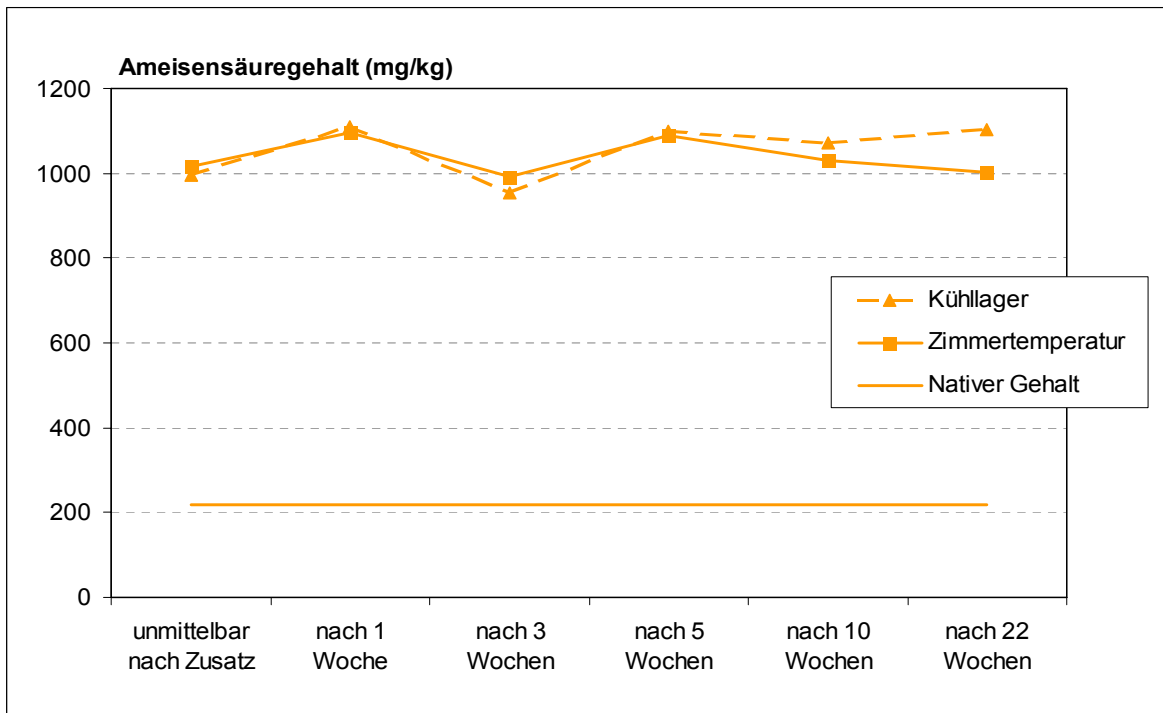


Abbildung II-2: Ameisensäuregehalt im Heidehonig nach Zusatz von Ameisensäure

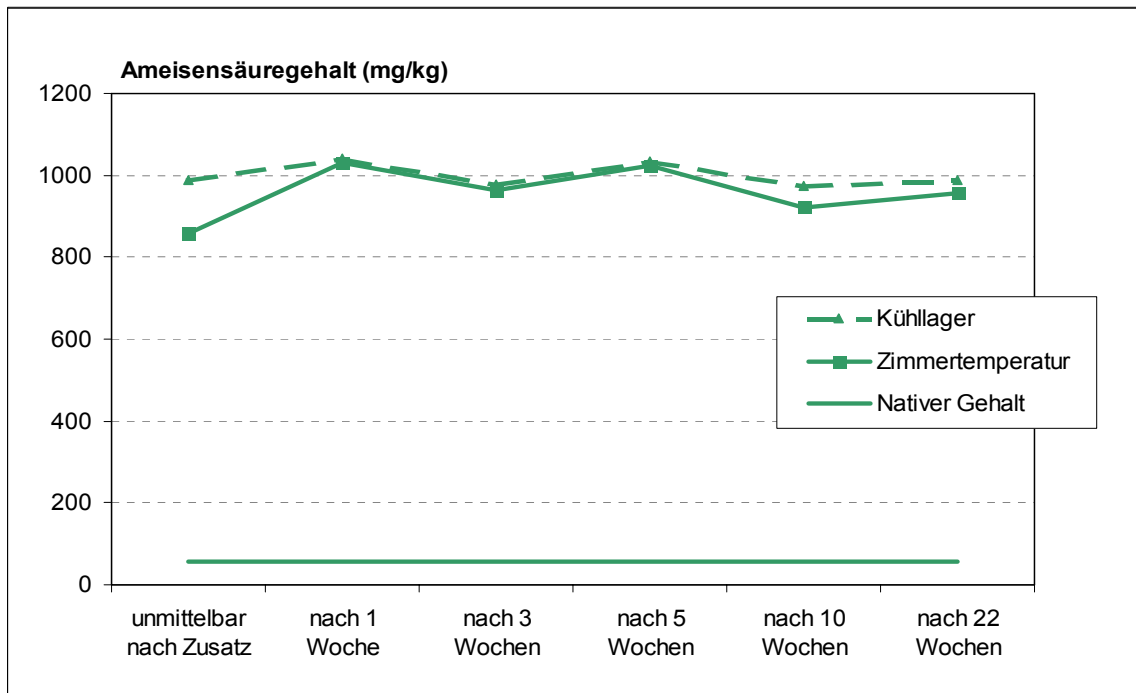


Abbildung II-3: Ameisensäuregehalt im Wald- u. Blütenhonig nach Zusatz von Ameisensäure

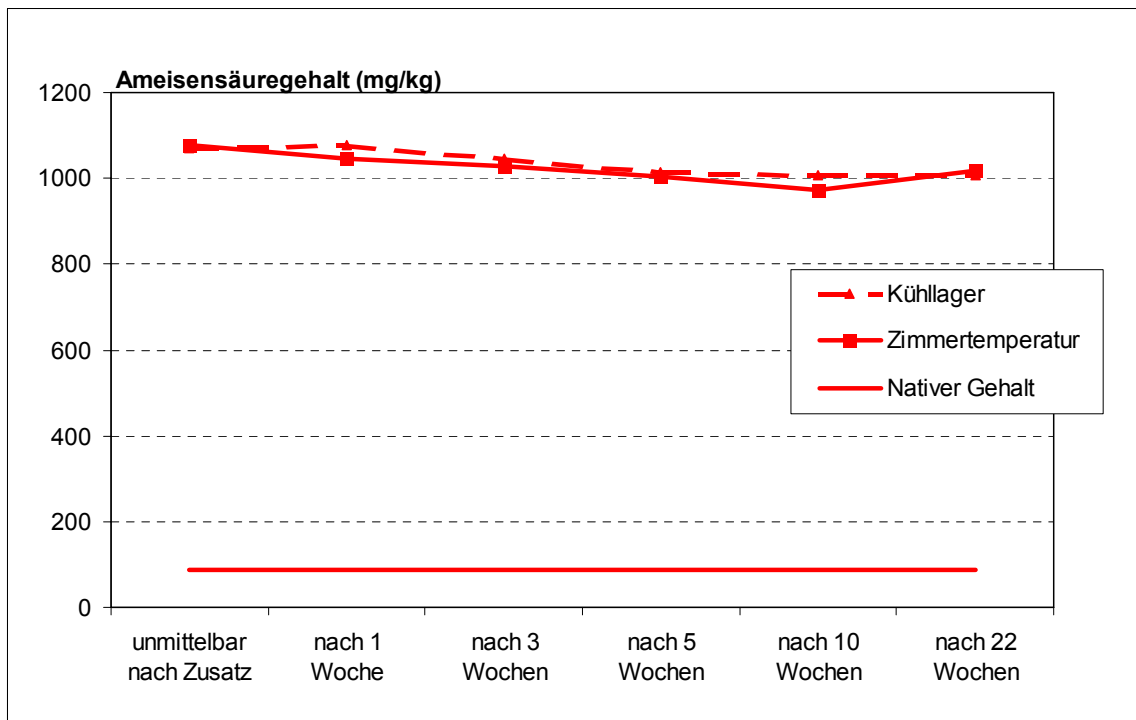


Abbildung II-4: Ameisensäuregehalt im Waldhonig nach Zusatz von Ameisensäure



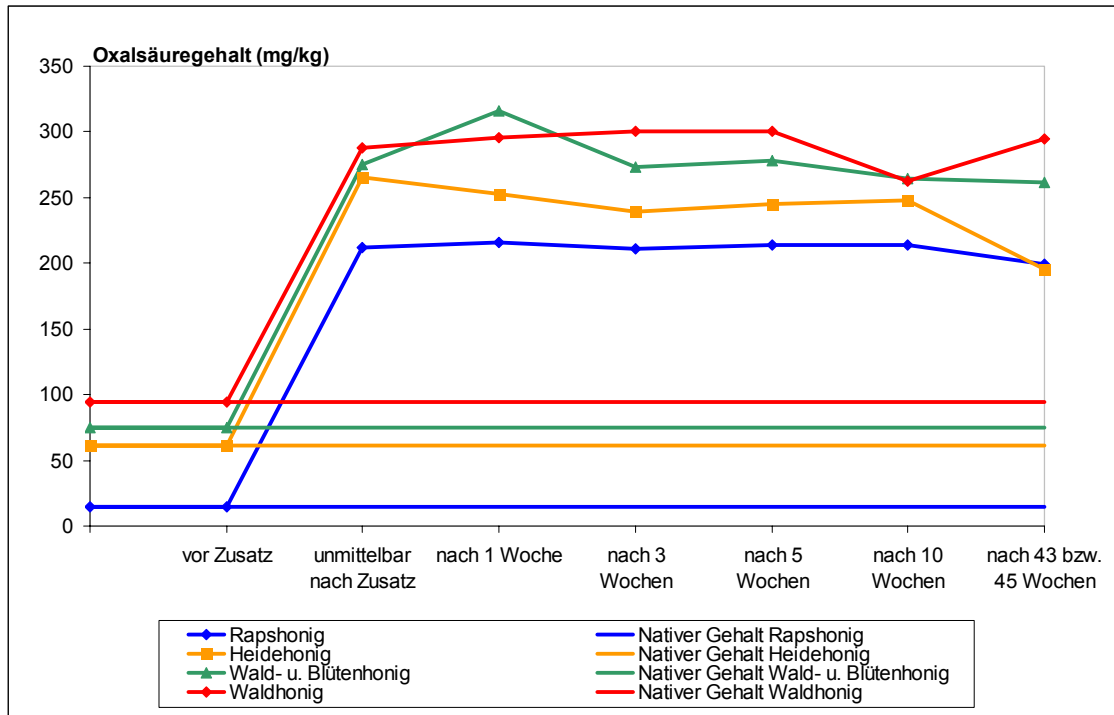


Abbildung II-5: Verlauf der Oxalsäuregehalte im Honig nach Zusatz von Oxalsäure bei ständiger Kühlung [13-17 °C]

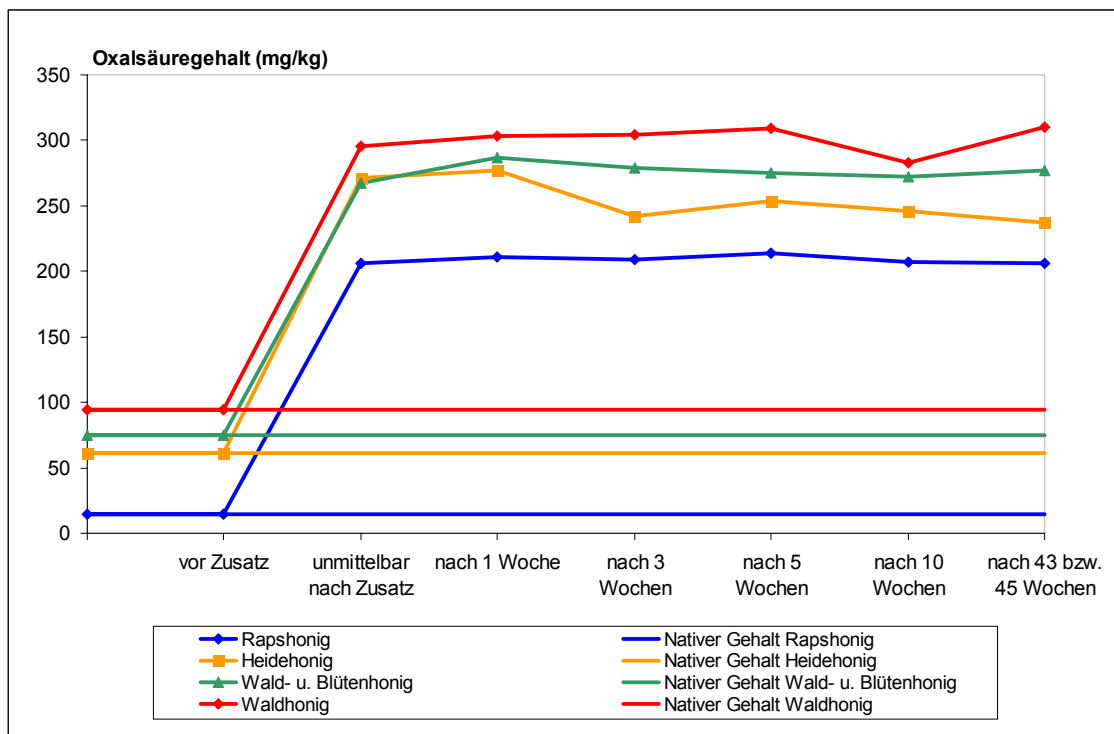


Abbildung II-6: Verlauf der Oxalsäuregehalte im Honig nach Zusatz von Oxalsäure bei ständiger Lagerung unter Raumtemperatur [20-25 °C]

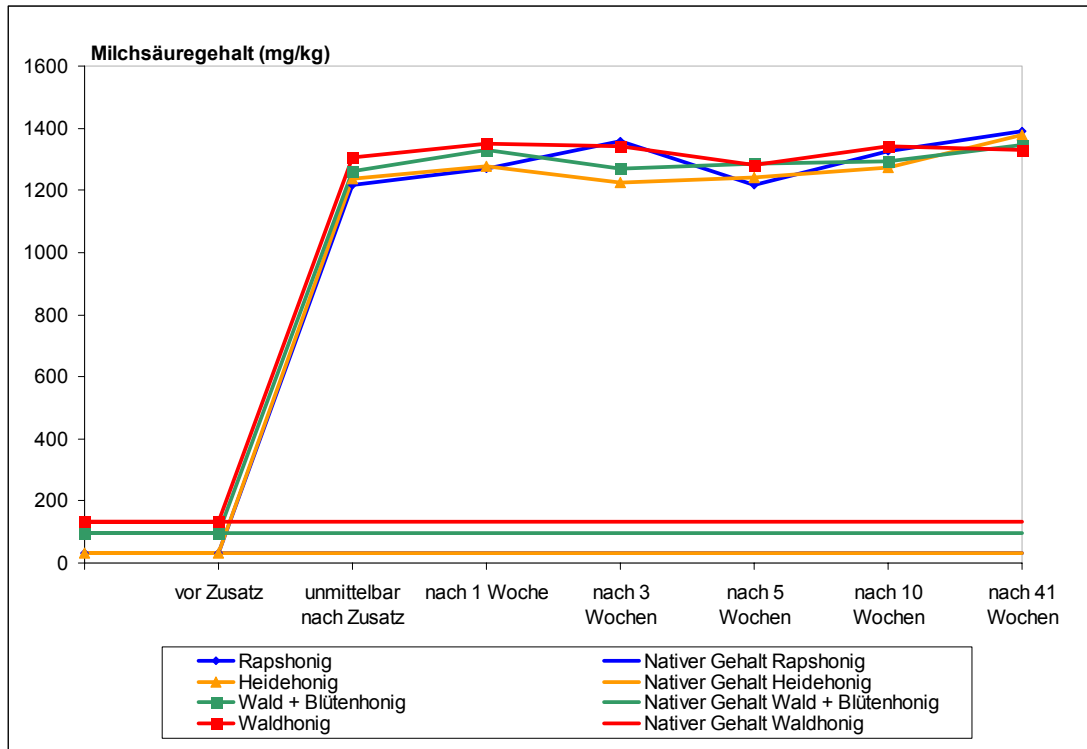


Abbildung II-7: Verlauf der Milchsäuregehalte im Honig nach Zusatz von Milchsäure bei ständiger Kühllagerung [13-17 °C]

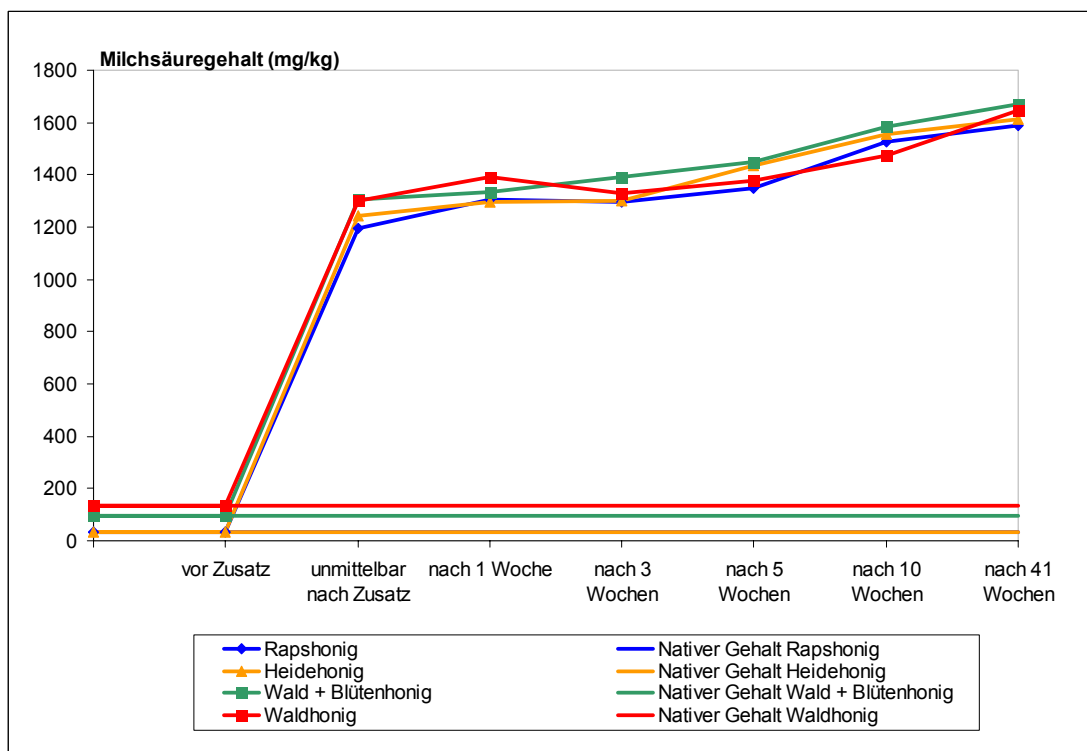


Abbildung II-8: Verlauf der Milchsäuregehalte im Honig nach Zusatz von Milchsäure bei ständiger Lagerung unter Raumtemperatur [20-25 °C]

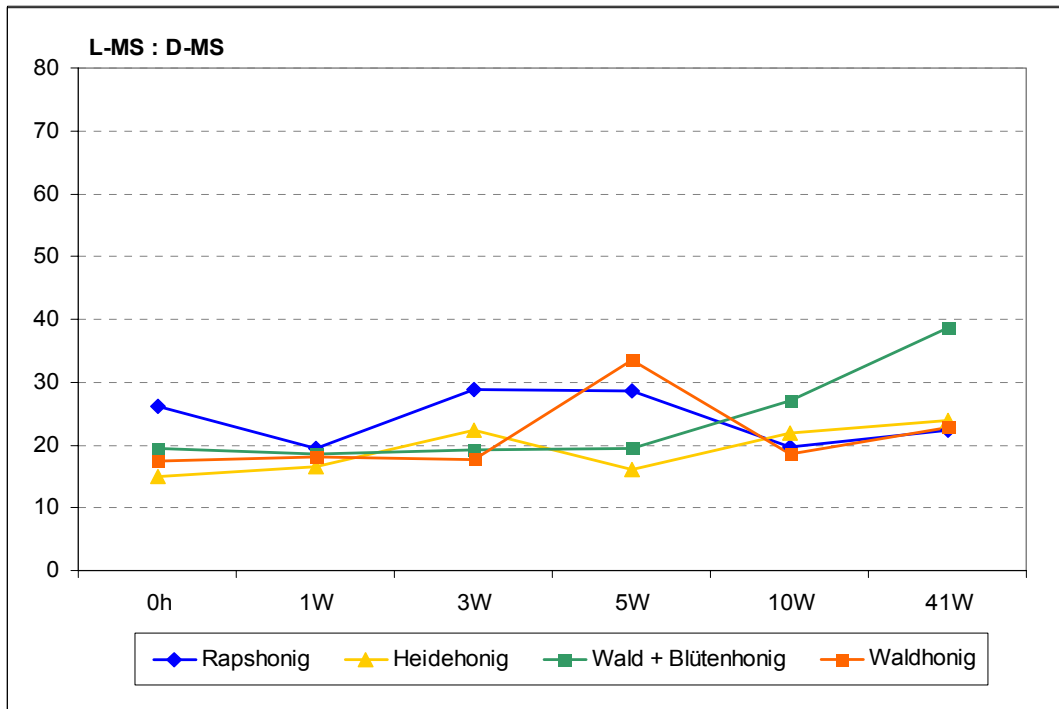


Abbildung II-9: Veränderung des Quotienten aus L-Milchsäure und D-Milchsäure bei überhöhten Milchsäuregehalten im Honig während längerfristiger Lagerung im Kühlraum

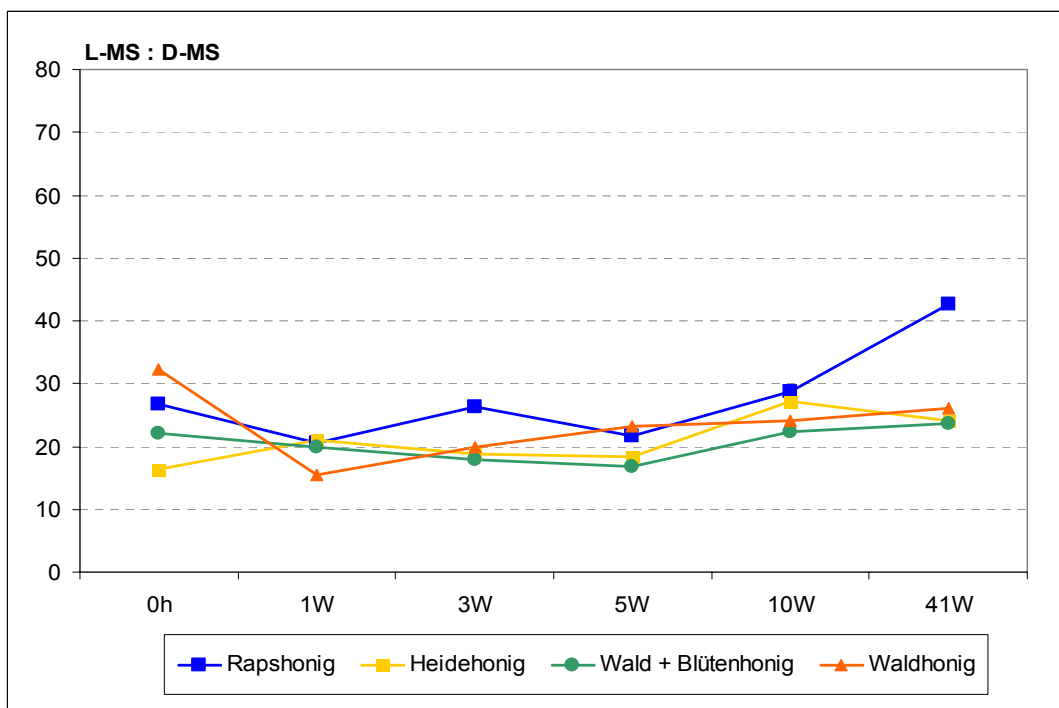


Abbildung II-10: Veränderung des Quotienten aus L-Milchsäure und D-Milchsäure bei überhöhten Milchsäuregehalten im Honig während längerfristiger Lagerung bei Raumtemperatur

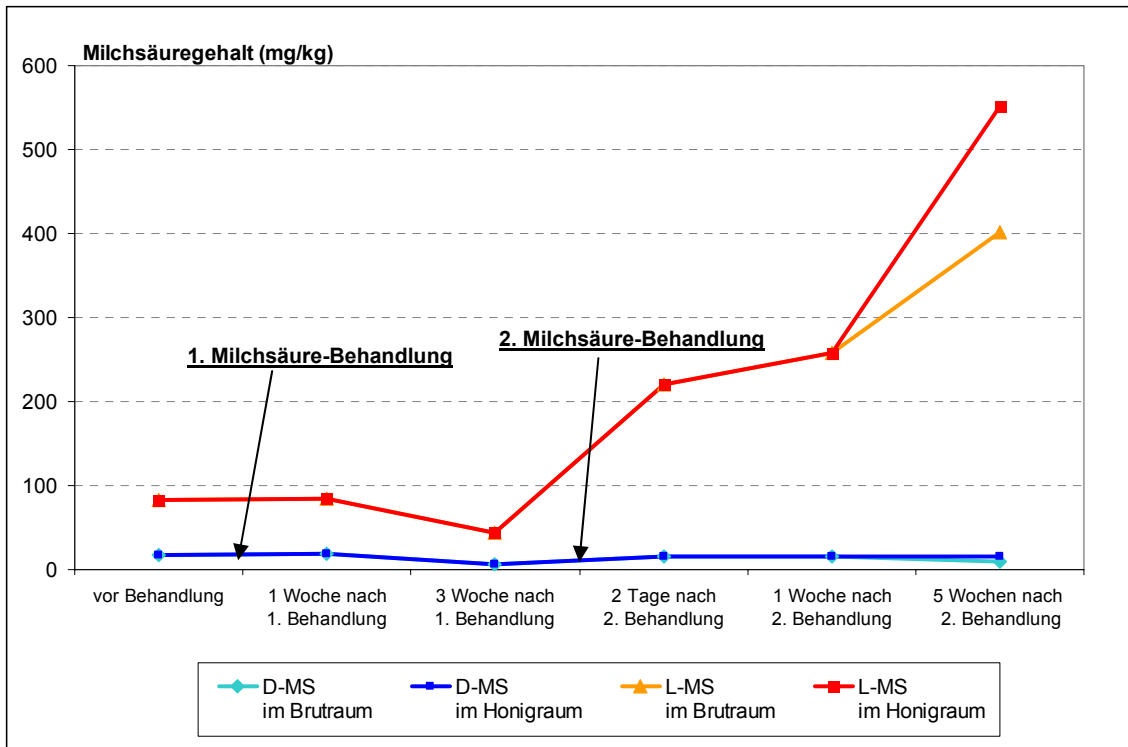


Abbildung II-11: D- und L-Milchsäuregehalte im Winterfutter vor und nach zweimaliger Milchsäure-Applikation im Bienenvolk

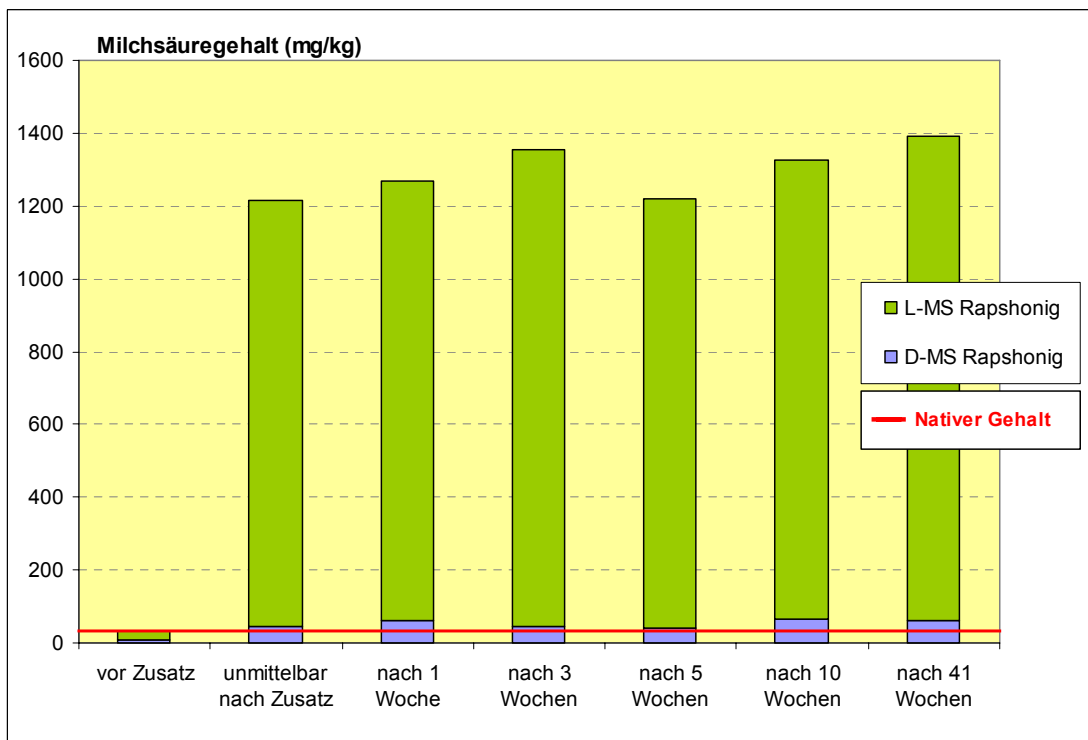


Abbildung II-12: Veränderung der L- und D-Milchsäuregehalte in Rapshonig bei überhöhten Gesamt-Milchsäuregehalten während längerfristiger Lagerung im Kühlraum

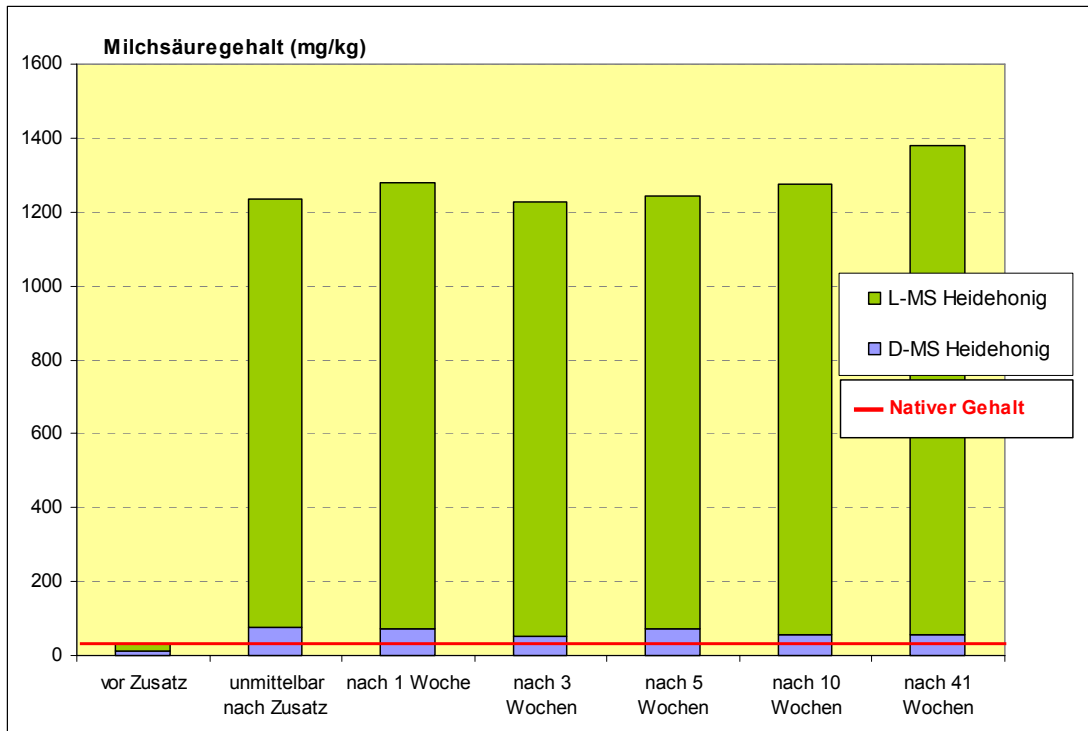


Abbildung II-13: Veränderung der L- und D-Milchsäuregehalte in Heidehonig bei überhöhten Gesamt-Milchsäuregehalten während längerfristiger Lagerung im Kühlraum

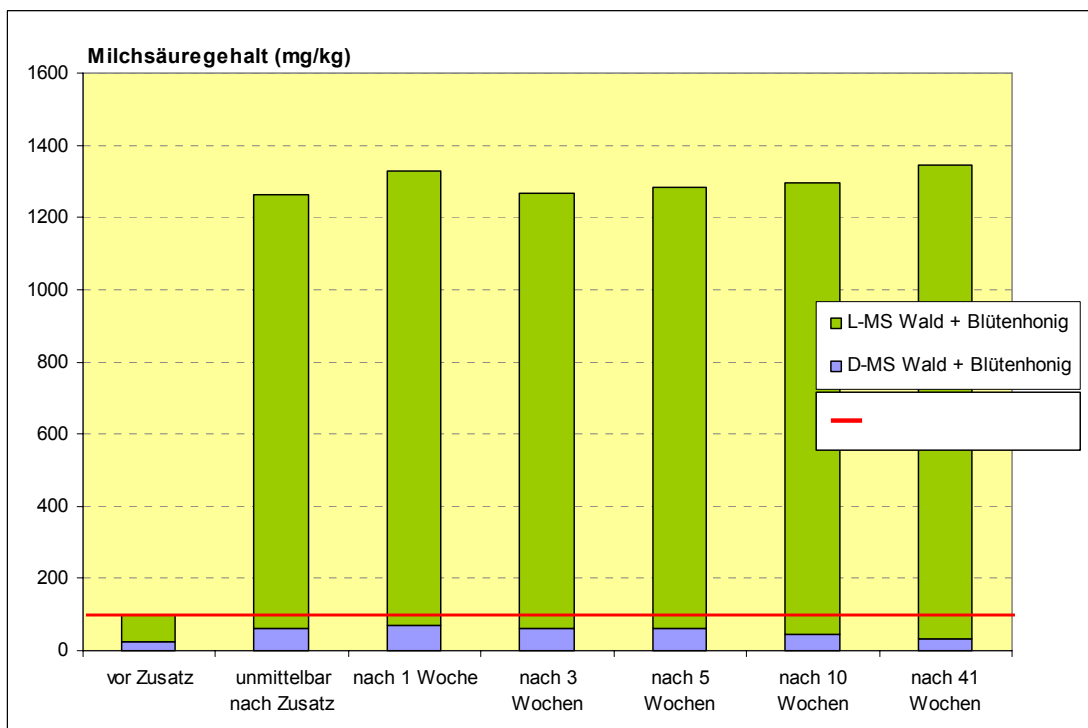


Abbildung II-14: Veränderung der L- und D-Milchsäuregehalte in Wald- und Blütenhonig bei überhöhten Gesamt-Milchsäuregehalten während längerfristiger Lagerung im Kühlraum

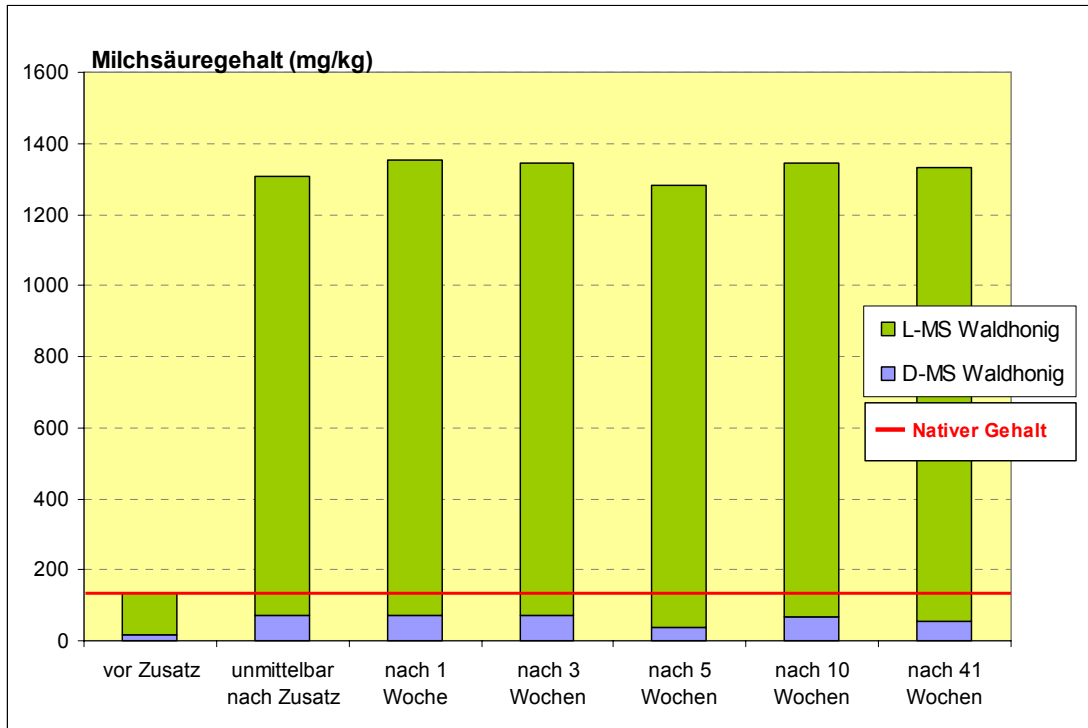


Abbildung II-15: Veränderung der L- und D-Milchsäuregehalte in Waldhonig bei überhöhten Gesamt-Milchsäuregehalten während längerfristiger Lagerung im Kühlraum

## Anhang III – Poster präsentiert auf der AG-Tagung der Bienenwissenschaftlichen Institute e.V., 2003 (1 Seite)

Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde Celle

# Rückstände organischer Säuren im Honig – Entwicklung eines Kontrollsystems

Ulrike Kubersky, Otto Boecking, Martina Wehling, Werner von der Ohe

www.bieneninstitut.de · e-mail: info@bieneninstitut.de



## Vorstellung eines aktuellen Projektes

### Problemstellung

Werden im Bienenvolk organische Säuren zur Bekämpfung der Varroose eingesetzt, kommt es anschließend zur künstlichen Erhöhung der natürlichen Säurekonzentrationen im Honig (Abb. 1). Dabei handelt es sich um Rückstände im Honig, die vermieden werden müssen. Sie sind nach der Gesetzgebung (Honigverordnung auf EU- und nationaler Ebene) nicht zulässig und können zu Geschmacksveränderungen führen. Ein mit Rückständen belasteter Honig ist nicht mehr verkehrsfähig. Deshalb verbietet sich beispielsweise eine medikamentöse Behandlung von Völkern, von denen im selben Jahr noch Honig

geerntet wird. Insbesondere Imker und Imkerinnen, die nach den Richtlinien der ökologischen Anbauverbände arbeiten und aus diesem Grunde nur organische Säuren als Medikamente gegen die Varroose einsetzen dürfen, sind deshalb auf Konzepte zur rückstandsfreien Varroose-Bekämpfung angewiesen. Auch der Verbraucher erwartet die Produktion von rückstandsfreiem Honig. Im analytischen Bereich fehlt bislang ein Rückstandskontrollsystem für organische Säuren im Honig.



### Schlussfolgerung

Das Etablieren eines Kontrollsystems für organische Säuren ist im Sinne der Selbstkontrolle hin zur Produkt-Optimierung, zur Produkt-Transparenz und zum vorbeugenden Verbraucherschutz notwendig.

Ein Beispiel aus der Projektarbeit: Wie verhalten sich Rückstände organischer Säuren im Honig außerhalb des Bienenvolkes

### Das Modell

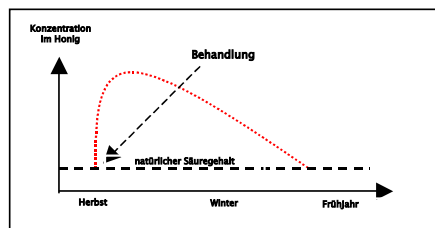


Abb. 1: Modellhafter Anstieg und Reduktion der Säurekonzentration im Honig nach Einsatz organischer Säuren zur Varroabekämpfung

### Die experimentelle Überprüfung

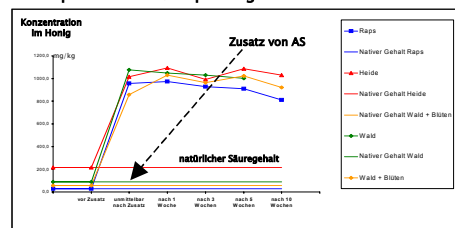


Abb. 2: Entwicklung der Ameisensäurekonzentration im Honig nach Zusatz von Ameisensäure (AS) im derzeit begonnenen Laborversuch

### Projektziele

➤ Erarbeitung von Leitfäden zur Varroabekämpfung mit organischen Säuren (Ameisen-, Milch- und Oxalsäure) für die imkerliche Praxis

- Reihenuntersuchungen zum Rückstandsverhalten organischer Säuren im Honig unter Labor- und Praxisbedingungen
- Untersuchungen zu Rückständen nach Zwischentrachtbehandlung
- „Worst case“- Studien gekoppelt mit der Rückstandsanalytik

➤ Entwicklung eines Rückstandskontrollsystems für organische Säuren im Honig

- Erarbeitung von Höchstmengenwerten bzw. „action limits“

### Mitarbeit und Kooperation erwünscht !

Von besonderem Interesse sind:

- Rückstandswerte nach Behandlung mit organischen Säuren
  - Honigproben nach Zwischentracht-Behandlungen
- e-mail: u.kubersky@bieneninstitut.de

## Anhang IV – Literaturrecherche zu Rückständen organischer Säuren im Honig (8 Seiten)

Ameisensäure											
Autor	Jahr	Ausgangswert mg/kg			Rückstandswerte mg/kg			untersuchte Honige/Völker  n	Honigsorte	Zeitpunkt Rückstands- messung	Bemerkung
		Mittel	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.				
Wachendörfer, Klepsch, Stoya	1985	<100			2600			19	Winterfutter	unmittelbar nach Behandlung	Krämerplatte, Herbstbehandlung
„	„				92			19	Winterfutter/ Frühjahrshonig	Frühjahr nach Herbstbehandlung	Krämerplatte, Herbstbehandlung, anfänglicher Anstieg auf 2600 mg/kg, dann Abnahme auf angegebenen Wert
„	„				317			10	Winterfutter	1 Woche nach Behandlung	3-malige Beh. mit Illertisser Milbenplatte Frühjahrsbehandlung Anfang April
„	„				38			10	Frühjahrshonig	12 Wochen nach Behandlung	3-malige Beh. mit Illertisser Milbenplatte Frühjahrsbehandlung Anfang April, anfänglicher Anstieg auf 2600 mg/kg, dann Abnahme auf angegebenen Wert
„	„				840			11	Winterfutter	1 Woche nach Behandlung	3-malige Beh. im 4-tägigen Abstand mit Illertisser Milbenplatte im Herbst
„	„				2250			12	Winterfutter	3 Tage nach Behandlung	4-malige Beh. mit 1-2 Illertisser Milbenplatte Anfang April
„	„				358			12	Frühjahrshonig	7 Wochen nach Behandlung	4-malige Beh. mit 1-2 Illertisser Milbenplatte Frühjahrsbehandlung Anfang April fast 4-fache Erhöhung gegenüber Ausgangswert
Bogdanov, Charrière, Imdorf	2002	45	20	80	94	17	157	10	Blüten/ Blüten- Honigtau- Mischung	1. Honigernte im Frühjahr	2-malige Langzeitbeh. zw. August u. Oktober mit 130 ml 70 % AS pro Volk, Langzeitverdunstung über 7 Tage.
„	„	31	20	40	91	66	133	6	„	„	„
„	„	41	17	85	71	42	156	11	„	„	„



<b>Ameisensäure (Fortsetzung)</b>											
Autor	Jahr	Ausgangswert mg/kg			Rückstandswerte mg/kg			untersuchte Honige/Völker n	Honigsorte	Zeitpunkt Rückstandsmessung	Bemerkung
		Mittel	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.				
Bogdanov, Charrière, Imdorf	2002	20			58			1	Blüte/ Blüte- Honigtau- Mischung	Ernte im Sommer des gleichen Jahres	Notbehandlung im Frühjahr: 1-malige AS-Beh. über 1 Woche direkt nach Schleuderung Ende Mai/Anfang Juni mit 130 ml 70 % AS; Honigräume vorher entfernt
„	„	81			285			1	„	„	„
„	„	42			261			1	„	„	„
„	„	23			103			1	„	„	„
„	„	127			403			1	Honigtau	„	„
„	„	89			506			1	„	„	„
„	„	47			166			1	„	„	„
„	„	61			254			7	Mittelwert aus o.g. 7 Honigen	„	„
Stoya et al.	1986	k.A.	0	156	2599	75	11066	74	Honige bzw. Fütterungshon- ige	unmittelbar nach Beh.	Krämerplatte: 250 ml 98%-ige AS, Langzeitbeh. im Herbst
„	„	„			116			74	„	ca. ½ Jahr nach Beh., 1. Honigernte im Frühjahr	„

<b>Ameisensäure (Fortsetzung)</b>											
Autor	Jahr	Ausgangswert mg/kg			Rückstandswerte mg/kg			untersuchte Honige/Völker	Honigsorte	Zeitpunkt Rückstandsmessung	Bemerkung
		Mittel	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	n			
Stoya et al.	1986		0	156	839	4	2939	76	„	unmittelbar nach Beh.	Illertisser Milbenplatte: 23g 65%-ige AS, Stoßbeh. Im Herbst
„	„	k.A.			92			76	„	ca. ½ Jahr nach Beh. 1. Honigernte im Frühjahr	„
„	„	„			1869	604	2930	102	„	1 Woche nach Behandlungsende	Krämerplatte: Langzeitbeh. Im Sommer (Aug./Sept.)
„	„	„			104	58	129	102	„	ca. ¾ Jahr nach Beh. 1. Honigernte im Frühjahr	„
„	„	„			1152	461	2707	122	„	1 Woche nach Behandlungsende	Illertisser Milbenplatte: Stoßbeh. Im Sommer (Aug./Sept.)
„	„	„			18	16	20	122	„	ca. ¾ Jahr nach Beh. 1. Honigernte im Frühjahr	„
Bogdanov, Imdorf et al.	2002	61	20	127	254	58	506	7 Stände	Waldhonig	1. Ernte nach Behandlung	Frühjahrsbehandlung
Radtke, Hedtke	1998	100			1200			6		unmittelbar nach Beh.	Nassenheider Verdunster: je 100 ml 60%-ige AS,
„	„				600			6		2 Wochen nach Behandlungsende	„
„	„	100			400			6			Schwammtuch: je 30 ml 60%-ige AS,
„	„	100						6			

Ameisensäure (Fortsetzung)											
Autor	Jahr	Ausgangswert mg/kg			Rückstandswerte mg/kg			untersuchte Honige/Völker n	Honigsorte	Zeitpunkt Rückstandsmessung	Bemerkung
		Mittel	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.				
Ingemar Fries (pers. Mitteilung)	n.v.	325,3 ±53,9	225,3	390,4	415,2 ±40,3	340,6	486,7	10	Heidehonig		Schwammtuch: je 40 ml 60%-ige AS, Anfang August
Capolongo et al.	1996				1626			12	k.A.	unmittelbar nach Beh.	Schwammtuch: je 40 ml 60%-ige AS, August
"	"				1619			"	"	2 Wochen nach Beh.	"
"	"				1642			"	"	4 Wochen nach Beh.	"
"	"				1641			"	"	12 Wochen nach Beh.	"

Oxalsäure											
Autor	Jahr	Ausgangswert mg/kg			Rückstandswerte mg/kg			untersuchte Honige/Völker n	Honigsorte	Zeitpunkt Rückstandsmessung	Bemerkung
		Mittel	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.				
Brodsgaard; Jensen, Hansen, Hansen	1999	20(±1)		36(±6)	63 (±16)			30	k.A.	8 Tage nach Sprühbehandlung	Frühjahrsbehandlung (März)
Bogdanov, Charrière, Imdorf	2002	41	18	79	33	16	51	9	Blüte/ Blüte-Honigtau-Mischung	Ernte im darauffolgenden Sommer	Sprühbeh. Nov.- Ende Dez. mit OS-Lsg. 30 g/L über 3 Jahre,
„	„	22	8	30	18	6	27	6	„	„	„
„	„	19	10	30	19	9	36	4	„	„	„
„	„	19	10	30	28	15	44		„	„	Sprüh- u. Träufelbeh. Nov.- Ende Dez. mit OS-Lsg. 30 g/L über 3 Jahre,
Mutinelli, Baggio et al.	1997				282,44 (±76,59)			10		nach 1.Behandlung Ende Oktober	3-malige Beh. im Wochenabstand mit 25-30 ml Oxalsäure (5%)-Zucker-Lösung pro Volk
„	„				288,79 (±77,68)			10		nach 2. Behandlung Anfang November	„
„	„				239,37 (±93,97)			10		nach 3. Behandlung Mitte November	„
Moosbeckhofer, Pechhacker et al.	2003										5-malige Beh. mit je 8,8 ml Bienenwoh (4 x im Sommer /Herbst u. 1 x im Dezember)

Milchsäure											
Autor	Jahr	Ausgangswert mg/kg			Rückstandswerte mg/kg			untersuchte Honige/Völker	Honigsorte	Zeitpunkt Rückstandsmessung	Bemerkung
		Mittel	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	n			
Bogdanov, Kilchenmann et al.	1998				1500				Winterfutter	unmittelbar nach Beh.	Beh. im Herbst
„	„				500				„	4 Wochen nach Beh.	Beh. im Herbst;
Imdorf, Kilchenmann	1990	200			-	1000	1500	?	Winterfutter	unmittelbar nach Behandlung	3-malige Beh. ; nach 7-8 Wochen wieder abgebaut (Stoya et al., 1988)
Stoya, Wachendörfer et al.	1987				L(+)-MS: über 1400 ; D(-)-MS: keine Veränderung Ges. :	- 16 -	- 70 -	78	Blütenhonig	unmittelbar nach Behandlung	3-malige Beh. im Sommer/Herbst mit je 5ml pro Wabenseite ; nach 7-8 Wochen wieder Werte wie in unbehandelten Honigen

**Literatur zu Rückständen organischer Säuren im Honig**

- Bogdanov S., Charrière J.-D., Imdorf A., Kilchenmann V., Fluri P. (2002)  
Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field conditions,  
*Apidologie* 33, 399-409.
- Bogdanov S., Imdorf A., Charrière J.-D., Fluri P., Kilchenmann V. (2002)  
Rückstandsgefahren für Bienenprodukte,  
*ADIZ* 12, 8-10.
- Brodsgaard C.J., Jensen S.E., Hansen C.W., Hansen H. (1999)  
Spring treatment with oxalic acid in honeybee colonies as varroa control,  
*Horticulture*.
- Capolongo F., Baggio A., Piro R., Schivo A., Mutinelli F., Sabatini A.G., Colombo R., Marcazzan G.L., Massi S., Nanetti A. (1996)  
Trattamento della varroasi con acido formico: accumulo nel miele e influenza sulle sue caratteristiche,  
*L'Ape nostra Amica* 18, 4-11.
- Imdorf A., Kilchenmann V. (1990)  
Milchsäure – ein Varroabekämpfungsmittel für den Kleinimker,  
*Schweizerische Bienenzeitung* 113 (8), 441-443.
- Moosbeckhofer R., Pechhacker H., Unterweger H., Bandion F., Heinrich-Lenz A. (2003)  
Investigations on the oxalic acid content of honey from oxalic acid treated and untreated bee colonies;  
*Eur. Food Res. Technol.* 217, 49-52.
- Mutinelli F., Baggio A., Capolongo F., Piro R., Prandin L., Biasion L. (1997)  
A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis,  
*Apidologie* 28, 461-462.
- Nanetti A., Ghini S., Gattavecchia E., Bartolomei P., Marcazzan G.L., Massi S. (2000)  
Pharmacodynamics of oxalic acid and treatment residues in honey,  
Internet.
- Radtke J., Hedtke C. (1998)  
Gehalt an Ameisensäure und freien Säuren nach Sommerbehandlung mit Ameisensäure,  
*Apidologie* 29, 404-406.
- Stoya W., Wachendörfer G., Kary I., Siebentritt P., Kaiser E. (1986)  
Ameisensäure als Therapeutikum gegen Varroatose und ihre Auswirkungen auf den Honig,  
*Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 82, 217-221.

- Stoya W., Wachendörfer G., Kary I., Siebentritt P., Kaiser E. (1987)  
Milchsäure als Therapeutikum gegen Varroatose und ihre Auswirkungen,  
Deutsche Lebensmittel-Rundschau 83, 283-286.
- Wachendörfer G., Klepsch A., Stoya W., Kaiser E. (1985)  
Derzeitiger Stand der medikamentellen Behandlung der Varroatose mit neuen  
Ameisensäure-Verdunstungssystemen,  
ADIZ 10, 300-305.

## **Anhang V – Fragebogen zur Vorgehensweise bei der Varroa-Behandlung** (5 Seiten)

### **Organische Säuren im Honig**

Fragebogen und Honiganalyse-Aktion

#### **Was wir wollen:**

Zur Varroa-Bekämpfung steht dem Öko-Imker nach der Verordnung (VO) EG Nr. 1804/1999, der nationalen Arzneimittelgesetzgebung, sowie den Richtlinien der einzelnen Öko-Verbände nur ein eng begrenztes Spektrum an Medikamenten zur Verfügung.

Werden organischen Säuren im Bienenvolk eingesetzt, kommt es anschließend zur künstlichen Erhöhung der natürlichen Säure-Konzentrationen im Honig. Wie groß das Ausmaß dieses Säureanstiegs ist, hängt u.a. von der Art der eingesetzten Säure, der ausgebrachten Menge und der Art bzw. auch vom Umfang des eingelagerten Futters ab. Die erhöhten Säuregehalte sind nach der Gesetzgebung (Honigverordnung auf EU- und nationaler Ebene) nicht zulässig und können zu unangenehmen Geschmacksveränderungen führen.

Im Rahmen eines Forschungsprojektes des „Bundesprogramms Ökologischer Landbau“ geht das Niedersächsische Landesinstitut für Bienenkunde in Celle u.a. der Frage nach, auf welche Art sich Rückstände organischer Säuren bei der Varroa-Bekämpfung vermeiden lassen. Insbesondere soll untersucht werden, ob auch Zwischentrachtbehandlungen ohne Gefahr der Rückstandsbildung möglich sind.

Um über einen möglichst großen Proben-Pool zu verfügen, ist das Bieneninstitut Celle an Honigproben aus Öko-Imkereien interessiert, die eventuelle Rückstände von organischen Säuren aufweisen.

Aus diesem Grunde haben sich die Öko-Verbände bereit erklärt, einen Fragebogen an die ihnen angeschlossenen Imkereien zu verteilen, sowie diese zu motivieren, uns Honigproben zur Verfügung zu stellen. Die Proben sollen von Ihnen anonymisiert werden und von unserem Labor bearbeitet werden. Dabei sind wir ausschließlich an Honigproben interessiert, bei denen eventuell erhöhte Säuregehalte aufgrund des Einsatzes organischer Säuren zur Varroabekämpfung zu erwarten sind.

#### **Was Sie beitragen können:**

Zunächst einmal sind Sie gefragt, ihren Honig selbst einzuschätzen. Sind bei Ihrem Honig erhöhte Säuregehalte aufgrund des Einsatzes organischer Säuren zur Varroabekämpfung zu erwarten?

Normalerweise reduzieren sich die erhöhten Säuregehalte nach einer Varroa-Behandlung mit organischen Säuren innerhalb ungefähr eines halben Jahres auf die natürlichen Ausgangswerte. Erst dann sollte der Honig geerntet werden. Verkürzt sich dieser Zeitraum zwischen Säureanwendung und Ernte aus irgendeinem Grunde, so wird der Honig für uns interessant.

Dies ist z.B. bei Völkern der Fall, bei denen es nötig erschien, nach der Auswinterung in diesem Frühjahr noch mit Ameisensäure oder anderen organischen Säuren zu behandeln, um den Varroadruck zu nehmen. Dann bietet sich die Untersuchung des Frühjahrshonigs an. Erhöhte Säuregehalte im Honig sind beispielsweise auch bei Völkern wahrscheinlich, die im letzten Spätsommer nach der Sommertrachternte



behandelt wurden, und dann unerwartet noch eine Spättracht in diese Völker kam, die geschleudert werden musste. Haben Sie selber mit Ihren Völkern ähnliches erlebt, so schicken Sie uns eine Probe Ihres Honigs.

Für unsere Untersuchungen ist es unerheblich, ob es sich um Honigproben aus dem Lagerbestand oder um frische Proben direkt aus den Völkern handelt. Auf jeden Fall aber sollte die letzte Behandlung mit organischen Säuren der entsprechenden Völker maximal 4-5 Monate vor der Probennahme gewesen sein.

### **Was Sie davon haben:**

Ihr freiwilliges Engagement unterstützt nicht nur die aktuelle Forschungsarbeit des Instituts, von deren Ergebnissen Öko-Imker insgesamt profitieren können. Sie erhalten darüber hinaus auch selber Informationen über Inhaltsstoffe Ihres eigenen Honigs, den Sie eingeschickt haben und damit Informationen über Auswirkungen Ihrer imkerlichen Betriebsweise auf den geernteten Honig.

Neben der Untersuchung auf organische Säuren wird in unserem Labor eine botanische Herkunftsbestimmung des Honigs durchgeführt. Die Analyseergebnisse werden Sie ca. 4 Wochen nach Eingang der Probe unter ihrer Proben-Kennnummer, also anonym, auf unserer Internet-Homepage unter [www.bieneninstitut.de/ble-projekt/probenergebnisse](http://www.bieneninstitut.de/ble-projekt/probenergebnisse) einsehen können. Sofern Sie keinen Internetzugang haben und nicht anonym bleiben wollen, müssten Sie uns Ihre Adresse mitteilen. Dann senden wir Ihnen die Daten auch gerne zu.

### **Was Sie beachten sollten:**

Entnehmen Sie eine **Probenmenge von ca. 100-150 ml**. Dabei sollten Sie beachten, dass Sie möglichst eine **gute Durchmischung** des Honigs aus verschiedenen Waben des zu untersuchenden Volkes zu erreichen. Dazu könnten Sie z.B. jeweils einen Teelöffel voll von jeder Wabe nehmen. Füllen Sie den Honig bitte in einen **sauberen Gefrierbeutel** o.ä. und verschließen Sie den Beutel mit einem Knoten. Bei der Entnahme von geschleuderten Honigs sollten Sie eine vergleichbare Menge Honig aus dem Gebinde entnehmen.

Um die Anonymität der Proben gewährleisten zu können, sollen **die Beutel und die Fragebögen** mit einer von Ihnen selbst **frei erfundenen sechsstelligen Kennnummer**, bestehend aus **drei Großbuchstaben und drei Ziffern** (Beispiel: ZHD956 oder ABC123) **beschriftet werden**. Benutzen Sie für die Beutel bitte einen wasserfesten Folienstift.

Ohne diese eindeutige Zuordnung von Proben zum Fragebogen können wir die Proben nicht weiter bearbeiten. Notieren Sie sich unbedingt die von Ihnen gewählte Kennnummer, damit Sie das Analyseergebnis Ihrer eingesandten Probe auf unserer Homepage (s.o.) wiederfinden können.

Die Beutel mit der Honigprobe und dem dazugehörigen Fragebogen schicken Sie dann bitte in einem kleinen Karton oder festem Umschlag verpackt an folgende Adresse:

Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde  
BLE-Projekt  
Herzogin-Eleonore-Allee 5  
29221 Celle

## Fragebogen zur Varroa-Bekämpfung mit organischen Säuren

**Proben-Kennnummer:** .....

(Beispiel für eine eigene Codierung: ZHD956 oder ABC123)

Bitte beschriften Sie Fragebogen **und** Probe mit einer von Ihnen selbst frei erfundenen sechsstelligen Kennnummer, bestehend aus drei Großbuchstaben und drei Ziffern (Beispiel siehe oben).

Wir benötigen für die Auswertung Ihrer Probe genaue Angaben über Ihr Vorgehen bei der Varroa-Bekämpfung. Die unten stehenden Fragen helfen uns, die Analyseergebnisse zu beurteilen. Alle Fragen beziehen sich nur auf das Volk (bzw. bei Mischproben nur auf die Völker), aus dem die Probe stammt.

1)

### Bei der Probe handelt es sich um:

eine Einzelprobe (aus einem Volk)

eine Mischprobe (aus mehreren Völkern),  
Anzahl der Völker: .....

2)

### Datum der Probenentnahme:

--

3)

### Fragen zum Standort des Bienenstandes:

Wanderstandort

ständiger Standort

Haupttracht vor/ während der Probenentnahme:

.....

Bundesland:.....

4)

### Einfütterung im Winter:

mit Honig

mit Zucker

5)

### Winterfutter im Frühjahr:

im Volk belassen

teilweise entnommen (z.B. Randwaben im Brutnestbereich belassen)

vollständig entnommen

6)

### Wurde zwischen dem Zeitpunkt der Varroa-Behandlung und der Probenziehung geschleudert?

ja

nein

wenn nein:

7) Wenn es sich bei der eingeschickten Probe um eine Einzelprobe aus nur einem Volk handelt, beantworten Sie bitte auch die folgende Frage.

Die Volksstärke zum Zeitpunkt der letzten Behandlung war:			
<input type="checkbox"/> sehr gut	<input type="checkbox"/> mittel	<input type="checkbox"/> schlecht	<input type="checkbox"/> Ableger

8)

Wieso haben Sie die letzte Behandlung durchgeführt?	
<input type="checkbox"/> tatsächlicher Varroa-Befall	<input type="checkbox"/> regelmäßige Behandlung zum gleichen Termin
<input type="checkbox"/> vermuteter Varroa-Befall	<input type="checkbox"/> Sonstiges: .....

9) Bitte machen Sie in der folgenden Tabelle genaue **Angaben zu den letzten medikamentösen Varroa-Bekämpfungsmaßnahmen**. Geben Sie die einzelnen Behandlungen jeweils in rückwärtiger Reihenfolge gesondert an. Auch mehrmalige Anwendungen des gleichen Medikamentes bitte einzeln aufführen.

Beginnen Sie bitte mit der letzten Behandlung.

Zeitpunkt der Behandlung	verwendetes Varroazid	Konzentration des Varroazids
<p><b>1</b> Letzte Behandlung:  ..... (Datum)</p>	<input type="checkbox"/> Ameisensäure: Verdunster <input type="checkbox"/> Ameisensäure: Schwammtuch <input type="checkbox"/> Ameisensäure: Illertisser Milbenplatte <input type="checkbox"/> Ameisensäure: sonstige Anwendung:..... <input type="checkbox"/> Milchsäure: sprühen <input type="checkbox"/> Milchsäure: sonstige Anwendung:..... <input type="checkbox"/> Oxalsäure: träufeln <input type="checkbox"/> Oxalsäure: verdampfen  <input type="checkbox"/> Thymol über .....Wochen <input type="checkbox"/> Bienenwohl/Biosal  <input type="checkbox"/> Sonstiges:.....	<p>.....%</p>
<p><b>2</b> Vorletzte Behandlung:  ..... (Datum)</p>	<input type="checkbox"/> Ameisensäure: Verdunster <input type="checkbox"/> Ameisensäure: Schwammtuch <input type="checkbox"/> Ameisensäure: Illertisser Milbenplatte <input type="checkbox"/> Ameisensäure: sonstige Anwendung:..... <input type="checkbox"/> Milchsäure: sprühen <input type="checkbox"/> Milchsäure: sonstige Anwendung:..... <input type="checkbox"/> Oxalsäure: träufeln <input type="checkbox"/> Oxalsäure: verdampfen  <input type="checkbox"/> Thymol über .....Wochen <input type="checkbox"/> Bienenwohl/Biosal  <input type="checkbox"/> Sonstiges:.....	<p>.....%</p>

<b>3</b>	<input type="checkbox"/> Ameisensäure: Verdunster <input type="checkbox"/> Ameisensäure: Schwammtuch <input type="checkbox"/> Ameisensäure: Illertisser Milbenplatte <input type="checkbox"/> Ameisensäure: sonstige Anwendung:..... <input type="checkbox"/> Milchsäure: sprühen <input type="checkbox"/> Milchsäure: sonstige Anwendung:..... <input type="checkbox"/> Oxalsäure: träufeln <input type="checkbox"/> Oxalsäure: verdampfen	.....%
..... (Datum)	<input type="checkbox"/> Thymol über .....Wochen <input type="checkbox"/> Bienenwohl/Biosal  <input type="checkbox"/> Sonstiges:.....	
<b>4</b>	<input type="checkbox"/> Ameisensäure: Verdunster <input type="checkbox"/> Ameisensäure: Schwammtuch <input type="checkbox"/> Ameisensäure: Illertisser Milbenplatte <input type="checkbox"/> Ameisensäure: sonstige Anwendung:..... <input type="checkbox"/> Milchsäure: sprühen <input type="checkbox"/> Milchsäure: sonstige Anwendung:..... <input type="checkbox"/> Oxalsäure: träufeln <input type="checkbox"/> Oxalsäure: verdampfen	.....%
..... (Datum)	<input type="checkbox"/> Thymol über .....Wochen <input type="checkbox"/> Bienenwohl/Biosal  <input type="checkbox"/> Sonstiges:.....	

10)

<b>Futterreserven des Volkes/ der Völker vor der letzten Behandlung:</b>		
<input type="checkbox"/> viel Futter	<input type="checkbox"/> mittel	<input type="checkbox"/> wenig Futter

11)

<b>War zum Zeitpunkt der letzten Behandlung Brut vorhanden?</b>	
<input type="checkbox"/> ja	<input type="checkbox"/> nein

12)

<b>Wetterbedingungen zur Zeit der letzten Behandlung:</b>		
Temperatur: <input type="checkbox"/> 0- 5 °C <input type="checkbox"/> 5-10 °C <input type="checkbox"/> 10-20 °C <input type="checkbox"/> mehr als 20 °C	<input type="checkbox"/> feucht  <input type="checkbox"/> trocken	<input type="checkbox"/> Wind

## Anhang VI – Rohdaten und statistische Auswertung der Sensoriktests (8 Seiten)

### A Milchsäure Rapshonig

Natürlicher Gehalt: 11,2 mg/kg

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe AXXX k = 1	+500 mg/kg Probe A536 k = 2	+1000 mg/kg Probe A101 k = 3	+1500 mg/kg Probe A417 k = 4	+2000 mg/kg Probe A276 k = 5
1	1	3	2	4	5
2	1	2	3	4	5
3	1	2	3	5	4
4	1	2	3	4	5
5	1	2	3	4	5
6	1,5	3	1,5	4	5
7	1	2	3	4	5
8	1	2	3	4	5
9	1,5	3	1,5	4	5
10	1	3	2	5	4
11	1	2	3	4	5
12	1	2	3	4	5
13	1	2	3	4	5
14	1	5	2	3	4
<b>Rangsummen</b>	<b>15</b>	<b>35</b>	<b>36</b>	<b>57</b>	<b>67</b>

#### Signifikanzniveau 0,01

Tabellenwert 30 bis 54

Ergebnis: Bezugsprobe unterscheidet sich signifikant, A417 und A276 auch.

#### Reranking

Probenreihe n	+500 mg/kg Probe A536 k = 1	+1000 mg/kg Probe A101 k = 2
1	2	1
2	1	2
3	1	2
4	1	2
5	1	2
6	2	1
7	1	2
8	1	2
9	2	1
10	2	1
11	1	2
12	1	2
13	1	2
14	2	1
<b>Rangsummen</b>	<b>19</b>	<b>23</b>

Tabellenwert 16 bis 26

Ergebnis: Proben unterscheiden sich **nicht** signifikant voneinander

#### Reranking

Probenreihe n	+1500 mg/kg Probe A417 k = 3	+2000 mg/kg Probe A276 k = 4
1	1	2
2	1	2
3	2	1
4	1	2
5	1	2
6	1	2
7	1	2
8	1	2
9	1	2
10	2	1
11	1	2
12	1	2
13	1	2
14	1	2
<b>Rangsummen</b>	<b>16</b>	<b>26</b>

## B Rapshonig

### Oxalsäure

Natürlicher Gehalt: 46,8 mg/kg

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe BXXX k = 1	+150 mg/kg Probe B499 k = 2	+300 mg/kg Probe B723 k = 3	+450 mg/kg Probe B389 k = 4	+600 mg/kg Probe B250 k = 5
1	1,5	1,5	4,5	4,5	3
2	1,5	1,5	3	4	5
3	1	3	2	4	5
4	1	5	2	3	4
5	1,5	1,5	3	4,5	4,5
6	1,5	1,5	5	3	4
7	1	2	3	4,5	4,5
8	1	2	3	4	5
9	2	2	4	2	5
10	1	5	2	3	4
11	1,5	1,5	3	4	5
12	1	2	3	4	5
13	1	2	3	4	5
14	1	3	4	5	2
<b>Rangsummen</b>	<b>17,5</b>	<b>33,5</b>	<b>44,5</b>	<b>53,5</b>	<b>61</b>

**Signifikanzniveau 0,01**

Tabellenwert 30 bis 54

Ergebnis: Bezugsprobe unterscheidet sich signifikant, B250 auch.

**Reranking**

Probenreihe n	+150 mg/kg Probe B499 k = 1	+300 mg/kg Probe B723 k = 2	+450 mg/kg Probe B389 k = 3
1	1	2,5	2,5
2	1	2	3
3	2	1	3
4	3	1	2
5	1	2	3
6	1	3	2
7	1	2	3
8	1	2	3
9	1,5	3	1,5
10	3	1	2
11	1	2	3
12	1	2	3
13	1	2	3
14	1	2	3
<b>Rangsummen</b>	<b>19,5</b>	<b>27,5</b>	<b>37</b>

Tabellenwert 20 bis 36

Ergebnis: Proben unterscheiden sich signifikant voneinander

## C Rapshonig

### Ameisensäure

Natürlicher Gehalt: 29,1 mg/kg

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe CXXX k = 1	+150 mg/kg Probe C194 k = 2	+300 mg/kg Probe C667 k = 3	+450 mg/kg Probe C112 k = 4	+600 mg/kg Probe C302 k = 5
1	1,5	4	1,5	3	5
2	1,5	1,5	3	4	5
3	1	2	3	4	5
4	1	2	3	4	5
5	1,5	1,5	3,5	3,5	5
6	1	4	2	3	5
7	1	2	3,5	3,5	5
8	1	2	3	4	5
9	2	2	4	2	5
10	1,5	1,5	4	3	5
11	1,5	1,5	3	4	5
12	1,5	1,5	3	4	5
13	1	2	3	4	5
14	1	2	3	4	5
<b>Rangsummen</b>	<b>18</b>	<b>29,5</b>	<b>42,5</b>	<b>50</b>	<b>70</b>

**Signifikanzniveau 0,01**

Tabellenwert 30 bis 54

Ergebnis: Bezugsprobe unterscheidet sich nicht signifikant von C194.

**Reranking 1**

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe CXXX k = 1	+150 mg/kg Probe C194 k = 2
1	1	2
2	1,5	1,5
3	1	2
4	1	2
5	1,5	1,5
6	1	2
7	1	2
8	1	2
9	1,5	1,5
10	1,5	1,5
11	1,5	1,5
12	1,5	1,5
13	1	2
14	1	2
<b>Rangsummen</b>	<b>17</b>	<b>25</b>

Tabellenwert

16 bis 26

Ergebnis:

Proben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander

**Reranking 2**

Probenreihe n	+300 mg/kg Probe C667 k = 2	+450 mg/kg Probe C112 k = 3
1	1	2
2	1	2
3	1	2
4	1	2
5	1,5	1,5
6	1	2
7	1,5	1,5
8	1	2
9	2	1
10	2	1
11	1	2
12	1	2
13	1	2
14	1	2
<b>Rangsummen</b>	<b>17</b>	<b>25</b>

Tabellenwert

16 bis 26

Ergebnis:

Proben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander

## A Rapshonig Milchsäure

Natürlicher Gehalt: 50,6 mg/kg

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe AXXX k = 1	+300 mg/kg Probe A750 k = 2	+400 mg/kg Probe A837 k = 3	+500 mg/kg Probe A132 k = 4	+700 mg/kg Probe A501 k = 5	+1000 mg/kg Probe A111 k = 6
1	1	4	3	2	5	6
2	1,5	3	1,5	4	6	5
3	1,5	1,5	3	5	4	6
4	1	5,5	5,5	4	2	3
5	1,5	1,5	4	3,5	3,5	6
6	2	5	4	2	6	2
7	1	2	3,5	3,5	5	6
8	1	6	5	3	4	2
9	1	3	4	2	6	6
10	2	2	4	2	5	6
11	1,5	4	1,5	3	5	6
12	1	2	3	5	4	6
13	1	5	3,5	3,5	2	6
14	1	5	4	6	2	3
15	1	2	3,5	3,5	5	6
<b>Rangsummen</b>	<b>18</b>	<b>49,5</b>	<b>49,5</b>	<b>48,5</b>	<b>59,5</b>	<b>69</b>

### Signifikanzniveau 0,01

Tabellenwert: 37 bis 68

Ergebnis: Die Bezugsprobe unterscheidet sich signifikant von allen übrigen Proben, ebenso die Probe mit 1000 mg/kg Milchsäure.  
Zwischen 300 und 700 mg/kg sind keine signifikanten Unterschiede feststellbar.

### Reranking

Probenreihe n	+300 mg/kg Probe A750 k = 1	+400 mg/kg Probe A837 k = 2	+500 mg/kg Probe A132 k = 3	+700 mg/kg Probe A501 k = 4
1	3	2	1	4
2	2	1	3	5
3	1	2	4	3
4	3,5	3,5	2	1
5	1	4	2,5	2,5
6	3	2	1	4
7	1	2,5	2,5	4
8	4	3	1	2
9	2	3	1	4
10	1,5	3	1,5	4
11	3	1	2	4
12	1	2	4	3
13	4	2,5	2,5	1
14	3	2	4	1
15	1	2,5	2,5	4
<b>Rangsummen</b>	<b>33</b>	<b>33,5</b>	<b>32</b>	<b>42,5</b>

Tabellenwert 26 bis 49

Ergebnis: Die Proben unterscheiden sich auch nach dem Reranking **nicht** signifikant voneinander.



## B Rapshonig

### Oxalsäure

Natürlicher Gehalt: 7,7 mg/kg

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe BXXX k = 1	+50 mg/kg Probe B362 k = 2	+100 mg/kg Probe B199 k = 3	+150 mg/kg Probe B952 k = 4	+200 mg/kg Probe B449 k = 5
1	1	2	3	5	4
2	2	2	4	2	5
3	1,5	3,5	3,5	1,5	5
4	2	4	2	2	5
5	3	3	3	3	3
6	1	4	2	5	3
7	1	2,5	2,5	4,5	4,5
8	1	4,5	4,5	2	3
9	1	3	2	4	5
10	1	3	2	4	5
11	1	3	5	2	4
12	1	2	3	3	4
13	1,5	1,5	3,5	5	3,5
14	1	2	5	3	4
15	1,5	3	1,5	5	4
<b>Rangsummen</b>	<b>19</b>	<b>40</b>	<b>45</b>	<b>46</b>	<b>58</b>

**Signifikanzniveau 0,01**

Tabellenwert 32 bis 58

Ergebnis: Die Bezugsprobe unterscheidet sich signifikant von den anderen,  
alle übrigen Proben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

**Reranking**

Probenreihe n	+50 mg/kg Probe B362 k = 2	+100 mg/kg Probe B199 k = 3	+150 mg/kg Probe B952 k = 4	+200 mg/kg Probe B449 k = 5
1	1	2	4	3
2	1,5	3	1,5	4
3	2,5	2,5	1	4
4	3	1,5	1,5	4
5	2,5	2,5	2,5	2,5
6	3	1	4	2
7	1,5	1,5	3,5	3,5
8	3,5	3,5	1	2
9	2	1	3	4
10	2	1	3	4
11	2	4	1	3
12	1	2,5	2,5	4
13	1	2,5	4	2,5
14	1	4	2	3
15	2	1	4	3
<b>Rangsummen</b>	<b>27,5</b>	<b>32,5</b>	<b>34,5</b>	<b>45,5</b>

Tabellenwert 26 bis 49

Ergebnis: Die Proben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander

## C Waldhonig Milchsäure

Natürlicher Gehalt: 93,9 mg/kg

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe CXXX k = 1	+300 mg/kg Probe C988 k = 2	+500 mg/kg Probe C278 k = 3	+1000 mg/kg Probe C834 k = 4	+1500 mg/kg Probe C180 k = 5	+2000 mg/kg Probe C647 k = 6
1	1	4	2	5	3	6
2	1,5	3	1,5	4	5	6
3	2,5	2,5	5	2,5	6	2,5
4	1	2	4	3	5	6
5	1	2,5	2,5	4	6	5
6	1	2	4	5	3	6
7	1	2	3,5	3,5	5	6
8	1	4	2	3	5	6
9	1	3	2	4	6	5
10	1	2	3	4	5	6
11	1	4	3	2	5	6
12	1,5	1,5	3	4	5	6
13	2	2	2	4	6	5
14	1	2	4	3	6	5
15	1	2	3,5	5,5	3,5	5,5
<b>Rangsummen</b>	<b>17,5</b>	<b>36,5</b>	<b>41,5</b>	<b>51</b>	<b>71</b>	<b>76,5</b>

**Signifikanzniveau 0,01**

Tabellenwert: 37 bis 68

Ergebnis:

**Reranking**

Probenreihe n	+500 mg/kg Probe C278 k = 3	+1000 mg/kg Probe C834 k = 4
1	1	2
2	1	2
3	2	1
4	2	1
5	1	2
6	1	2
7	1,5	1,5
8	1	2
9	1	2
10	1	2
11	2	1
12	1	2
13	1	2
14	2	1
15	1	2
<b>Rangsummen</b>	<b>18,5</b>	<b>23,5</b>

Tabellenwert 18 bis 27

Ergebnis: Zwischen den Proben mit 500 und 1000 mg/kg gibt es keinen signifikanten Unterschied.

## D Waldhonig

### Oxalsäure

Natürlicher Gehalt: 64,1 mg/kg

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe DXXX k = 1	+450 mg/kg Probe D545 k = 2	+600 mg/kg Probe D740 k = 3	+750 mg/kg Probe D697 k = 4	+900 mg/kg Probe D493 k = 5	+1050 mg/kg Probe D911 k = 6
1	1	2	4	5	3	6
2	1	2	4	5	3	6
3	2,5	2,5	2,5	2,5	5	6
4	1	5	2	3	4	6
5	1,5	1,5	3	5	4	6
6	1	3	5	4	2	6
7	1	1	4	2,5	2,5	5,5
8	1	2	3	4	6	5
9	1	2	4	5	3	6
10	1	2	4	5	3	6
11	1	2,5	2,5	4	5,5	5,5
12	1	2	3	4	5	6
13	1,5	1,5	3,5	3,5	5,5	5,5
14	1	6	3	5	4	2
15	1	2	4,5	4,5	4,5	4,5
<b>Rangsummen</b>	<b>16,5</b>	<b>35</b>	<b>47,5</b>	<b>57,5</b>	<b>55,5</b>	<b>77,5</b>

**Signifikanzniveau 0,01**

Tabellenwert: 37 bis 68

Ergebnis:

Probenreihe n	+600 mg/kg Probe D740 k = 3	+750 mg/kg Probe D697 k = 4	+900 mg/kg Probe D493 k = 5
1	2	3	1
2	2	3	1
3	1,5	1,5	3
4	1	2	3
5	1	3	2
6	3	2	1
7	3	1,5	1,5
8	1	2	3
9	2	3	1
10	2	3	1
11	1	2	3
12	1	2	3
13	1,5	1,5	3
14	1	3	2
15	2	2	2
<b>Rangsummen</b>	<b>23</b>	<b>32,5</b>	<b>28,5</b>

Tabellenwert: 22 bis 38

Ergebnis: Zwischen 600 und 900 mg/kg ist kein signifikanter Unterschied erkennbar.

## E Waldhonig Ameisensäure

Natürlicher Gehalt: 41,2 mg/kg

Probenreihe n	+0 mg/kg Probe EXXX k = 1	+150 mg/kg Probe E120 k = 2	+300 mg/kg Probe E325 k = 3	+450 mg/kg Probe E678 k = 4	+600 mg/kg Probe C754 k = 5
1	1	2	5	3	4
2	1	2,5	2,5	4	5
3	1	2	3	5	4
4	1	3	5	4	2
5	1,5	1,5	3	4	5
6	1,5	5	1,5	4	3
7	1	2	3	4	5
8	1	2	5	3	4
9	1	4	2	3	5
10	1	2	4	3	5
11	1,5	4	1,5	3	5
12	1,5	1,5	3	4	5
13	1,5	1,5	3	4	5
14	1,5	1,5	3	4	5
15	1	2	3	4	5
<b>Rangsummen</b>	<b>17</b>	<b>34,5</b>	<b>44,5</b>	<b>52</b>	<b>62</b>

### Signifikanzniveau 0,01

Tabellenwert 32 bis 58

Ergebnis: Die Bezugsprobe unterscheidet sich signifikant von allen übrigen Proben, ebenso die Probe mit 600 mg/kg Ameisensäure.  
Zwischen 150 und 450 mg/kg sind keine signifikanten Unterschiede feststellbar.

Probenreihe n	+150 mg/kg Probe E120 k = 2	+300 mg/kg Probe E325 k = 3	+450 mg/kg Probe E678 k = 4
1	1	3	2
2	1,5	1,5	3
3	1	2	3
4	1	3	2
5	1	2	3
6	3	1	2
7	1	2	3
8	1	3	2
9	3	1	2
10	1	3	2
11	3	1	2
12	1	2	3
13	1	2	3
14	1	2	3
15	1	2	3
<b>Rangsummen</b>	<b>20,5</b>	<b>28,5</b>	<b>35</b>

Tabellenwert: 22 bis 38

Ergebnis: Die Probe mit einem Ameisensäuregehalt von 150 mg/kg unterscheidet sich signifikant von den anderen beiden, zwischen 300 und 450 mg/kg sind keine signifikanten Unterschiede erkennbar.

## Danksagung

---

Bei diesem Projekt sind wir von unseren Kolleginnen und Kollegen im Haus in vielfältiger Weise mit tatkräftiger und engagierter Hilfe unterstützt worden. Dafür möchten wir an dieser Stelle uns besonders herzlich bedanken.

Dieser Dank gilt: Frau Melloh, Frau Wehling, Frau von der Ohe, Frau Schönberger, Frau Holzbach, Herrn Dr. von der Ohe, Herrn Schulz sowie Herrn Schönberger und allen anderen Imkern und Azubildenden.

Unser Dank gilt auch den Damen und Herren, die uns mit ihrem „guten Geschmack“ bei den Sensoriktests unterstützt haben.

Unser Dank richtet sich auch an Frau Dr. Michaela Filipini (BLE), die in einer verlässlichen und kompetenten Weise bei allen Angelegenheiten des Projektmanagements geholfen hat.

Dr. Otto Boecking & Ulrike Kubersky