

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 2 (1911)

**Heft:** 2

**Artikel:** Die Verwendung der quantitativen Präzipitinreaktion bei Honiguntersuchungen. I. Mitteilung

**Autor:** Thöni, J.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-984310>

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

#### Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 27.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Die Verwendung der quantitativen Präzipitinreaktion bei Honiguntersuchungen.

## I. Mitteilung.

Von Dr. J. THÖNI.

(Aus dem Laboratorium des schweiz. Gesundheitsamtes. Vorstand: Prof. Dr. Schaffer.)

Vor zirka  $1\frac{1}{2}$  Jahren veröffentlichte Prof. *Langer*<sup>1)</sup> in Graz ein auf der Präzipitinreaktion beruhendes Verfahren für die Beurteilung des Bienenhonigs und seiner Verfälschungen. Schon im Jahre 1902 hatte *v. Riegler*<sup>2)</sup> über einige Versuche berichtet, wonach es ihm gelungen war, ein Antiserum zu gewinnen, das in Naturhoniglösungen Trübungen bewirkte, während verschiedene Zuckerlösungen damit keine Reaktion gaben. Die Befunde von *v. Riegler* wurden nicht weiter beachtet, weil ein blosser Nachweis von Naturhonig für die Honigkontrolle wenigversprechend erschien, da vielen künstlichen Honigprodukten kleine Mengen von echtem Bienenhonig beigemischt sind. Ein grosses Interesse mussten daher die Untersuchungsergebnisse von *Langer* erwecken, aus denen zu schliessen war, dass das biologische Verfahren für die Honigbeurteilung neben den bisher üblichen Untersuchungsmethoden, doch eine weitere sehr wichtige Reaktion bilde.

*Langer* hatte beobachtet, dass Bienenhoniglösungen mit Antihonigserum stärkere Präzipitate ergaben, als mit Mischhoniglösungen, die aus Bienen- und Kunsthonig bestanden. Das mag in ihm den Gedanken wachgerufen haben, die Menge des Präzipitates genau zu bestimmen. Er wendete folgendes Verfahren an: Festgewordene Honige werden durch Einstellen in ein Wasserbad bei 45—50° C flüssig gemacht. 10 g des Honigs werden sodann in 10 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst. Es ergeben sich gewöhnlich 16 bis 17,0 cm<sup>3</sup> Lösung, welche nach gehöriger Mischung filtriert werden. Von dem Filtrate werden 10 cm<sup>3</sup> zu je 5 cm<sup>3</sup> in 2 Dialysationshülsen von *Schleicher & Schüll* gebracht und während 24 Stunden dialysiert, um den Zucker, der bei der Präzipitinreaktion hemmend wirkt, zu entfernen. Das zur Dialyse benutzte destillierte Wasser soll 2—3mal gewechselt werden. Die auf diese Weise erhaltenen Dialysate sind sozusagen zuckerfrei; sie werden, nachdem die Dialysationshülsen mit destilliertem Wasser nachgespült sind, mit dem Spülwasser vereinigt, auf 30 cm<sup>3</sup> aufgefüllt und nochmals filtriert. Von dieser Lösung, die als Originallösung mit O bezeichnet ist, werden die weiteren Verdünnungen  $\frac{1}{5}$  O (0,2 cm<sup>3</sup> + 0,8 cm<sup>3</sup> Wasser) und  $\frac{1}{10}$  O (0,1 cm<sup>3</sup> + 0,9 cm<sup>3</sup> Wasser) hergestellt. Zu je 1 cm<sup>3</sup> der Honiglösung kommen 1 cm<sup>3</sup> Immunserum und 1 Tropfen Toluol. Als Aufnahmegläser für diese Mischung dienen Zentrifugengläser, die im unteren Teil verengt sind. Der Durch-

<sup>1)</sup> *Langer*, Z., Beurteilung des Bienenhonigs und seiner Verfälschungen mittelst biologischer Eiweissdifferenzierung. Archiv für Hygiene, 1909, 3. Heft, pag. 308.

<sup>2)</sup> *v. Riegler*, G., Die Serodiagnose in der Untersuchung der Nahrungsmittel. Österreichische Chemikerzeitung 1902, No. 5, pag. 97.

messer des verengten Teilstückes beträgt zirka 2 mm. Nach gehöriger Durchmischung dieser Flüssigkeiten werden die Röhrchen während 5 Stunden in den Brutschrank gestellt. Handelt es sich um Naturhonige, so treten während dieser Zeit Trübungen und Niederschläge auf. Die Niederschläge (Präzipitate) werden durch Zentrifugieren während 5 Minuten bei einer Tourenzahl von 1500 pro Minute in den verengten Teil des Röhrchens getrieben, wo die Schichthöhe des Sedimentes bestimmt werden kann.

Nach dieser Methode von *Langer* vorgenommene Untersuchungen ergeben folgende Resultate:

Es variierten die Schichthöhen des Präzipitates von 7 Proben echten Bienenhonigs:

bei den	O	Dialysaten von 19—21 mm
»	»	$\frac{1}{5}$ O      »      »      4—8      »
»	»	$\frac{1}{10}$ O      »      »      2—3      »

Bei Versuchen mit Mischhonigen, die aus Natur- und Kunsthonig bestanden, fielen die Präzipitatemengen genau im Verhältnis der Abnahme der Bienenhonigmenge kleiner aus. Eine Serie von 16 Honigproben, die *Langer* von einer Honighandlung zur Untersuchung überlassen wurden, und über deren Zusammensetzung er sich nicht weiter orientieren konnte, lieferten zum Teil Niederschlagsmengen, wie sie bei den echten Bienenhonigen auftraten, andere ergaben wesentlich geringere Präzipitate. Nach *Langers* Ansicht handelt es sich bei diesen Honigen mit den kleineren Präzipitatemengen um Mischhonige oder um sogenannte Fütterungshonige. Der Genannte weist dann noch darauf hin, dass bei erhitzten Bienenhonigen, bei Honigen aus unverdeckten Waben und bei Fütterungshonigen das Sediment weniger mächtig ausfalle als bei normalen Bienenhonigen, während sogenannte Stampfphonige im allgemeinen stärkere Präzipitate geben dürften, als Schleuderhonige, da durch das Zerdrücken von Brut und Bienen der Eiweissgehalt vermehrt werde.

Von den verschiedenen Materialien (Honigeiweiss, Bienenleiber und «Bienenbrot-Eiweiss») die *Langer* zur Immunisierung von Kaninchen benützte, erwiesen sich die Eiweisseextrakte aus dem sogenannten Bienenbrot zur Erzeugung von Antihonigseris am günstigsten. Da diese Substanz hauptsächlich aus Pollen besteht, so könnte vermutet werden, es seien die Eiweisse, die aus den Pflanzen in den Honig gelangen, welche als Antigene funktionieren. Wie *Langer* aber nachgewiesen hat, ist das nicht der Fall, sondern es dürften lediglich die aus dem Honigmagen der Biene stammenden, also tierische Eiweisse, die Immunkörperbildung veranlassen. Es muss demnach ein Honig den Honigmagen der Biene passiert haben, um mit einem Antihonigserum die Präzipitinreaktion geben zu können. Dieser Nachweis ist von grosser Wichtigkeit. Waren es pflanzliche Eiweisse des Honigs gewesen, die die Antikörperbildung auslösten, so würde sehr wahrscheinlich die Verwendbarkeit dieser Reaktion eine fragliche gewesen sein, da die Bienen der verschiedenen Länder sehr verschiedene Pflanzen zum Pollen- und Nektarsammeln benützen.

Es ist einleuchtend, dass ein solches Verfahren, wenn es sich als zuverlässig erwies, von grosser Bedeutung für die Nahrungsmittelkontrolle sein musste. Schien doch damit endlich ein sicheres Beurteilungsmoment für Honig gefunden worden zu sein.

*Langer* ist nach unserem Wissen der Erste, der versucht hat, die Präzipitinreaktion in der Weise zu verwerten, dass aus der genau ermittelten Menge des Präzipitates auf die Zusammensetzung des Produktes geschlossen werden kann. Bisher diente die Präzipitinreaktion hauptsächlich nur zu qualitativen Untersuchungen. Die Anwendung eines quantitativen serologischen Verfahrens bei Honiguntersuchungen setzt ein genaues Studium des Verhaltens der beiden Komponenten, Antihonigserum und Honiglösung, bei der Reaktion voraus. Erst wenn diese Fragen gelöst sind und eine gewisse Gesetzmässigkeit bei der Bildung der Präzipitatemengen sich ergeben hat, kann an die weiteren Aufgaben der Ausarbeitung einer den praktischen Bedürfnissen Rechnung tragenden Methode herangetreten werden. Bei näherem Studium der *Langer'schen* Arbeit stösst man gelegentlich auf Befunde, die Zweifel darüber erwecken können, ob der Verlauf der Reaktion ein genau quantitativer ist, d. h. ob die Menge des Präzipitates zur Menge und Konzentration der Honiglösung stets in einem bestimmten Verhältnis steht. Dies scheint z. B. nicht bei allen Proben echter Bienenhonige der Fall zu sein. Bei anderen Untersuchungen war hingegen eine Gesetzmässigkeit hinsichtlich der Präzipitate unverkennbar.

Sehr wichtig für die Verwendung der biologischen Reaktion bei Honiguntersuchungen ist auch eine genaue Kenntnis des Verhaltens der Zahlenresultate bei Benützung verschiedener Antisera, ferner über die Anforderungen, die an die Antihonigsera zu stellen sind etc. Eine biologische Methode muss, bevor sie als wirklich brauchbar angesehen werden kann, an einem sehr reichhaltigen Material erprobt worden sein.

Die Aufzählung dieser wenigen Punkte mag genügen, um darauf hinzudeuten, dass es noch vieler Untersuchungen bedarf, bevor das serologische Verfahren als allgemein brauchbar angesehen werden kann.

Unser Laboratorium hat es ebenfalls als in seiner Aufgabe liegend erachtet, die Untersuchungsergebnisse von *Langer* auf umfangreicher Basis nachzuprüfen und wenn möglich weitere Beiträge zur Frage der Verwendbarkeit der Präzipitinreaktion bei Honiguntersuchungen zu liefern.

Nun ist vor kurzem bereits von *Galli-Valerio* und *Bornand*<sup>1)</sup> eine Publikation erschienen, aus der zu entnehmen ist, dass es den beiden Autoren möglich war, mit Honigeiweiss Immunsera zu gewinnen, die in Naturhoniglösungen konstante Niederschlagsmengen lieferten, während bei Honiggemischen, die aus Bienenhonig und Melasse bestanden, die Präzipitate geringer ausfielen und bei Melasse allein keine Reaktion zu beobachten war.

Die nachfolgenden Ausführungen enthalten die Ergebnisse unserer bis-

---

*Galli-Valerio et M. Bornand*, Recherches sur les précipitines du miel. Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie. 1910. VII. Bd. 3. Heft, pag. 331.

herigen Untersuchungen über die erwähnten Fragen. Sie sollen später als Fortsetzung noch erweitert werden.

### Eigene Versuche.

#### I. Die Gewinnung der Antihonigsera.

Das Ziel der vorzunehmenden Arbeiten war naturgemäß in erster Linie darauf gerichtet, möglichst hochwertige und spezifisch reagierende Immunsera gegen Honigweiß zu erzeugen. Als Materialien, aus denen Honigweiß resp. Bieneneiweißextrakte bereitet werden können, kommen in Betracht:

1. Naturhonig,
2. sogenanntes Bienenfutterbrot,
3. Futterbrei aus Weiselzellen und
4. Bienenleiber.

*Langer* hat mit den unter 1, 2 und 4 angeführten Eiweissauszügen gearbeitet und erhielt die wirksamsten Antisera mit dem Bienenfutterbrot. Erst an zweiter Stelle kam das mit Naturhonig hergestellte Serum, während die Bienenleibereextrakte nur geringwertige Sera lieferten. Die Bienenleiberextrakte wurden daher bei unseren Untersuchungen nicht berücksichtigt. Zur Immunisierung dienten ausschließlich Kaninchen.

##### a) mit Honigweiß.

Für die Gewinnung von Honigweißlösungen zur Immunisierung von Tieren wurde die *Langer*'sche Technik befolgt und in folgender Weise verfahren: Ein grösseres Quantum (200—400 g) echter Bienenhonig wird durch Erwärmen leicht flüssig gemacht und während 24 Stunden dialysiert, um den Zucker zu entfernen. Dann werden die Eiweissubstanzen des Dyalisates mit pulverisiertem Ammonsulfat gefällt. Der Niederschlag entsteht gewöhnlich erst nach einiger Zeit. Nach 24- oder 48stündigem Stehen kann er auf ein Filter gebracht werden. Er wird nun in wenig Wasser gelöst und diese Lösung während 24 Stunden dialysiert, um das überschüssige Ammonsulfat wegzubringen. Zum Zwecke der längeren Aufbewahrung versetzt man die nach obigen Angaben gewonnene Honigweißlösung mit 0,5 % Toluol.

Eine Anzahl Kaninchen wurden mit solchen Honigweißlösungen vorbehandelt. Sie ertrugen diese Extrakte sehr gut. Um über den Gang der Immunisierung orientiert zu sein, wurden den Tieren aus der Ohrvene von Zeit zu Zeit Proben von Blut entnommen und das Serum untersucht. Die Vorprüfung dieser Sera erfolgte in der Weise, dass zunächst 10 g eines echten Bienenhonigs in 10 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser gelöst wurden. Von dieser Honiglösung 1 : 1 stellte ich die weiteren Verdünnungen  $\frac{1}{3}$  (1 cm<sup>3</sup> der Lösung 1 : 1 + 2 cm<sup>3</sup> destilliertes Wasser) und  $\frac{1}{6}$  (1 cm<sup>3</sup> der Lösung 1 : 1 + 5 cm<sup>3</sup> destilliertes Wasser) her. Zu je 1 cm<sup>3</sup> der Honigverdünnung  $\frac{1}{3}$  und  $\frac{1}{6}$  kam je 1 cm<sup>3</sup> des zu prüfenden Antiserums und 1 Tropfen Toluol. Zur Aufnahme dieser Mischungen dienten Zentrifugengläser,

deren verengter Teil eine Länge von 40 mm aufwies und dessen Lumen einen Durchmesser von  $1\frac{1}{2}$  mm besass. Nach fünfstündigem Aufenthalt im Brutschrank wurden die Mischungen bei einer Tourenzahl von 1500 pro Minute während 5 Minuten zentrifugiert. Mit einem Millimetermasstab konnte dann die gebildete Präzipitatmenge abgemessen werden.

Im nachfolgenden sollen einige Versuchsprotokolle wiedergegeben werden, die über die Manipulationen zur Erzeugung von Immunseris und die dabei erhaltenen Resultate Aufschluss geben.

*1. Kaninchen braunweiss, mit Wiesenhonigeiweiss vorbehandelt.*

27. V. 10 = 5,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 2. VI. 10 = 7,0 » » »  
 8. VI. 10 = 10,0 » intraperitoneal »  
 14. VI. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 3,5 mm Schichthöhe,  
 $\frac{1}{6}$  Verd. =  $2\frac{1}{2}$  mm.  
 15. VI. 10 = 15,0 cm<sup>3</sup> intraperitoneal injiziert.  
 21. VI. 10 = 15,0 » » »  
 27. VI. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 2,5 mm,  $\frac{1}{6}$  Verd. =  
 3,0 mm.  
 28. VI. 10 = 12,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 4. VII. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 1,5 mm,  $\frac{1}{6}$  Verd. =  
 4,5 mm.  
 5. VII. 10 = 7,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 12. VII. 10 = 15,0 » »  
 18. VII. 10 = Tier geschlachtet.

*2. Kaninchen grauweiss, mit Wiesenhonigeiweiss vorbehandelt.*

27. V. 10 = 5,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 2. VI. 10 = 7,5 » » »  
 8. VI. 10 = 10,0 » » »  
 14. VI. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = Spur,  $\frac{1}{6}$  Verd. = 0.  
 15. VI. 10 = 15,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 21. VI. 10 = 13,0 » » »  
 27. VI. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 4,0 mm,  $\frac{1}{6}$  Verd. =  
 7,0 mm.  
 28. VI. 10 = 12,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 4. VII. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 2,5 mm,  $\frac{1}{6}$  Verd. =  
 4,0 mm.  
 5. VII. 10 = 5,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 15. VII. 10 = 8,0 » » »  
 18. VII. 10 = Tier geschlachtet.

*3. Kaninchen grau, mit Waldhonigeiweiss vorbehandelt.*

27. V. 10 = 5,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 2. VI. 10 = 7,0 » » »

8. VI. 10 = 10,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 14. VI. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  = Spur,  $\frac{1}{6}$  Verd. = Spur.  
 15. VI. 10 = 5,0 cm<sup>3</sup> intravenös injiziert.  
 21. VI. 10 = 10,0 » » »  
 27. VI. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 5,0 mm,  $\frac{1}{6}$  Verd. = 4,0 mm.  
 28. VI. 10 = 10,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 4. VII. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 8,0 mm,  $\frac{1}{6}$  Verd. = 8,0 mm.  
 5. VII. 10 = Tier geschlachtet.  
*4. Kaninchen grauweiss, rot gezeichnet, mit Waldhonigeiweiss vorbehandelt.*  
 27. V. 10 = 5,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 2. VI. 10 = 7,0 » » »  
 8. VI. 10 = 10,0 » intraperitoneal injiziert.  
 14. VI. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = Spur,  $\frac{1}{6}$  Verd. = 0,5 mm.  
 15. VI. 10 = 5,0 cm<sup>3</sup> intravenös injiziert.  
 21. VI. 10 = 15,0 » subcutan »  
 27. VI. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 2,0 mm,  $\frac{1}{6}$  Verd. = 9,0 mm.  
 28. VI. 10 = 11,0 cm<sup>3</sup> subcutan injiziert.  
 4. VII. 10 = Blutentnahme; Reaktion =  $\frac{1}{3}$  Verd. = 2,0 mm,  $\frac{1}{6}$  Verd. = 7,0 mm.  
 5. VII. 10 = 5,5 cm<sup>3</sup> intravenös injiziert.  
 12. VII. 10 = 15,0 » subcutan »  
 18. VII. 10 = Tier geschlachtet »

Wie aus diesen Beispielen hervorgeht, ist die Herstellung hochwertiger präzipitierender Honig-Sera mit Honigeiweisslösungen nicht ganz einfach. Sie hängt in hohem Masse von der Individualität des Tieres ab. In den vorliegenden Fällen lieferten die mit Waldhonig vorbehandelten Kaninchen, die bei der ersten Blutentnahme auf Honigeiweiss nur schwach reagierten, während das Serum des mit Wiesenhonigeiweiss immunisierten Kaninchens « braunweiss » schon verhältnismässig voluminöse Niederschläge bildete, schliesslich doch etwas hochwertigere Antihonigsera, als die « Wiesenhonigtiere ».

Vielfach wiesen die stärkeren Honigverdünnungen  $\frac{1}{6}$  grössere Präzipitatemengen auf, als die konzentrierten Honiglösungen  $\frac{1}{3}$ , was auf den hemmenden Einfluss der stärkeren Zuckerkonzentration in den  $\frac{1}{3}$  Verdünnungen zurückzuführen ist (Langer). Die geringe Gesetzmässigkeit, welche die Zahlen, die bei diesen Versuchen erhalten wurden, zeigten, dürften, zum Teil wenigstens, auf Ungenauigkeiten der Zentrifugengläser zurückzuführen sein, indem die Kapillaren, in denen die gebildeten Niederschlagsmengen abgemessen wurden, anfänglich nicht bei allen Gläsern genau gleiche Durchmesser besassen.

b) Mit sogenanntem Bienenbroteiweiss.

«Bienenbrot» nennt der Bienenzüchter in vielen Gegenden, den um die Brutwabe herum abgelagerten Blütenstaub. Beim Sammeln und Ablagern des Pollens (Blütenstaubes) in die Waben wird dieser mit den Sekreten aus dem Bienenmagen durchtränkt und erhält so die Eigenschaften, die ihn, wie *Langer* gezeigt hat, für die Immunisierung zur Erzeugung von Honigantisera besonders geeignet machen. Er soll nach diesem Autor bedeutend eiweissreicher sein als der eigentliche Bienenhonig.

Wie beim Honig, so müssen auch beim Bienenbrot die Eiweissubstanzen, die für die Vorbehandlung der Tiere dienen, ausgesalzen und in Lösung gebracht werden. Da das Pollenmaterial eine trockene, fettige Konsistenz besitzt, ist es angezeigt, dasselbe im Mörser mit Glasstaub und angewärmtem Wasser zu verreiben. Nach dem Filtrieren dieser Lösung fällt man mit Ammonsulfat aus. Die weiteren Manipulationen bleiben die gleichen, wie wir sie bereits bei der Gewinnung der Eiweisslösungen aus Bienenhonig kennen gelernt haben. Mit derartig gewonnenen Eiweissextrakten aus Bienenbrot wurden ebenfalls eine Anzahl von Kaninchen immunisiert. Auch diese Lösungen ertrugen die Tiere sehr gut. Die Injektionen erfolgten zum Teil intraperitoneal, zum Teil subcutan in Zwischenräumen von 1—5 Tagen. Durch von Zeit zu Zeit vorgenommene Probeblutentnahmen aus der Ohrvene wurde der Verlauf der Antikörperbildung verfolgt. Die für die Vorprüfung der Antisera verwendeten Honiglösungen wurden in ähnlicher Weise bereitet, wie sie *Langer* für die eigentlichen Honiguntersuchungen benutzte. Anstatt die dialysierten Honiglösungen auf  $30 \text{ cm}^3$  aufzufüllen, war ich gezwungen, die O-Dialysate auf  $40 \text{ cm}^3$  zu verdünnen, weil es vorkam, dass die anfänglich  $10 \text{ cm}^3$  betragenden Honiglösungen durch das Dialysieren auf über  $30 \text{ cm}^3$  angewachsen waren. Meine Honigverdünnungen entsprachen daher ungefähr folgenden Konzentrationsgraden:  $O = 15\%$ ,  $\frac{1}{5}O = 3\%$ ,  $\frac{1}{10}O = 1,5\%$ . Ferner benutzte ich Zentrifugengläser, deren Lumen einen Durchmesser von nur mehr 1 mm besass.

Ueber das Verhalten der Sera während der Immunisierung der Tiere mit Eiweisslösungen aus Bienenbrot gibt Tabelle I Aufschluss.

Diese Versuche bestätigen die *Langer'schen* Ergebnisse, wonach Bienenbroteiweisslösungen zur Erzeugung hochwertiger Antihonigsera besonders sich eignen, im vollen Umfange. Von den 5 vorbehandelten Kaninchen lieferten alle schon nach 5 Injektionen Sera, die mit Bienenhoniglösungen sehr starke Präzipitate bildeten. Von Interesse bei diesen Resultaten ist ferner, dass namentlich 4 der Immunsera in der Wertigkeit einander sehr nahe standen.

**Tabelle I.**

Kaninchen 1, 2 und 3 erhielten am 2. XI. 10 je 5, am 3. XI. 10 je 10, am 4. XI. 10 je  $15 \text{ cm}^3$  Bienenbroteiweisslösung intraperitoneal, am 16. XI. und am 21. XI. je  $10 \text{ cm}^3$  der gleichen Lösung subcutan. Kaninchen 4 und 5 wurden injiziert am 7. XI. 10 mit je 5,

am 9. XI. 10 mit je 10 und am 10. XI. 10 mit je 15 cm<sup>3</sup> Honigeiweisslösung, dann am 21. und 23. XI. 10 mit je 10 cm<sup>3</sup> Bienenbroteiweisslösungen, alle intraperitoneal.

Serum von Kaninchen	Blutentnahme: bei 1, 2 u. 3 15. XI. 10		Blutentnahme: bei 1, 2 u. 3 25. XI. 10	
	> > 4 u. 5 21. XI. 10		> > 4 u. 5 29. XI. 10	
	Honiglösung		Honiglösung	
	15 %	3 %	15 %	3 %
1. grau . . . . .	Spur	0	38,0 mm <sup>1)</sup>	8,5 mm
2. gelbweiss . . . .	10,0 mm	4,5 mm	38,0 »	8,5 »
3. hellgrau . . . .	Spur	Spur	35,0 »	4,5 »
4. grauweiss dunkel	Spur	1,5 mm	40,0 »	8,5 »
5. grauweiss hell . .	1,5 mm	1,5 mm	40,0 »	11,0 »

### c) Mit Futterbreieiweiss aus Weiselzellen.

In den Königinnenzellen der Bienenvölker findet sich während der Entwicklung der jungen Königin oft in verhältnismässig grossen Mengen eine weissliche, breiartige Masse.<sup>2)</sup> Sie dient dem jungen Weisel als Nahrung. Dieser Futterbrei reagiert deutlich sauer. Lösungen davon geben bei der Salpetersäurekochprobe voluminöse Fällungen, woraus zu schliessen ist, dass es sich hier um ein eiweissreiches Material handelt.

Zirka 12 cm<sup>3</sup> solchen Futterbreies aus Weiselzellen wurden in der zehnfachen Menge destillierten Wassers gelöst, dann klar filtriert und das Filtrat mit 1 cm<sup>3</sup> Toluol versetzt, um es längere Zeit unverändert aufbewahren zu können. Diese Futterbreilösung diente nun zur Immunisierung von 7 Kaninchen. Die Injektionen mit dem wässrigeren Extrakte erfolgten intravenös. Mit einer Dosis von 0,5 cm<sup>3</sup> pro Tier wurde begonnen und diese in 5—6 tägigen Intervallen allmählig auf 3 respektive 5 cm<sup>3</sup> gesteigert. Nach der 3. eventuell 4. und nach der 5. eventuell 6. Einspritzung wurden die Sera der vorbehandelten Tiere geprüft. Die Technik für die Vorprüfung war die gleiche wie früher bei der Prüfung der Sera von Tieren, die mit Bienenbroteiweisslösungen behandelt wurden.

In Tabelle II (Seite 88) finden sich die Ergebnisse, die über den Verlauf der Immunisierung mit Futterbreilösungen Aufschluss geben, zusammengestellt.

Aus dieser Uebersicht ist zu entnehmen, dass Futterbreilösungen im Tierkörper eine sehr rasche und intensive Antikörperproduktion auszulösen vermögen. Die Präzipitatemengen, die bereits bei der ersten Prüfung dieser Sera mit Naturhoniglösungen eintraten, waren durchschnittlich bedeutend mächtiger als in den früheren Versuchen mit Honigeiweiss- und Bienenbroteiweisslösungen. Auch bei der späteren zweiten Prüfung erwiesen sich die

<sup>1)</sup> Schichthöhe des Präzipitates.

<sup>2)</sup> Die Gewinnung von Futterbrei aus Weiselzellen ist mit grossen Schwierigkeiten verbunden, da die Bienen sich gegen derartige Eingriffe zur Wehre setzen. Herr Leuenberger, Präsident des bernischen Bienenzüchtervereins, hat mit vieler Mühe uns das fragliche Material verschafft, wofür ich ihm auch an dieser Stelle bestens danke.

**Tabelle II.**

Kaninchen	Blutentnahme nach der 3. eventuell 4. Injektion		Blutentnahme nach der 5. eventuell 6. Injektion		
	Honiglösung		Honiglösung		
	15 %	3 %	15 %	3 %	1,5 %
1. schwarz . . .	7,0 mm	2,5 mm	31,0 mm	6,0 mm	3,0 mm
2. schwarzweiss .	10,0 »	5,0 »	35,0 »	14,0 »	7,0 »
3. hellgrau . . .	9,5 »	5,5 »	za. 40,0 »	29,0 »	14,5 »
4. dunkelgrau . .	3,0 »	2,0 »	33,0 »	11,0 »	5,5 »
5. grauweiss . . .	5,0 »	4,0 »	40,0 »	10,0 »	—
6. grauweiss 2 . .	17,5 »	4,5 »	38,0 »	12,0 »	6,0 »
7. mäusegrau . . .	19,0 »	7,0 »	37,0 »	8,5 »	—

durch Vorbehandlung der Kaninchen mit derartigem Material gewonnenen Immunsera gegenüber den mit anderen Antigenen erzeugten Antihonigseris überlegen, indem sie namentlich in den stärkeren Honigverdünnungen der 3 %igen Lösungen eher voluminösere Präzipitate bildeten.

Geradezu auffallend sind die Zahlenergebnisse für die Niederschlagsmengen der 1,5 %igen und 3 %igen Honigverdünnungen. Genau mit der Abnahme der Honigmenge in der Lösung fällt auch die Präzipitatmenge. In der 15 %igen Honiglösung waren dagegen die Niederschläge gewöhnlich bedeutend kleiner als nach den Mengen, die bei den 3 %igen und 1,5 prozentigen Lösungen erhalten wurden, zu erwarten gewesen wäre. Auf dieses Verhalten soll an anderer Stelle zurückgekommen werden.

Da das biologische Verfahren bei den Honiguntersuchungen quantitative Resultate geben soll, so muss die Wertigkeit eines Antihonigserums genau bekannt sein. Es ist einleuchtend, dass diese Methode nur dann allgemein angewendet werden kann, wenn Antisera mit annähernd gleichem Titer bereitet werden. Auf die Frage nach der Wertigkeit der Honigsera und den an sie zu stellenden Anforderungen gedenke ich in einer weiteren Publikation näher einzutreten.

## II. Prüfung verschiedener für die biologische Honiguntersuchung in Betracht fallender Faktoren.

### a) Beobachtungen über das Verhalten von dialysierten und nicht dialysierten Honigproben.

Langer schreibt vor, die für die biologische Prüfung vorgesehenen Honigproben, ehe sie mit Antihonigserum gemischt werden, während 24 Stunden zu dialysieren, um den Zucker, der auf die Präzipitinreaktion hemmend einwirkt, zu entfernen. Nach Angaben des Genannten eignen sich für diese Zwecke besonders die Dialysierhülsen von Schleicher & Schüll.

Mit solchen Pergamenthülsen ausgeführte Dialysierversuche ergaben aber meistens unbefriedigende Resultate. Gewöhnlich waren die Honigproben nach der angegebenen Zeit, trotzdem die Dialysierhülsen in fliessendem Wasser gehalten wurden, noch ausgesprochen süß. Erst nach 40 und mehr

Stunden konnten Dialysate gewonnen werden, deren Geschmack schwach oder kaum süßlich zu nennen war. Durch das länger andauernde Dialysieren machten sich aber zuweilen andere Uebelstände geltend, wie aus folgendem Beispiel (Tabelle III) ersichtlich ist.

Tabelle III.

Zeitdauer des Dialysierens	Waldhonig			Ungar. Bienenhonig		
	15 %	3 %	1,5 %	15 %	3 %	1,5 %
18 Stunden . . .	7,5 mm	3,0 mm	2,0 mm	5,0 mm	2,5 mm	1,0 mm
40 Stunden . . .	1,5 »	Spur	Spur	2,75 »	1,5 »	1,0 »

Die Lösungen der beiden Honigproben lieferten bei Verwendung des gleichen Antihonigserums nach 40stündigem Dialysieren bedeutend niedrigere Zahlen, als nach 18 Stunden. Es müssen daher durch das längere Dialysieren Eiweissstoffe aus den Lösungen verschwunden sein. Das Zurückgehen der mit dem Antihonigserum reagierenden Substanzen der 40ständigen Dialysate dürfte auf Bakterientätigkeit oder aber auf fehlerhafte Beschaffenheit der Dialysierhülsen zurückzuführen sein, die im letzteren Falle es ermöglichte, dass mit dem Zucker auch Eiweissstoffe die Membran passierten.

Versuche, die mit anderen Marken von Dialyserpapieren vorgenommen wurden, und die nach 24 Stunden Dialysate ergaben, die nicht mehr süß waren, wiesen ebenfalls Mängel auf.

Tabelle IV.

Honigsorte	Verdünnungen der Dialysate resp. der Honiglösungen		
	15 %	3 %	1,5 %
Bienenhonig Nr. 9 dialysiert . . . . .	20,0 mm	3,0 mm	2,0 mm
» » 9 nicht dialysiert . . . . .	26,0 »	5,0 »	2,5 »
» » 14 dialysiert . . . . .	31,0 »	6,0 »	3,0 »
» » 14 nicht dialysiert . . . . .	31,0 »	6,0 »	3,5 »
» » 32 dialysiert . . . . .	30,5 »	5,0 »	3,0 »
» » 32 nicht dialysiert . . . . .	24,0 »	7,0 »	3,0 »
Sog. Backhonig dialysiert . . . . .	1,0 »	0	0
» » nicht dialysiert . . . . .	2,0 »	0	0
» Tafelhonig dialysiert . . . . .	Spur	0	0
» » nicht dialysiert . . . . .	0	0	0
Kontrollen: Antiserum + phys. Kochsalzlösung	0	—	—
» Bienenhonig + normales Kaninchenserum	0	—	—

So wurden, wie dies in Tabelle IV veranschaulicht ist, bei der Prüfung von 5 Honigproben bei den nicht dialysierten Lösungen mit wenigen Aus-

nahmen höhere Zahlen erhalten als bei den dialysierten Honiglösungen. Einzig bei Probe Nr. 32 fand sich bei der nicht dialysierten 15 %igen Verdünnung eine beträchtlich geringere Präzipitatmenge vor als bei dem gleich konzentrierten, dialysierten Material. Dieses Resultat ist sehr wahrscheinlich auf den hemmenden Einfluss des Zuckers zurückzuführen.

Die erwähnten Beispiele zeigen (und sie könnten noch erweitert werden), dass ein Dialysieren der Honigproben für die Vornahme der biologischen Reaktion die Genauigkeit der Resultate *nicht* erhöht, sondern im Gegenteil unter Umständen zu Fehlschlüssen Veranlassung geben kann. Zudem bedeutet die Ausschaltung dieser Manipulation eine wesentliche Zeit- und Arbeitsersparnis.

**b) Das Verhalten des Präzipitates bei Verwendung von verschiedenen Antiserummengen und von Honiglösungen variierender Konzentration.**

Als Ausgangspunkt für die Beurteilung eines Honigs benutzt man nach Langer die Präzipitatmengen, die gebildet werden nach Mischung von 1 cm<sup>3</sup> Antihonigserum mit je 1 cm<sup>3</sup> von 3 verschieden konzentrierten Honiglösungen. Diese Honiglösungen entsprechen ungefähr folgenden Konzentrationsgraden: 0 = 20 %,  $\frac{1}{5}$  O = 4 % und  $\frac{1}{10}$  O = 2 %. Für die Prüfung einer Honigprobe sind daher 3 cm<sup>3</sup> Antiserum erforderlich. Aus den Untersuchungen des Genannten geht nicht hervor, warum die obigen Mischungsverhältnisse gewählt worden sind.

Bevor daher an die Lösung weiterer Fragen herangetreten werden konnte, war es notwendig, sich zunächst über das Verhalten der beiden Substanzen, Antiserum und Honiglösung, bei der Präzipitinreaktion näher zu orientieren. In einer ersten Versuchsserie wurde geprüft, wie sich die Zahlenverhältnisse gestalten, wenn das Antiserum in fallenden Dosen mit bestimmten konstanten Mengen der Honiglösungen in Reaktion tritt. Zur Verwendung kamen eine 15 %ige und eine 3 %ige Lösung von echten Bienenhonigproben. Als Antihonigserum diente ein Serum, das mit Honigeweiss erzeugt worden war. Die Kapillaren der Zentrifugengläser, in denen die Präzipitate gemessen wurden, besassen eine Lichtweite von 1 $\frac{1}{2}$  mm. Je 1 cm<sup>3</sup> dialysierte Honiglösung wurde mit fallenden Mengen (1,0—0,1 cm<sup>3</sup>) Antiserum und einem Tropfen Toluol gemischt, 5 Stunden im Brutschrank gehalten und dann bei einer Tourenzahl von 1500 Touren pro Minute während 5 Minuten zentrifugiert. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle V (Seite 91) enthalten.

Aus dieser Uebersicht geht hervor, dass mit der Abnahme des Antiserums in der Mischung (Honiglösung und Antiserum) gewöhnlich die Präzipitatmenge kleiner wird (Kolonne 3 und 5). Eine Ausnahme davon machte einzig die Antiserumdosis von 0,8 cm<sup>3</sup> bei Wiesenhonig. Die Menge des Niederschlages, die bei der 15 %igen Lösung nach Zusatz von 0,8 cm<sup>3</sup> Antiserum eintrat, war grösser, als nach Zusatz von 1 cm<sup>3</sup>. Und bei der 3 %igen gleichen Honiglösung ergaben 0,8 und 1,0 cm<sup>3</sup> Antiserum gleich grosse Prä-

Tabelle V.

Honigsorte	Antiserummenge	Physiol. Na Cl Lösung	Verdünnungen der Dialysate					
			15 %		3 %		Abgelesen	Auf 1 cm <sup>3</sup> Antiserum berechnet
			Abgelesen	Auf 1 cm <sup>3</sup> Antiserum berechnet	Abgelesen	Auf 1 cm <sup>3</sup> Antiserum berechnet		
Waldhonig	1,0 cm <sup>3</sup>	0 cm <sup>3</sup>	7,5 mm	7,5 mm	3,5 mm	3,5 mm	17,5 mm	
	0,8 »	0,2 »	8,5 »	10,8 »	3,5 »	4,3 »	21,5 »	
	0,5 »	0,5 »	5,25 »	10,5 »	3,0 »	6,0 »	30,0 »	
	0,1 »	0,9 »	0,5 »	5,0 »	0,5 »	5,0 »	25,0 »	
Wiesenhonig	1,0 »	0 »	7,5 »	7,5 »	5,0 »	5,0 »	25,0 »	
	0,8 »	0,2 »	6,5 »	8,1 »	5,5 »	6,8 »	34,0 »	
	0,5 »	0,5 »	4,0 »	8,0 »	3,5 »	7,0 »	35,0 »	
	0,1 »	0,9 »	Spur	—	Spur	—	—	
Franz. Honig	1,0 »	0 »	7,5 mm	7,5 »	4,0 mm	4,0 »	20,0 »	
	0,8 »	0,2 »	5,5 »	6,5 »	4,0 »	5,0 »	25,0 »	
	0,5 »	0,5 »	3,0 »	6,0 »	2,5 »	5,0 »	25,0 »	
	0,1 »	0,9 »	Spur	—	Spur	—	—	

zipitate. Rechnet man aber die mit den verschiedenen Antiserumquantitäten erhaltenen Präzipitate auf 1 cm<sup>3</sup> Antiserum um, so fällt auf, dass die Zahlen wesentlich differieren. Bei den 15 %igen Honiglösungen lieferte durchschnittlich die Antiserummenge von 0,8 cm<sup>3</sup> und bei den 3 %igen diejenige von 0,5 cm<sup>3</sup> die voluminösesten Niederschläge. Aus diesem Verhalten muss demnach geschlossen werden, dass die bei der Präzipitinreaktion wirksamen Körper des Antiserums und der Honiglösung, Antikörper und Antigene, zur Gewinnung von Maximalpräzipitatemengen in gleichen Mengenverhältnissen vorhanden sein müssen. Findet sich die eine Gruppe der reagierenden Körper in der Ueberzahl in der Mischung vor, wie dies z. B. im obigen Versuche bei Verwendung von 1,0 und 0,1 cm<sup>3</sup> Antiserum der Fall war, so verläuft die Reaktion unvollständig, die gebildeten Niederschlagsmengen fallen dann verhältnismässig zu niedrig aus.

Bei näherer Betrachtung der in Tabelle V wiedergegebenen Resultate muss noch ein weiteres Moment auffallen. Vergleicht man nämlich die Zahlen der beiden Honiglösungen miteinander, so stösst man auf grosse Differenzen. Werden bei beiden Serien die mit 0,1 cm<sup>3</sup> Antiserum erhaltenen Resultate weggelassen, weil sie nicht berechnet werden können, so beträgt die Durchschnittspräzipitatmenge der 15 %igen Honiglösungen = 8,0 mm, die der 3 %igen, wenn sie auf 15 %ige Lösungen umgerechnet wird = 25,8 mm. Daraus ist zu folgern, dass in konzentrierten Honiglösungen der Verlauf der Reaktion ein unvollständiger ist, selbst wenn Antigene und Antikörper in proportionalem Verhältnis zur Wirkung gelangen. Da ferner bei den 3 %igen Honiglösungen die Menge der ausgefallenen Präzipitate verhältnismässig zirka dreimal grösser war, trotzdem bei diesen verdünnteren Lösungen der Ueberschuss an Antikörpern ein wesentlich grösserer sein musste, als bei den 15 %igen Honiglösungen, so ergibt sich die weitere

Tatsache, dass die hemmende Wirkung bei den konzentrierten Mischungen hauptsächlich von der Honiglösung ausgeht. Die bei diesen Versuchen benützten Honiglösungen waren während 44 Stunden dialysiert worden. Bei der Geschmacksprobe erwiesen sie sich als kaum mehr süßlich. Es dürfte daher die hemmende Wirkung nicht allein durch den Zucker, sondern auch sehr wahrscheinlich durch die Antigene bedingt sein. Als Ursache des Minderausfalls an Präzipitatmenge bei den 15 %igen Honiglösungen ist neben dem Konzentrationsgrad noch eine weitere Möglichkeit zu berücksichtigen. Es wäre nämlich denkbar, dass die Wertigkeit des Antihonigserums nicht genügt hätte, bei dieser Lösung die grössere Anzahl der sich darin vorfindenden Antigene zu binden. Um sich hierüber ebenfalls Gewissheit zu verschaffen, wurde der folgende Versuch ausgeführt.

Von den im vorigen Versuche (Tabelle V) verwendeten Honiglösungen, die bereits mit je 1 cm<sup>3</sup> Antiserum beschickt gewesen waren (Honigantiserum und Honiglösung), wurde je 1 cm<sup>3</sup> in andere Zentrifugengläser gebracht und neuerdings mit je 1 cm<sup>3</sup> Antihonigserum und 1 Tropfen Toluol gemischt, 5 Stunden im Brutschrank gehalten und dann in üblicher Weise zentrifugiert. Das Ergebnis war folgendes:

**Tabelle VI.**

Honigsorte	Verdünnungen des Dialysates	
	15 %	3 %
Waldhonig . . . . . . . . . . . .	za. 1,0 mm	0
Wiesenhonig . . . . . . . . . . . .	2,5 »	Spur
Französischer Honig . . . . . . . . . .	1,0 »	0

Werden diese Resultate mit 2 multipliziert, da nicht 1 sondern nur mehr 0,5 cm<sup>3</sup> der Honiglösung zur Wirkung gelangte, und addiert man sie ferner zu den früheren Ergebnissen (vide unten)<sup>1)</sup>, so resultieren Zahlen, die bei einem Vergleich mit den auf eine 15 %ige Lösung berechneten 3 %igen Honiglösungen kaum die Hälfte dieser Präzipitatmengen ergeben. Mit aller Deutlichkeit dürfte damit bewiesen sein, dass hauptsächlich der grössere Konzentrationsgrad bei den 15 %igen Honiglösungen den Minderausfall der Präzipitate bewirkte. Dass bei erneuertem Zusatz von Antiserum zu einer schon einmal damit beschickt gewesenen Honiglösung wieder Präzipitate gebildet wurden, röhrt wohl daher, weil durch das nochmalige Mischen mit Serum eine weitere Verdünnung der Honiglösung erfolgte, wodurch infolge des

<sup>1)</sup>

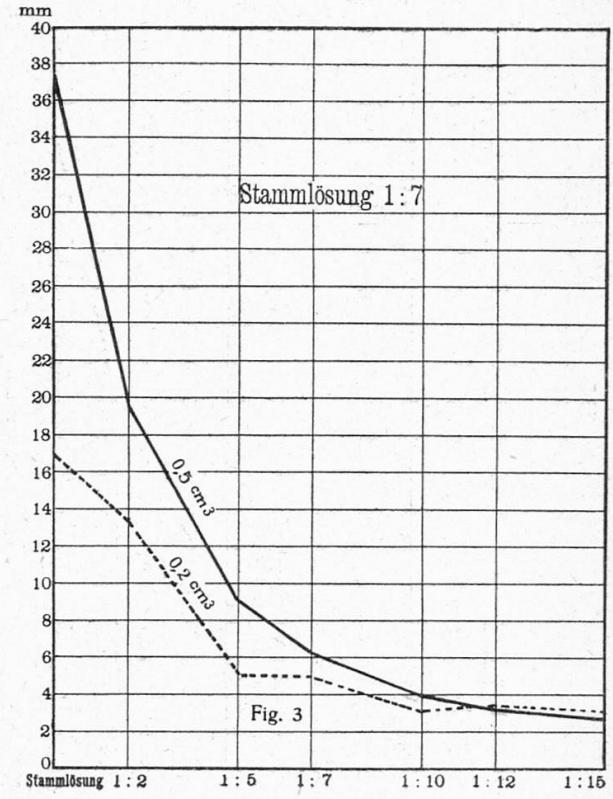
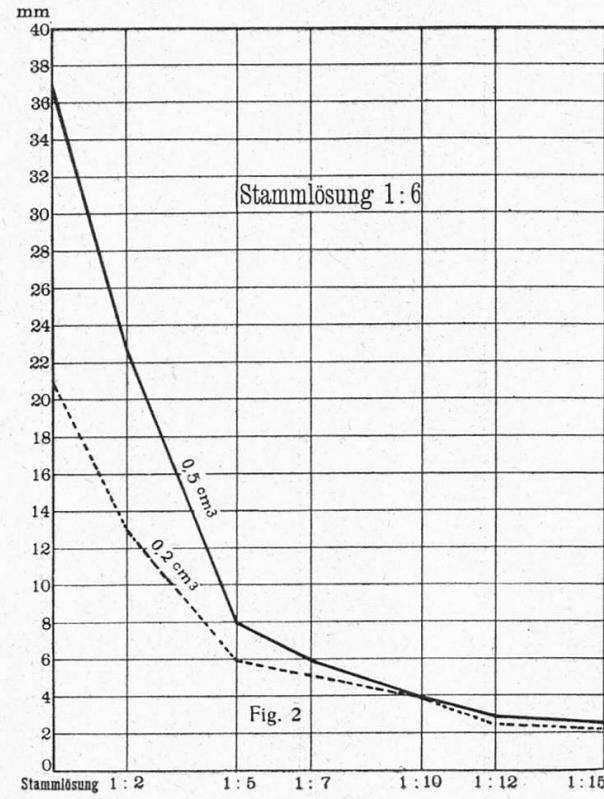
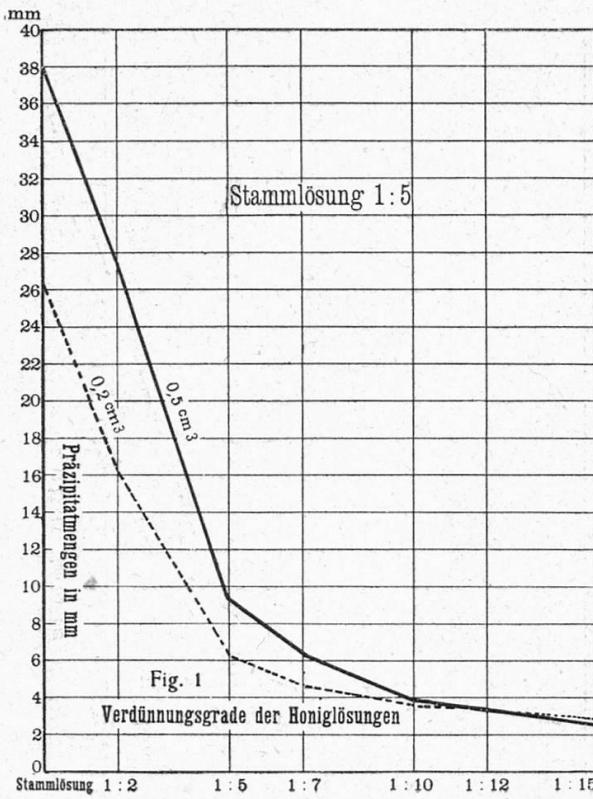
3 %iges Dialysat auf 15 %iges bezogen:

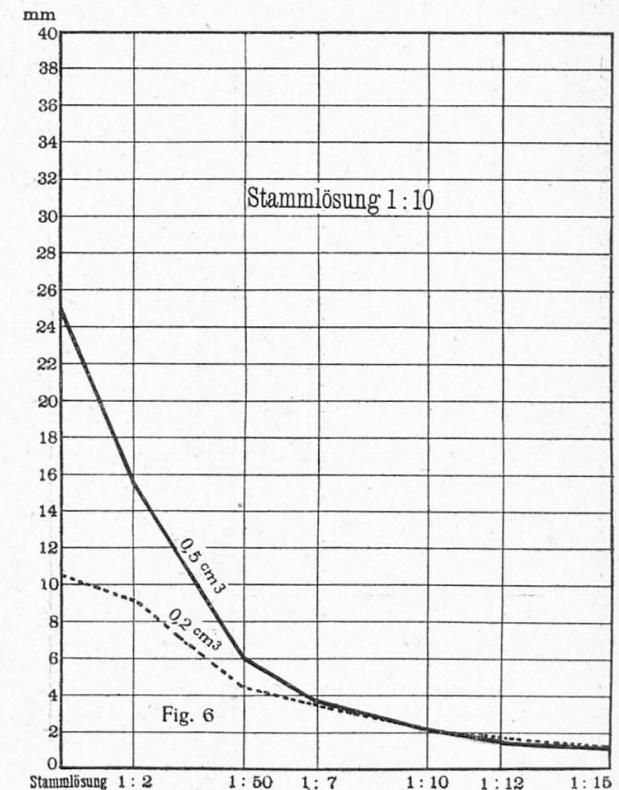
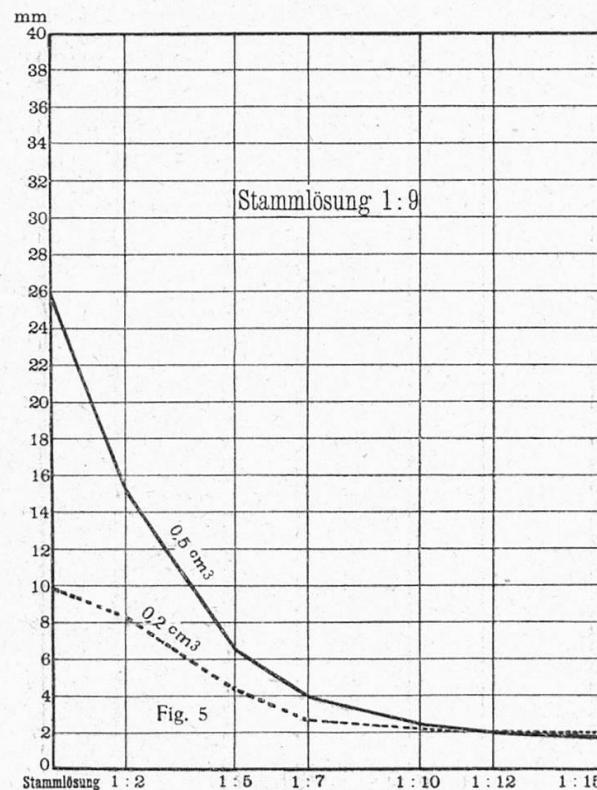
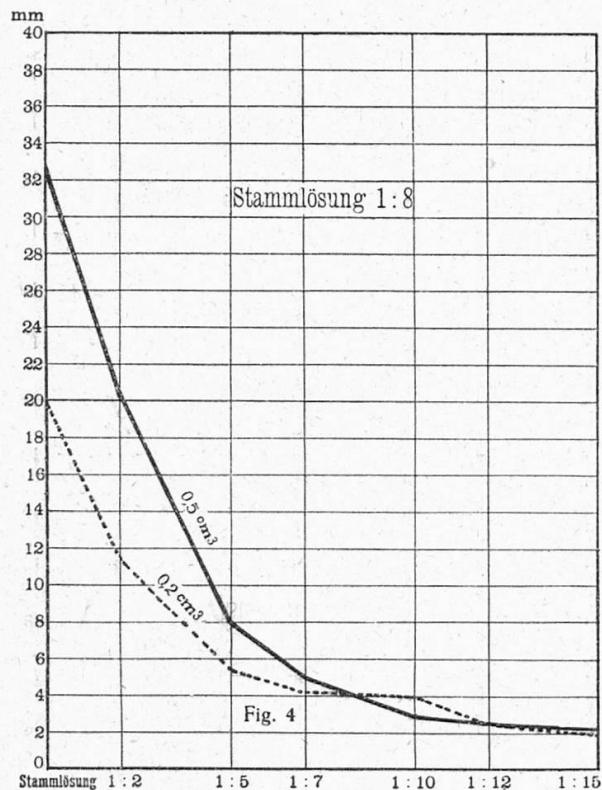
Waldhonig	= 7,5 + 2,0 = 9,5	17,5
Wiesenhonig	= 7,5 + 5,0 = 12,5	25,0
Französischer Honig	= 7,5 + 2,0 = 9,5	20,0

stärkeren Verdünnungsgrades vorher gehemmt gewesene Antigene zur Wirkung gelangten. Umgekehrt hat ein weiterer Versuch gezeigt, dass bei erneutem Zusatz von Honiglösung zu einem bereits einmal verwendeten Antibienenhonigserum keine Niederschläge mehr gebildet werden und demnach die Reaktion restlos verläuft.

Aus diesen Untersuchungen war zu entnehmen, dass neben der Serum-Dosis dem Konzentrationsgrade der Honiglösung eine besondere Wichtigkeit für die Menge der ausfallenden Präzipitate zukommt. Die Antiserummengen von 1,0 und 0,1 cm<sup>3</sup> ergaben mit den 15 %igen und 3 %igen Honiglösungen nicht die höchst möglichen Niederschlagsmengen. Bei einer folgenden Serie von Versuchen sollte nun geprüft werden, bei welchen Konzentrationen der Honiglösungen maximale Präzipitatemengen erhalten werden unter Verwendung von 0,5 und 0,2 cm<sup>3</sup> Antiserum. Grössere Antiserumquantitäten als 0,5 cm<sup>3</sup> zu benützen, ist auch aus dem ferneren Grunde nicht ratsam, weil sonst der Antiserumverbrauch ein sehr grosser würde, namentlich wenn für jede Honigprobe 3 verschiedene Verdünnungen zu beschicken sind. Die zu diesen Versuchen benützten Sera stammten von 2 Kaninchen und waren mit Bienenbroteiweisslösungen erzeugt worden. Für die Bereitung der Honiglösungen wurden aus verschiedenen Gegenden der Schweiz stammende Bienenhonige miteinander gemischt und davon je 10 g in 50, 60, 70, 80, 90 und 100 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser gelöst. Diese 6 verschieden konzentrierten Lösungen bildeten die Stammlösungen. Sie wurden nicht dialysiert. Von ihnen ausgehend stellte ich noch 6 weitere Verdünnungen her. Je 1 cm<sup>3</sup> der Honiglösung wurde mit den oben angeführten Antiserumdosen und 1 Tropfen Toluol gemischt und wie bei den früheren Versuchen behandelt. Die Lichtweite des verengten Teiles der Zentrifugengläser betrug 1 mm. 2 Stammlösungen (1:5 und 1:6, dann 1:7 und 1:8, ferner 1:9 und 1:10) waren stets aus dem gleichen Ursprungsmaterial bereitet worden. Bei 4 (1:5 bis 1:8) von den 6 Versuchsserien kam das gleiche Antiserum zur Verwendung, während für die beiden letzten Serien ein anderes, weniger hochwertiges Immunserum gebraucht wurde. Eine Zusammenstellung der Zahlenresultate findet sich in Tabelle VII, ferner sind diese Ergebnisse in den Figuren 1—14 graphisch dargestellt. Auf der Abszisse sind die Stammlösungen und die aus ihnen bereiteten weiteren Verdünnungen und auf der Koordinate die Präzipitatemengen in mm Schichthöhe aufgetragen. Die ununterbrochene Linie repräsentiert die mit 0,5 cm<sup>3</sup>, die punktierte die mit 0,2 cm<sup>3</sup> Antiserum erhaltenen Präzipitatemengen.

In den Figuren 1—6 wird das Verhalten der direkt ermittelten Präzipitatemengen der 6 Versuchsserien veranschaulicht. Der Verlauf der beiden Kurven zeigt, wie allmählig die Unterschiede in der Menge des Niederschlages der beiden Antiserumdosen kleiner werden, dann verschwinden, und wie zuweilen die höheren Verdünnungen 1:10 bis 1:15 mit der kleineren Antiserumdosis sogar grössere Zahlen liefern als mit 0,5 cm<sup>3</sup>. Vergleicht man die 6 Figuren miteinander, so kann beobachtet werden, wie





**Auf Stammlösung berechnet**

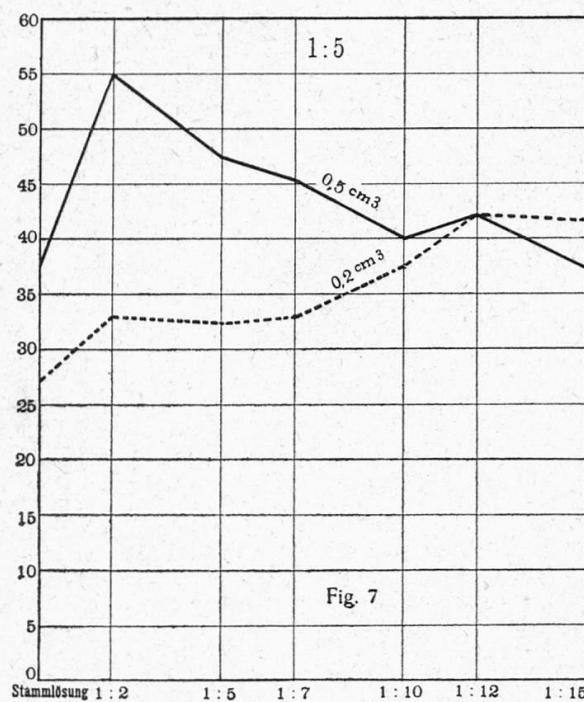


Fig. 7

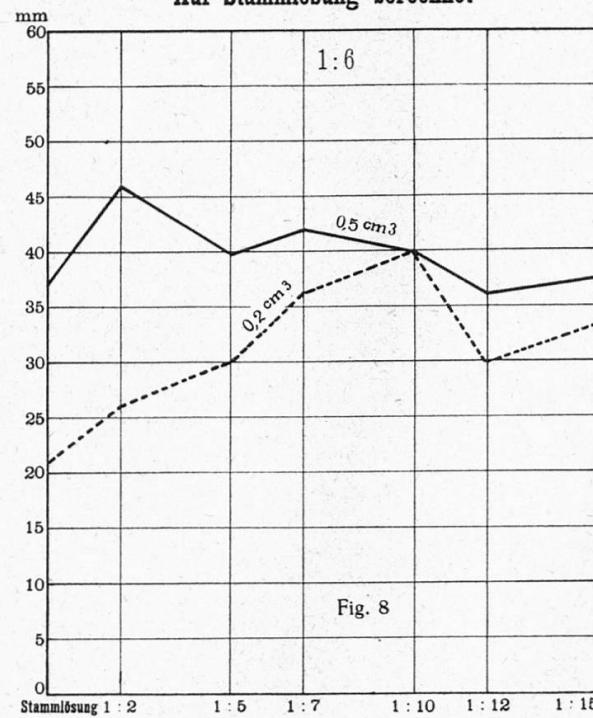


Fig. 8

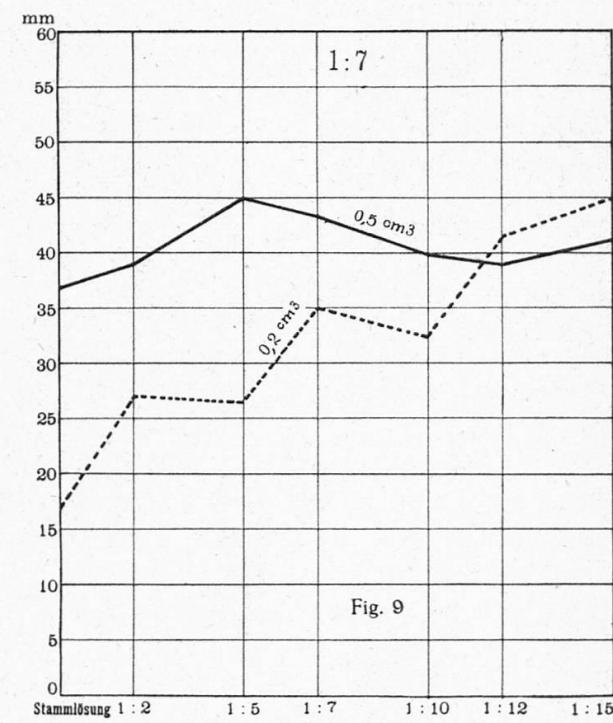
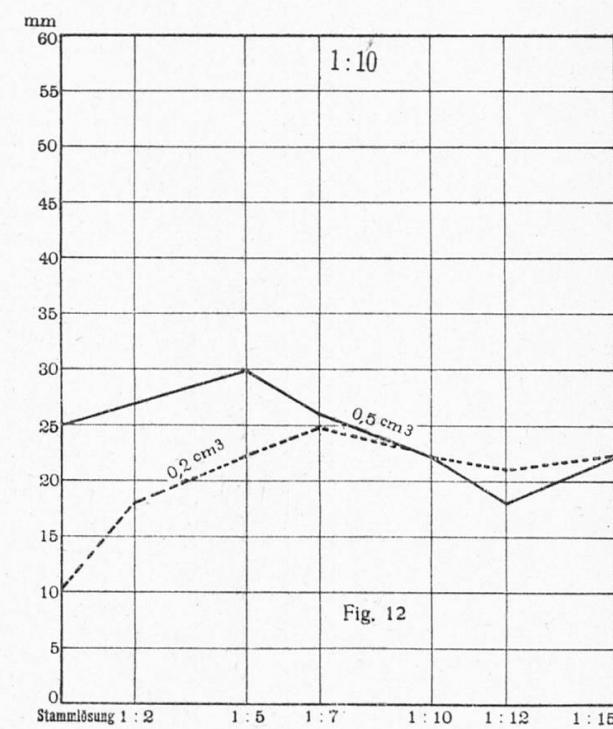
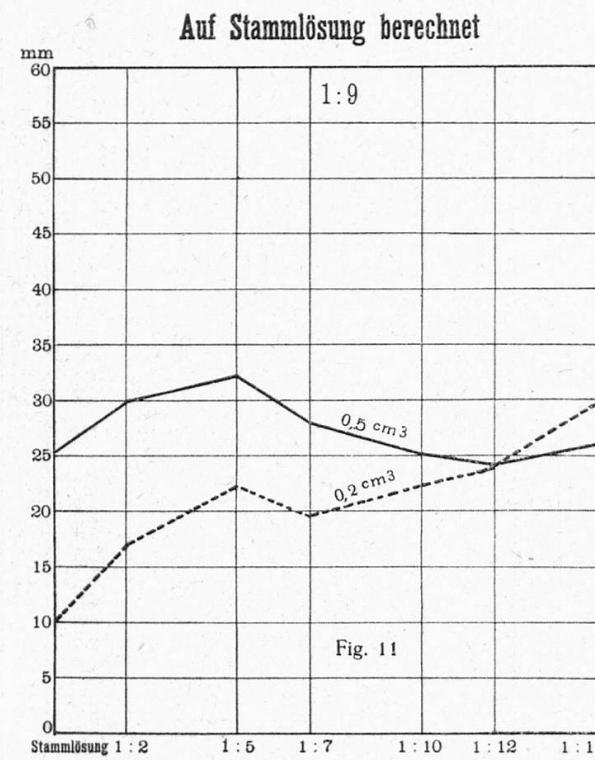
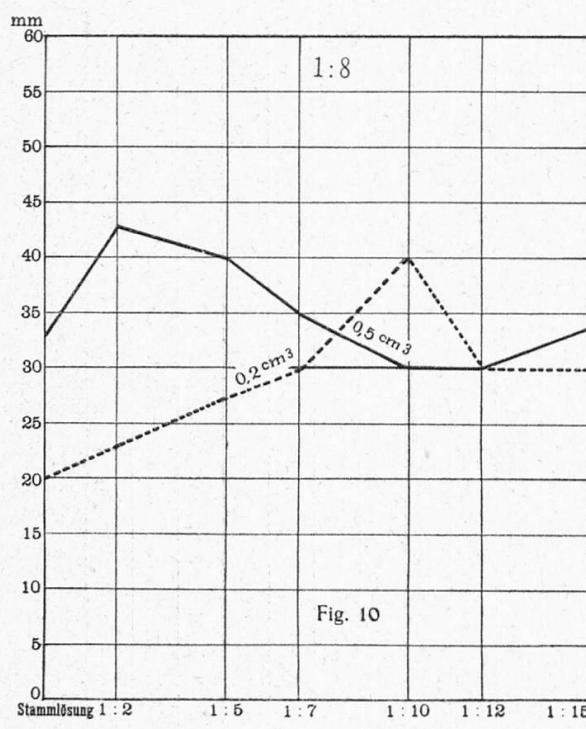
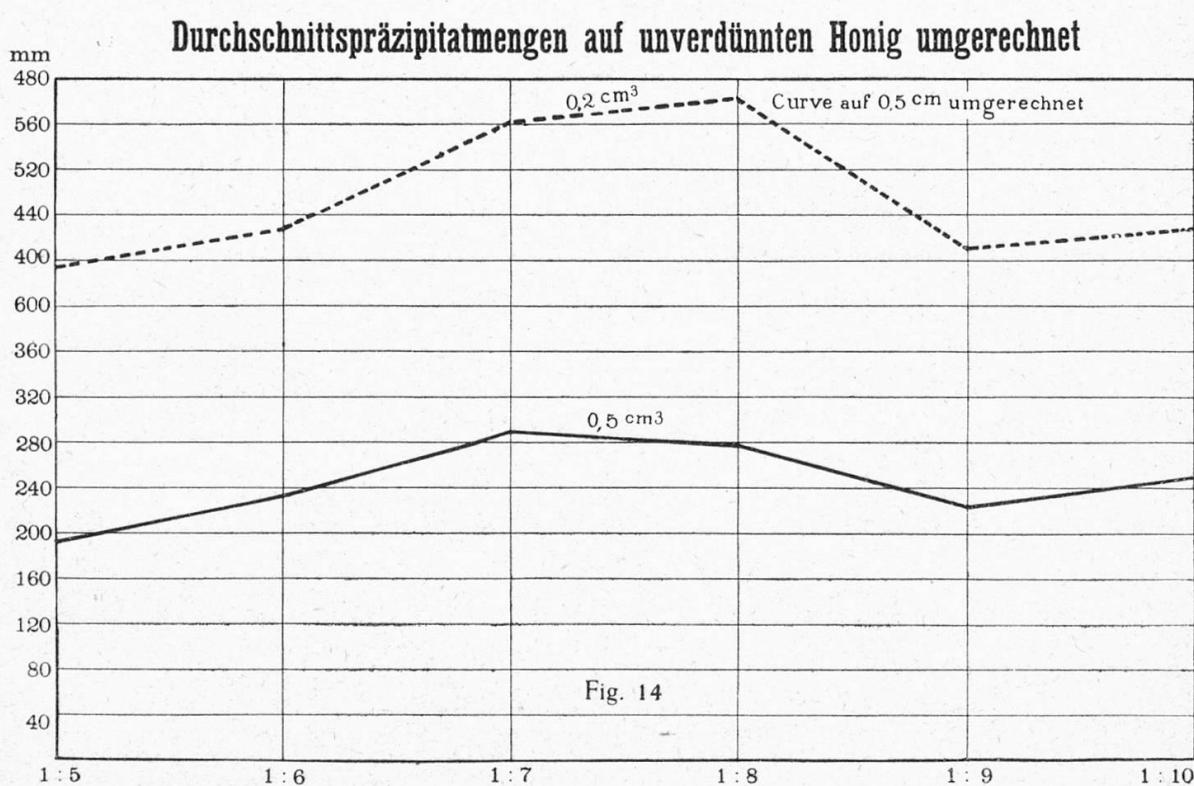
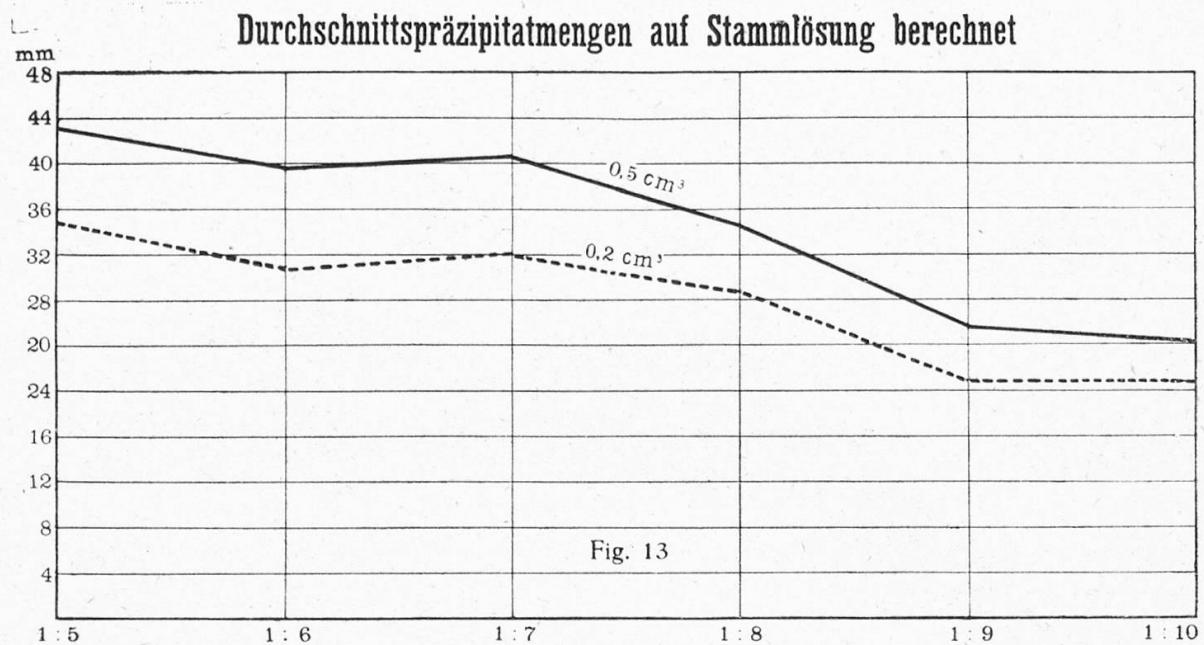


Fig. 9





das Fallen der Kurven mit Zunahme des Verdünnungsgrades der Honiglösungen ein gesetzmässigeres wird.

Bei näherem Studium der Zahlen in Tabelle VII begegnen wir wieder der bereits bekannten Tatsache, dass die Abnahme der Menge des Präzipitates nicht parallel geht mit dem Verdünnungsgrade der Honiglösung, und dass die höchsten Niederschlagsmengen bei einem bestimmten Mischungsverhältnis und Verdünnungsgrad von Antiserum und Honiglösung sich einstellen. In den obigen Beispielen ergab die Antiserumdosis von 0,5 stets bei den konzentrierteren Honiglösungen von 1:2 oder 1:5, die von 0,2 cm<sup>3</sup> bei den höheren Verdünnungen 1:10 oder 1:15 und nur einmal bei 1:7 die grössten Zahlen. Sehr deutlich kommt dieses Verhalten in den Figuren 7—12 der graphischen Darstellungen zum Ausdruck. Diese Kurven wurden erhalten durch Umrechnung der bei den einzelnen Honigverdünnungen ermittelten Präzipitatquanta auf ihre Stammlösungen. Würden die Niederschlagsmengen entsprechend dem Verdünnungsgrade der Honiglösungen abnehmen, so müssten hier genau horizontal verlaufende Linien resultieren. Der Verlauf der 2 Kurven ist ein verschiedener, jedoch kann bei beiden konstatiert werden, dass sie bei den höheren Verdünnungsgraden sich der Horizontalen am meisten nähern. Mit 0,2 cm<sup>3</sup> Antiserum sind die Schwankungen beträchtlicher als mit 0,5 cm<sup>3</sup> Antiserum. Es dürfte das daher röhren, weil das Mischungsverhältnis 1 cm<sup>3</sup> Honiglösung : 0,2 cm<sup>3</sup> Antiserum ungünstiger gewählt ist. Das zuweilen vorkommende nochmalige Ansteigen der Kurven nach Erreichung des Höheoptimums muss auf Versuchsfehler zurückgeführt werden, die entstanden waren z. B. beim Ablesen der Schichthöhe, durch Ungenauigkeiten der Lumina der Zentrifugengläser etc. Genauer und den wirklichen Verhältnissen entsprechender fallen indessen die Resultate aus, wenn die Durchschnittszahlen einer Versuchsserie berechnet werden. Diese Angaben finden sich ebenfalls in Tabelle VII angeführt, und in Figur 13 sind sie graphisch verwertet. Wie schon eingangs bei Besprechung dieser Versuchsanordnung bemerkt worden ist, sind theoretisch miteinander vergleichbar die Resultate der verschiedenen Verdünnungen von den Stammlösungen 1:5 und 1:6, dann von 1:7 und 1:8 und endlich von 1:9 bis 1:10, weil nur bei diesen jeweilen die gleiche Honigsorte und das gleiche Antiserum benutzt worden sind. Allerdings wurde bei den ersten 4 Serien 1:5 bis 1:8 das gleiche Antiserum gebraucht, auch dürften die Honiglösungen nicht wesentlich differieren, weil stets echte Bienenhonige in Mischung Verwendung fanden. Der Verlauf der Kurven (Figur 13) ist hier ein viel gleichmässigerer und beinahe paralleler. Zunächst beobachtet man bei beiden Kurven ein schwaches Abfallen von 1:5 zu 1:6, dann wieder ein Ansteigen von 1:6 zu 1:7. Die Durchschnittspräzipitatemengen bei den Honiglösungen 1:7 waren also grösser als diejenigen bei 1:6, trotz dem höheren Verdünnungsgrade der Honiglösungen 1:7. Es ist dies einsteils bedingt durch die günstigeren Mischungsverhältnisse bei den Lösungen von 1:7 und möglicherweise auch dadurch, dass für die Honiglösungen 1:6 und

Tabelle VII.

Verdünnungen der Honig- lösungen	Stammlösung 1 : 5				Stammlösung 1 : 6				Stammlösung 1 : 7				Stammlösung 1 : 8				Stammlösung 1 : 9				Stammlösung 1 : 10			
	Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge		Antiserummenge			
	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung	abgelesen	berechnet auf Stammlösung		
	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>		
	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2
	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm																	
Stammlösung	38,0	26,5	38,0	26,5	37,0	21,0	37,0	21,0	37,0	17,0	37,0	17,0	33,0	20,0	33,0	20,0	25,5	10,0	25,5	10,0	25,0	10,5	25,0	10,5
1 : 2	27,5	16,5	55,0	33,0	23,0	13,0	46,0	26,0	19,5	13,5	39,0	27,0	20,5	11,5	43,0	23,0	15,0	8,5	30,0	17,0	13,5	9,25	27,0	18,5
1 : 5	9,5	6,5	47,5	32,5	8,0	6,0	40,0	30,0	9,0	5,25	45,0	26,25	8,0	5,5	40,0	27,5	6,5	4,5	32,5	22,5	6,0	4,5	30,0	22,5
1 : 7	6,5	4,75	45,5	33,25	6,0	5,25	42,0	36,75	6,25	5,0	43,75	35,0	5,0	4,25	35,0	29,75	4,0	2,75	28,0	19,25	3,75	3,5	26,2	24,5
1 : 10	4,0	3,75	40,0	37,5	4,0	4,0	40,0	40,0	4,0	3,25	40,0	32,5	3,0	4,0	30,0	40,0	2,5	2,25	25,0	22,5	2,25	2,25	22,5	22,5
1 : 12	3,5	3,5	42,0	42,0	3,0	2,5	36,0	30,0	3,25	3,5	39,0	42,0	2,5	2,5	30,0	30,0	2,0	2,0	24,0	24,0	1,5	1,75	18,0	21,0
1 : 15	2,5	2,75	37,5	41,25	2,5	2,25	37,5	33,75	2,75	3,0	41,25	45,0	2,25	2,0	33,75	30,0	1,75	2,0	26,25	30,0	1,25	1,25	22,5	22,5
Durchschnittspräzipitatmenge .	—	—	43,6	35,1	—	—	39,7	31,0	—	—	40,5	32,1	—	—	34,9	28,6	—	—	25,8	20,7	—	—	24,4	20,2
Auf unverdünnte Honigproben u. 0,5 cm <sup>3</sup> Antiserum bezogen	—	—	218,0	438,7	—	—	238,2	465,0	—	—	284,9	561,7	—	—	279,2	572,0	—	—	232,2	465,7	—	—	244,0	505,0

1:7 nicht genau die gleichen Honigproben benutzt worden waren. Bei den weiteren Verdünnungen, von 1:7 hinweg, fallen die beiden Kurven annähernd gleichmäßig. Der Abstieg von 1:8 zu 1:9 ist jedoch steiler als früher, was auf die Verwendung eines anderen Antiserums zurückzuführen ist. Gestützt auf die Ergebnisse innerhalb einer Versuchsserie dürfte nach Erreichung der Maximalniederschläge der Rückgang des Präzipitates in den weiteren Verdünnungen ein ganz allmäßlicher sein. Aus der Distanz der beiden Kurven geht prägnant hervor, dass die kleinere Antiserumdosis von 0,2 cm<sup>3</sup> verhältnismäßig grössere Präzipitatquanta ergab. Noch in die Augen springender wird indessen dieses Verhalten, wenn die Durchschnittspräzipitatemengen, die bei den verschiedenen Stammlösungen erhalten wurden, auf unverdünnten Honig und die mit 0,2 cm<sup>3</sup> Antiserum eruierten Zahlen auf eine Antiserumdosis von 0,5 cm<sup>3</sup> umgerechnet werden (siehe Figur 14). Es kommt hier plötzlich die 0,2 cm<sup>3</sup>-Antiserumkurve über diejenige von 0,5 cm<sup>3</sup> zu liegen. Aus den Abständen der beiden Kurven ergibt sich ferner, dass die Antiserumdosis von 0,2 cm<sup>3</sup> verglichen mit derjenigen von 0,5 cm<sup>3</sup> etwa doppelt so grosse Niederschlagsmengen ergeben würde als sie mit 0,5 cm<sup>3</sup> tatsächlich erhalten worden sind. Aus dem Verlauf der beiden Kurven geht auch die Antwort hervor auf unsere Frage, bei welchen Konzentrationsgraden der Honiglösungen mit 0,5 und 0,2 cm<sup>3</sup> Antiserum Maximalpräzipitatemengen auftreten werden. Es ist dies, gestützt auf die Berechnungen der Durchschnittsergebnisse bei den einzelnen Stammlösungen bezogen auf unverdünnten Honig für 0,5 cm<sup>3</sup> die Stammlösung von 1:7, für 0,2 cm<sup>3</sup> diejenige von 1:8.

In Figur 14 zeigen beide Kurven von 1:9 zu 1:10 wieder ein Ansteigen. Ohne Zweifel steht dieses Verhalten im Zusammenhange mit der Verwendung eines schwächeren Antihonigserums bei diesen Versuchsserien. Je nach der Wertigkeit eines Antiserums muss sich die Präzipitatkurve ändern und zwar in der Weise, dass mit der höheren Wertigkeit eines Serums die maximalen Niederschlagsmengen bei konzentrierteren Honiglösungen eintreten.

Aus den obigen Untersuchungen lassen sich nun eine Reihe wichtiger Ergebnisse über die Frage der Verwendbarkeit der quantitativen Präzipitinreaktion ableiten.

Wir haben gesehen, dass die Hauptfaktoren, die bestimend auf den Ausfall des Präzipitates wirken, sind:

Konzentrationsgrad und Menge der Honiglösung,  
Wertigkeit und Menge des Antibienenhonigserums.

Bei der Einwirkung einer gleichbleibenden Dosis des gleichen Antiserums auf verschieden konzentrierte Honiglösungen nahm die Menge des Präzipitates mit dem Konzentrationsgrade der Honiglösung ab. Dieses Zurückgehen des Präzipitates war aber erst von einem bestimmten Verdünnungsgrade der Honiglösung hinweg ein annähernd gesetzmässiges. Mit dem Nach-

weis, dass es möglich ist, durch geeignete Mischungsverhältnisse von Honiglösung und Antiserum Präzipitate zu erhalten, die zur Honigmenge in einem bestimmbaren Verhältnis stehen, dürfte auch der Beweis erbracht sein, dass die Präzipitinreaktion für quantitative Bestimmungen bei Honiguntersuchungen brauchbar ist.

Wie aus den vorliegenden Untersuchungen weiter zu entnehmen war, wird das Präzipitat dann gesetzmässig zur Honigmenge gebildet, wenn die die Reaktion eingehenden Körpergruppen des Antiserums und der Honiglösung in proportionalem Verhältnis und in hohen Verdünnungen zur Wirkung gelangen. Diesem Verhalten ist daher bei der Wahl der Mischungsverhältnisse besonders Rechnung zu tragen. Es fragt sich nun, wie dies für die Honiguntersuchungen am zweckmässigsten zu geschehen hat. Zum voraus sei bemerkt, dass eine genaue Einstellung der Präzipitogene (fällbaren Substanzen) und Präzipitinen (fällende Substanzen) sehr umständlich wäre. Da gezeigt worden ist, dass besonders die hemmende Wirkung sich bei den konzentrierten Honiglösungen geltend machte, während ein Ueberschuss von Präzipitinen auf die biologische Reaktion weniger ungünstig wirkte, so dürfte es für die praktischen Bedürfnisse genügen, die Mischungsverhältnisse von Präzipitinen und Präzipitogenen so zu wählen, dass man sicher sein kann, einen Ueberschuss von Präzipitinen zu haben. Bei unseren Versuchen fiel das Präzipitat mit hochwertigen Antiseris bei den 14%igen und mit den schwächeren Antiseris erst bei den 12%igen Honiglösungen annähernd gesetzmässig aus. Es dürfte sich daher empfehlen, für die eigentliche Honiguntersuchung als Ausgangsmaterial eine 10%ige Honiglösung zu benützen. Um eine Kontrolle zu besitzen, dass die Präzipitate auch wirklich quantitativ ausfallen, ist es ferner angezeigt, von jeder Honigprobe noch 2 weitere Verdünnungen zu verwenden.

Was die Mengenverhältnisse der Honiglösung und des Antiserums anbetrifft, so hat sich für die Honiglösungen  $1 \text{ cm}^3$  von jeder Verdünnung als praktisch erwiesen. Gibt das zu verwendende Antiserum in der Vorprüfung mit  $1 \text{ cm}^3$  einer 1%igen Honiglösung und  $0,2 \text{ cm}^3$  Antiserum noch ein deutliches Präzipitat, so genügt bei den 10%igen Honiglösungen eine Dosis von  $0,5 \text{ cm}^3$ , während für die weiteren Verdünnungen die Menge noch kleiner gewählt werden kann.

### c) Zeitlicher Verlauf der Präzipitinreaktion bei Honiglösungen.

Man beobachtet nach Zusatz des Antiserums zur Honiglösung gewöhnlich erst allmählig das Auftreten einer Trübung, die nach einiger Zeit als feiner Niederschlag von weisslicher oder gelblicher Farbe sich an den Wandungen und auf dem Boden absetzt. Auch bei anderen Immunitätsreaktionen, wie z. B. bei der Einwirkung von Antitoxinen auf ihre Muttersubstanzen, nimmt die Entgiftung durch das Antiserum eine gewisse Zeit in Anspruch; sie erfolgt nicht momentan. Es sollen hier namentlich der Konzentrationsgrad und die Temperatur eine Rolle spielen. Um nähere Anhaltspunkte darüber zu gewinnen, von welchem Zeitpunkt ab bei Honiguntersuchungen

nach Beschickung der Gläser die Reaktion als beendet gelten könne, wurden mit 2 verschiedenen Proben von echtem Bienenhonig je 15 %ige und 3 %ige Lösungen bereitet. Als Lösungsmittel diente physiologische Kochsalzlösung. Honiglösung und Antiserum wurden in der Menge von je 1 cm<sup>3</sup> + 1 Tropfen Toluol in die Zentrifugenröhren gebracht, gehörig gemischt und sofort in den Brutschrank zu 37 °C gestellt. Mit jeder Verdünnung wurden 8 Gläser, im ganzen 32 Gläser beschickt. Nach verschiedenen Zeitabständen wurden je 4 Proben dem Brutschrank entnommen und das Präzipitat volumetrisch in gewöhnlicher Weise ermittelt. Der Durchmesser des kapillaren Teiles der Zentrifugenröhren betrug 1 mm. Das Ergebnis dieses Experimentes ist in der folgenden Tabelle VIII verzeichnet.

Tabelle VIII.

Einwirkungsdauer	Honiglösung A.		Honiglösung B.	
	15 %	3 %	15 %	3 %
1 Stunde . . . . . . . .	26,0 mm	4,5 mm	30,0 mm	6,5 mm
2 Stunden . . . . . . . .	26,0 »	4,5 »	32,5 »	6,5 »
3 Stunden . . . . . . . .	27,5 »	4,2 »	34,5 »	6,5 »
4 Stunden . . . . . . . .	30,0 »	4,5 »	37,0 »	7,0 »
5 Stunden . . . . . . . .	31,5 »	4,5 »	33,5 »	6,5 »
6 Stunden . . . . . . . .	29,0 »	4,5 »	36,5 »	9,0 »
7 Stunden . . . . . . . .	31,5 »	5,0 »	36,5 »	7,5 »
8 Stunden . . . . . . . .	35,5 »	6,5 »	37,5 »	8,5 »

Wie man sieht, ist der Verlauf der Reaktion bei den zwei Konzentrationsgraden nicht genau der gleiche. Bei den 3 %igen Lösungen scheint schon nach einer Stunde die Reaktion beendet zu sein, während bei den 15 %igen Honiglösungen auch später noch eine deutliche Zunahme des Präzipitates festzustellen war. Erst nach zirka 5 Stunden zeigten bei den 15 %igen Lösungen die Präzipitatquanta kein eigentliches Ansteigen mehr. Aus diesem Versuche ist somit zu schliessen, dass mit Abnahme des Konzentrationsgrades der Honiglösungen der Verlauf der Reaktion ein beschleunigter wird.

#### d) Einfluss der Temperatur auf die Reaktion.

Es ist bekannt, dass Serumreaktionen durch die Temperatur oft wesentlich beeinflusst werden. Um zu prüfen, inwiefern auch bei Honiguntersuchungen dieses Moment zu berücksichtigen sei, wurde folgender Versuch ausgeführt. 10- und 2 %ige Honiglösungen wurden in der Menge von je 1 cm<sup>3</sup> mit je 0,5 cm<sup>3</sup> Antihonigserum und einem Tropfen Toluol gemischt, dann jeweils die mit Antiserum beschickten Verdünnungen einer Honigsorte bei 46 °, 37 °, 18 ° und 7 °C während 5 Stunden gehalten. Nach dieser Zeit erfolgte die Bestimmung der Schichthöhe des Präzipitats in üblicher Weise. Das Resultat ist aus Tabelle IX ersichtlich.

**Tabelle IX.**

Temperatur	Honiglösung A		Honiglösung B		Honiglösung C	
	10 %	2 %	10 %	2 %	10 %	2 %
46 ° C	12,0 mm	5,5 mm	13,5 mm	4,0 mm	14,0 mm	6,0 mm
37 ° C	17,5 »	4,5 »	20,5 »	5,0 »	32,0 »	8,0 »
18 ° C	17,0 »	4,25 »	16,5 »	6,0 »	26,0 »	7,5 »
7 ° C	17,0 »	4,5 »	17,0 »	4,5 »	26,5 »	8,0 »

Während die Temperaturen von 7, 18 und 37 ° C gleiche Resultate zeitigten, fielen die Präzipitate der bei 46 ° C gehaltenen 10 %igen Honiglösungen kleiner aus. Die Differenzen bei den Einzelresultaten liegen ohne Zweifel noch innerhalb der Fehlergrenzen.

#### e) Einfluss des Säuregehaltes der Honiglösungen.

Bienenhonige, wie auch alle die von mir geprüften künstlichen Honigprodukte reagieren in verschieden starkem Masse sauer. Besonders hohe Säurezahlen wiesen zuweilen solche Honigproben auf, die in Gärung sich befanden. Das Antiserum dagegen besitzt eine deutliche alkalische Reaktion. Ein Ueberschuss an Säure bewirkt im Serum Niederschläge, die unter Umständen zu Täuschung Veranlassung geben können, indem sie für Präzipitate gehalten werden. So ergab die serologische Prüfung eines Honigs, von dem die eine Probe schwach angesäuert (je 2 Tropfen einer 5 %igen Carbonsäurelösung in 1½ cm³ Honiglösung und Antiserum), die andere mit Sodalösung neutralisiert worden war, folgende Präzipitatsäulchen:

	10 %	2 %	1 %	Honiglösung
Bienenhonig neutralisiert . . . . .	34,0 mm	7,0 mm	3,5 mm	
» sauer . . . . .	37,0 »	9,0 »	7,0 »	

Es fielen die Niederschlagsquanta bei den angesäuerten Honiglösungen wesentlich grösser aus, als bei den neutralen. Bei einem weiteren Versuche wurden ebenfalls jeweilen von einer Honigsorte 2 Lösungen bereitet und die eine unverändert gelassen, die andere vor Hinzufügen des Serums neutralisiert. Die Versuchstechnik war dabei die übliche. Die eine Probe, Waldhonig, zeigte eine ausgesprochene saure Reaktion, während der « Mischhonig » nur sehr schwach sauer reagierte. Wie der Befund (Tabelle X) zeigt, waren die Niederschlagsmengen bei den neutralisierten Waldhoniglösungen grösser als bei den sauren Parallelproben.

**Tabelle X.**

Honigsorte	Honiglösungen		
	10 %	2 %	1 %
Waldhonig, saure Reaktion . . . . .	16,0 mm	3,0 mm	1,75 mm
Waldhonig, neutralisiert . . . . .	19,0 »	4,0 »	2,0 »
Mischhonig, schwach sauer . . . . .	26,0 »	6,0 »	2,75 »
Mischhonig, neutralisiert . . . . .	25,5 »	6,0 »	2,75 »

Die Resultate der Mischhoniglösungen fielen, wie zu erwarten war, übereinstimmend aus. Aus diesen Untersuchungen ist zu entnehmen, dass die Säure eher hemmend auf die Präzipitinreaktion einwirkt. Ist jedoch der Säuregehalt der Honiglösungen so gross, dass nach Mischung mit Antihonigserum noch ein Ueberschuss von Säure resultiert, so setzt sich der gebildete Niederschlag bei Bienenhoniglösungen aus Präzipitat und den durch die Säure ausgefallten Substanzen zusammen, bei Kunsthoniglösungen allein nur aus der Säurefällung. Eine Nichtbeachtung der Reaktion der zu prüfenden Honiglösungen kann daher zu ganz unrichtigen Resultaten führen.

#### f) Einfluss des Lösungsmittels auf den Ausfall der Präzipitatmengen.

Verwendet man bei biologischen Blut- und Fleischuntersuchungen zur Herstellung von Verdünnungen destilliertes oder gewöhnliches Leitungswasser, so treten *nicht* spezifische Trübungen oder sogar Niederschläge in den Lösungen auf. Es ist daher bei derartigen Prüfungen strenge Vorschrift, zu den genannten Zwecken nur physiologische Kochsalzlösung zu benützen. Es war nun von Interesse, das Verhalten des Präzipitates bei Verwendung von destilliertem Wasser einerseits und von physiologischer Kochsalzlösung anderseits als Lösungsmittel und zur Bereitung der Verdünnungsgrade der Honiglösungen kennen zu lernen. Der Versuch wurde mit drei verschiedenen Honigsorten durchgeführt. Von jeder Probe wurden zwei gleich grosse Mengen abgewogen und die eine in destilliertem Wasser, die andere in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und die gewünschten Verdünnungen damit hergestellt.

**Tabelle XI.**

Lösungsmittel	Bienenhoniglösung A			Bienenhoniglösung B			Kunsthoniglösung		
	10 %	2 %	1 %	10 %	2 %	1 %	10 %	2 %	1 %
Destilliertes Wasser	5,0 mm	2,0 mm	1,0 mm	5,25 mm	2,25 mm	1,0 mm	0	0	0
Physiolog. Kochsalzlösung	5,0 »	2,0 »	1,0 »	4,5 »	2,25 »	1,0 »	0	0	0

Nach den Resultaten (Tabelle XI) enthalten die Honiglösungen, zum Unterschiede von Blut- und Fleischeiweisslösungen, eine genügende Menge von Salzen, um das Ausfallen von Substanzen (Globuline ?) des Serums zu verhindern, und es ist daher bei Honiguntersuchungen nicht notwendig, zur Bereitung der Verdünnungen physiologische Kochsalzlösung zu verwenden.

### III. Untersuchungsergebnisse von Honigproben verschiedener Herkunft und einigen bei der Kunsthonigbereitung Verwendung findenden Zuckerarten.

Neben dem Studium der Faktoren, die auf den quantitativen Verlauf der Präzipitinreaktion von Einfluss sein konnten, war mein Augenmerk darauf gerichtet, an einem möglichst reichhaltigen Material die Brauchbarkeit des serologischen Verfahrens zu erproben.

**Tabelle****Methodik der serolo-**

10 g Honig wurden in 10 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser gelöst, filtriert und davon 15,3 und 1,5%ige Lösungen bereitet. gehalten, dann während 5 Minuten bei einer Tourenzahl von 1500 pro Minute zentrifugiert und die Schicht-

Nr.	Bezeichnung der Honigsorte	Makroskopischer und chemischer Befund									
		Farbe	Aussehen	Wasser %	Mineralstoffe %	Acidität %	Invertzucker %	Rohrzucker %	Dextrin (Differenz) %	Polarisation direkt, Grade	nach Inver- sion, Grade
1	Bienenhonig der Statistik 1909 (8)	braun	klar	15,77	8,4	0,85	51,10	14,74	17,47	+18,18	+12,33
2	» » » » (12)	dunkel	»	14,97	7,44	1,29	64,95	6,08	13,14	+ 6,42	+ 4,17
3	» » » » (13)	hell	kandiert	14,64	5,2	1,04	70,55	4,88	9,81	+ 0,33	- 1,25
4	» » » » (15)	sehr dunkel	klar	15,12	7,34	1,29	61,41	7,59	15,02	+10,67	+ 9,16
5	» » » » (16)	sehr hell	etwas kandiert	18,50	4,08	1,06	70,90	3,22	6,86	- 3,88	- 5,13
6	» » » » (20)	dunkel	klar	16,44	8,62	1,15	60,74	8,01	13,83	+ 6,72	+ 4,50
7	» » » » (21)	hell	»	15,24	7,76	1,36	60,65	7,38	15,81	+ 6,87	+ 3,27
8	» » » » (22)	dunkel	»	15,69	7,2	1,22	60,67	6,86	15,94	+ 7,2	+ 4,3
9	» » » » (26)	hell	»	13,06	3,86	1,03	74,36	4,27	7,82	- 1,25	- 4,58
10	» » » » (34)	hell	kandiert	13,89	4,0	0,87	74,42	1,78	9,42	- 2,08	- 4,25
11	» » » » (37)	dunkel	klar	14,31	7,3	0,94	57,88	11,36	15,63	+13,75	+ 7,92
12	»	»	etwas kandiert	28,28	0,6	0,9	69,32	Spur	2,25	- 7,33	- 7,33
13	» » » 1910 (6.1.)	hellgelb	» »	16,34	5,2	1,20	68,24	5,20	9,58	+ 4,66	+ 1,33
14	» » » » (0.2.)	braungelb	» »	16,37	6,7	1,20	61,16	8,36	13,32	+ 8,50	+ 5,66
15	» » » » (Bl.1)	hellgelb	» »	18,11	5,6	1,00	71,64	6,15	3,44	+ 2,50	- 1,00
16	Extra Honny Quality Finess extract south australian .	dunkel	klar	18,23	1,10	0,4	77,72	2,07	1,83	- 7,83	- 8,00
17	Frühjahrshonig . . . .	hell	fest kandiert	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Waldhonig . . . .	dunkel	klar	15,77	8,4	0,85	51,10	14,74	17,47	+18,18	+12,33
19	Oesterreichischer Honig . .	»	»	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Französischer Honig . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Kunsthonig (B.) . . . .	hell	klar	-	-	-	-	-	-	-	-
22	» (V.) . . . .	»	»	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Fütterungshonig . . . .	farblos	»	18,79	1,8	0,32	51,58	23,39	6,0	+10,00	- 4,91
24	Bienenhonig der Statistik 1909 (9)	dunkel	»	14,49	7,9	1,33	62,39	8,2	14,0	+ 8,83	+ 6,97
25	» » » » (14)	hell	schwach kand.	14,41	5,4	1,09	66,99	5,91	12,04	+ 5,9	+ 5,38
26	» » » » (32)	dunkel	klar	14,71	8,9	1,2	54,32	10,77	19,19	+15,1	+14,7
27	Sogenannter Backhonig . .	braun	ein wenig kand.	16,30	1,4	1,01	70,16	4,06	9,24	- 7,91	- 9,16
28	» Tafelhonig . .	hell	klar	14,27	3,2	0,76	49,56	18,51	17,27	+29,16	+18,66

**XII a****gischen Prüfung (Nr. 1—28).**

Je 1 cm<sup>3</sup> Honiglösung wurde mit je  $\frac{1}{2}$  cm<sup>3</sup> Antiserum und 1 Tropfen Toluol gemischt, 5 Stunden bei 37° C Höhe des Präzipitats bestimmt. Der verengte Teil der Zentrifugengläser besass eine Lichtweite von 1 mm.

Reaktion nach Fiefe	Reaktion nach Ley	Albuminmiederschlag m. Phosphorwolframsäurelösung in cm <sup>3</sup>	Serologischer Befund				Zur Herstellung des Antiserums benutzt	Bemerkungen		
			Honiglösungen			Total Präzipitatmenge mm				
			15 % mm	3 % mm	1,5 % mm					
normal	—	0,7	26,0	4,0	2,0	32,0	Bienenbrot, Tier 1	Flugort der Bienen: Wald, wenig Linden.		
»	—	1,85	36,0	11,0	7,5	54,5	» Tier 2	» » » Wald.		
»	—	0,7	34,5	12,0	9,5	56,0	» »	Wiese, Esparsette, Kirschbäume.		
»	—	1,7	33,0	11,0	4,5	48,5	» »	Wald.		
»	—	1,6	36,0	12,0	7,0	55,0	» »	Naturwiese.		
»	—	1,6	34,0	11,0	6,0	51,0	» »	Wald.		
»	—	1,3	36,0	13,25	6,5	55,75	» »	Kirschbaum, Löwenzahn, Salbei.		
»	—	1,3	36,0	11,5	4,5	52,0	» »	Weisstanne.		
»	—	2,0	28,5	12,0	9,0	49,5	» »	Löwenzahn, Apfelbaum, Esparsette.		
»	—	2,05	37,0	14,0	8,0	59,0	» »	Löwenzahn, Kirschbaum.		
»	—	1,1	30,0	8,0	5,0	43,0	» »	» » » Wald, Weisstanne.		
»	Reduct.	2,1	23,75	6,5	5,0	35,25	» »	Mikroskop. Befund: Pollenkörner,		
»	normal	0,9	36,5	15,5	6,25	58,25	» »	Wachspartikelchen, Pflanzenreste, Spuren von Sand.		
»	»	0,7	32,0	10,0	5,0	47,0	» »			
»	»	0,8	34,0	10,25	5,0	49,25	» »			
»	Reduct.	0	27,0	5,0	1,75	33,75	» »	Mikroskop. Befund: Aeußerst zahlr. Pollenkörner, Spuren von Sand und Pflanzenfasern.		
—	—	—	38,0	13,75	6,0	57,75	» Tier 3			
normal	—	0,7	28,0	6,25	3,0	37,25	» »			
—	—	—	36,5	13,75	7,0	57,25	» »	In sehr starker Gärung. Mikroskop. Befund: Zahlreiche Pollenkörner.		
—	—	—	36,0	7,5	3,0	46,50	» »			
—	—	—	2,0	0	0	2,0	» »			
—	—	—	0	0	0	0	» »			
normal	—	0,35	16,0	5,0	2,0	23,0	» »			
»	—	0,7	26,0	5,0	2,5	33,5	Futterbrei 1	Antiserummenge je 1 cm <sup>3</sup> . Flugort d. Bienen: Honigtau u. Weisstanne.		
»	—	1,45	31,0	6,0	3,5	40,5	»	Antiserummenge je 1 cm <sup>3</sup> . Flugort d. Bienen: Löwenzahn, Kirschbaum, Wald.		
»	—	2,05	23,5	7,0	3,0	33,5	»	Antiserummenge je 1 cm <sup>3</sup> . Flugort d. Bienen: Rottanne, Weisstanne u. Wiese.		
Rottbg.	Reduct.	0	2,0	0	0	2,0	»	Antiserummenge je 1 cm <sup>3</sup> .		
»	»	0	0	0	0	0	»	» » 1 »		

**Tabelle****Methodik der serolo-**

10 g Honig wurden in ein wenig physiologischer Kochsalzlösung gelöst, mit Sodalösung neutralisiert, filtriert 1% Lösungen bereitet. Zu je 1 cm<sup>3</sup> der 10-, 2- und 1%-Honiglösung kamen je 1/2 cm<sup>3</sup> Antihonigserum und gehalten, dann während 5 Minuten bei einer Tourenzahl von 1500 Touren pro Minute geschleudert und nachher schlag gemessen wurde, besass

Nr.	Bezeichnung der Honigsorte	Farbe	Aussehen	Makroskopischer und chemischer Befund							
				Wasser %	Mineralstoffe %	Acidität %	Invertzucker %	Rohrzucker %	Dextrin (Differenz) %	Polarisation direkt, Grade	nach Inver- sion, Grade
29	Bienenhonig der Statistik 1909 (22)	dunkel	klar	15,69	7,2	1,22	60,67	6,86	15,94	+ 7,2	+ 4,3
30	» » » (15)	sehr dunkel	klar	15,12	7,34	1,29	61,41	7,59	15,02	+10,67	+ 9,16
31	» » » 1910 (61)	hellgelb	schwach kand.	16,34	5,20	1,20	68,24	5,20	9,58	+ 4,66	+ 1,33
32	» » » (02)	braungelb	» »	16,37	6,70	1,20	61,16	8,36	13,32	+ 8,50	+ 5,66
33	» » » (Bl.)	hellgelb	» »	18,11	5,60	1,00	71,64	6,15	3,44	+ 2,50	- 1,00
34	» » » 1909 (8)	braun	klar	15,77	8,4	0,85	51,10	14,74	17,47	+18,18	+12,33
35	Waldhonig (Sammlung)	dunkel	»	—	—	—	—	—	—	—	—
36	Bienenhonig V.	gelbbraun	»	—	—	—	—	—	—	—	—
37	» aus einer Handlung in Bern	»	»	—	—	—	—	—	—	—	—
38	Frühjahrshonig Basel	gelb	kandiert	—	—	—	—	—	—	—	—
39	Bienenhonig der Statistik 1909 (17)	rotbraun	hell	14,6	7,82	1,18	58,22	9,36	16,92	+11,28	+ 9,6
40	Französischer Honig (7)	hellgelb	kandiert	17,4	0,28	0,58	72,88	4,07	5,56	- 4,48	- 6,71
41	Franz. Honig (Miel Pithiviers)	gelbbraun	»	17,22	1,22	1,008	73,64	2,96	5,96	- 4,78	- 7,17
42	Ungar. Bienenhonig (Akazienhonig)	»	»	—	—	—	—	—	—	—	—
43	Chilehonig	»	teilweise kand.	—	—	—	—	—	—	—	—
44	Ungar. Bienenhonig	braun	» »	—	—	—	—	—	—	—	—
45	Franz. Honig, beanstandet	goldgelb	kandiert	—	—	—	—	—	—	—	—
46	Kunsthonig Basel	braun	teilweise kand.	—	—	—	—	—	—	—	—
47	» Bern	»	flüssig	—	—	—	—	—	—	—	—
48	» amerikan. Fabrikat	»	teilweise kand.	—	—	—	—	—	—	—	—
49	Invertzucker I	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50	Stärkesirup	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
51	Invertzucker II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
52	Stärkezuckersirup	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
53	Invertierter Kandisablauf	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
54	Stärkesirup B.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
55	Melasse	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
56	Fruchtmelasse	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
57	Bienenhonig Statistik 1910	dunkelbraun	klar	17,19	7,74	1,55	57,80	6,73	17,0	+12,92	+12,17
58	» » »	hellgelb	kandiert	15,76	4,02	1,5	74,20	2,24	7,2	- 2,08	- 2,42
59	» » »	hellbraun	»	18,85	6,30	1,63	73,84	0,42	6,1	-12,60	-14,58
60	» » »	rötlichbraun	klar	14,9	8,20	2,14	60,30	7,17	16,7	+11,17	+10,80
61	» » »	hellbraun	kandiert	17,28	8,92	2,07	61,20	6,91	13,5	+ 9,55	+ 9,17
62	» » »	hellgelb	»	16,50	4,28	1,40	73,72	1,56	7,6	- 7,33	- 2,00

## XII b

## rgischen Prüfung (Nr. 29-90).

und mit physiologischer Kochsalzlösung auf 100 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Von dieser 10%o-Lösung wurden noch 2%o und 1 Tropfen Toluol. Nach gehöriger Mischung dieser Flüssigkeiten wurden sie während 5 Stunden bei 37° C die Schichthöhe des Präzipitates abgelesen. Der verengte Teil der Zentrifugenröhren, in dem der Niederröhren einen Durchmesser von zirka 1 $\frac{1}{2}$  mm.

Reaktion nach Fiehe	Reaktion nach Ley	Albumin niederschlagsphosphorwolfram-säurelösung in cm <sup>3</sup>	Serologischer Befund				Zur Herstellung des Antiserums benützt	Bemerkungen		
			Honiglösungen			Total Präzipitatmenge mm				
			10 %o mm	2 %o mm	1 %o mm					
Keine Färbg.	—	1,3	6,0	2,5	1,25	9,75	Futterbrei, Tier 3	Flugort der Bienen: Wald.		
»	—	1,7	6,0	2,0	1,25	9,25	»	» » » Wald.		
»	normal	0,9	7,0	2,5	1,5	11,0	»	» » » Wiesen.		
»	»	0,7	6,0	2,0	1,25	9,25	»	» » » Wiesen.		
»	»	0,8	6,5	2,0	1,25	9,75	»	» » » Wiesen.		
»	»	0,7	4,25	1,5	Spur	5,75	»	» » » Wald.		
—	—	—	4,5	1,75	1,0	7,25	»	»		
—	—	—	7,0	2,0	1,25	10,25	»	» » » Wiesen.		
—	—	—	7,25	2,0	1,0	10,25	»			
—	—	—	6,0	3,0	1,0	10,0	»			
Keine Färbg. Rotfärbg.	—	2,3	7,0	2,0	1,0	10,0	»			
—	—	0,6	6,0	0,5	Spur	6,5	»	Mikroskop. Befund: Vereinzelte Pollenkörner, Pflanzenfasern, Holzstücke.		
»	—	1,3	7,5	2,5	1,25	11,25	»	Mikroskop. Befund: Zahlreiche Pollenkörner.		
—	—	—	5,0	2,0	1,0	8,0	»			
—	—	—	5,0	1,5	1,0	7,5	»			
—	—	—	5,0	2,0	1,0	8,0	»			
—	—	—	1,0	0	0	1,0	»			
—	—	—	Spur	0	0	Spur	»			
—	—	—	»	0	0	»	»			
—	—	—	»	0	0	»	»			
—	—	—	0	0	0	0	»			
—	—	—	0	0	0	0	»			
—	—	—	0	0	0	0	»			
—	—	—	0	0	0	0	»			
—	—	—	0	0	0	0	»			
—	—	—	0	0	0	0	»			
Keine Färbg.	rotbraun	0,5	7,0	1,5	0,75	9,25	Bienenbrot, Tier 4	Flugort der Bienen: Wald.		
»	»	0,9	16,0	3,75	2,0	21,75	»	» » » Löwenzahn, Baumblüten, Esparsette.		
»	braungrün	5,9	17,0	4,5	2,5	24,0	»	» » » Erika.		
»	rotbraun	1,85	12,0	2,5	1,5	16,0	»	» » » Löwenzahn, Apfelblüte.		
»	»	1,0	14,5	2,5	1,5	18,5	»	» » » Wald, Bärenklau, Weissklee.		
»	»	0,9	11,5	2,75	1,5	14,75	»	» » » Wiese.		

Nr.	Bezeichnung der Honigsorte	Makroskopischer und chemischer Befund									
		Farbe	Ausssehen	Wasser %	Mineralstoffe %	Acidität %	Invertzucker %	Rohrzucker %	Dextrin (Differenz) %	Polarisation	
										direkt, Grade	nach Inver- sion, Grade
63	Bienenhonig Statistik 1910 .	dunkel	kandiert	16,25	8,56	1,33	59,96	7,26	15,4	+11,33	+11,17
64	» » » .	goldgelb	schwach kand.	17,81	1,26	2,30	74,20	0,80	6,8	- 7,12	- 7,50
65	» » » .	rotbraun	kandiert	17,88	5,48	1,10	71,64	1,41	—	- 7,25	- 7,33
66	» » » .	»	flüssig	18,53	7,52	1,10	71,92	0,72	—	-10,42	-10,62
67	» » » .	hellbraun	teilweise kand.	15,30	7,10	1,80	62,40	8,93	—	+ 5,42	+ 4,58
68	» » » .	»	flüssig	17,50	3,50	1,00	74,72	1,57	—	- 3,75	- 4,41
69	» » » .	»	kandiert	14,70	5,60	1,70	69,48	1,40	—	- 0,41	- 0,83
70	» » » .	gelb	»	13,80	4,20	1,40	74,64	1,21	—	- 5,0	- 5,0
71	Bienenhonig Seeland . . .	dunkel	klar	—	—	—	—	—	—	—	—
72	Fütterungshonig . . .	farblos	flüssig	18,79	0,32	1,80	51,58	23,39	6,0	+10,0	- 4,91
73	Kunsthonig Buchs . . .	hellgelb	»	—	—	—	—	—	—	—	—
74	Boliviahonig . . . .	»	fest	18,73	2,08	0,60	76,48	3,55	0,97	- 9,0	- 10,33
75	Chilehonig Nr. 21 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
76	» » 58 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
77	» » 61 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
78	» » 67 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
79	» » 14 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
80	Bienenhonig Statistik 1910 .	hellbraun	kandiert	15,95	7,35	1,6	65,20	5,95	—	+ 3,75	+ 3,33
81	» » » .	»	»	15,5	6,40	1,5	66,00	6,04	—	+ 4,14	+ 3,75
82	Kunsthonig, deutsches Fabrikat 32	dunkelbraun	teilweise kand.	—	—	—	—	—	—	—	—
83	» amerikan. » 71	»	» »	—	—	—	—	—	—	—	—
84	» » » 80	»	» »	—	—	—	—	—	—	—	—
85	» » » 175	gelb	kandiert	—	—	—	—	—	—	—	—
86	» deutsches oder amerikan. Fabrikat 179	gelbbraun	teilweise kand.	—	—	—	—	—	—	—	—
87	Kunsthonig, amerik. Fabrikat 193	»	» »	—	—	—	—	—	—	—	—
88	» » » 195	»	» »	—	—	—	—	—	—	—	—
89	» deutsch. » 265	hellgelb	» »	—	—	—	—	—	—	—	—
90	» schweiz. » 267	»	kandiert	—	—	—	—	—	—	—	—

Ueber die Herkunft und die Auswahl der geprüften Untersuchungsobjekte sei folgendes bemerkt. Um den Einwand zu entkräften, es könnten doch unter Umständen in gewöhnlichen Zuckerlösungen mit Antibienenhonig-serum Niederschläge auftreten, wurden eine Anzahl von Zuckerarten (8 Proben) in analoger Weise wie die Honigproben untersucht. Von Honigsorten wählte

## XII b (Fortsetzung)

Reaktion nach Fiefe	Reaktion nach Ley	Albumin niederschlag m. Phosphorwolframsäurelösung in cm <sup>3</sup>	Serologischer Befund					Zur Herstellung des Antiserums benützt	Bemerkungen		
			Honiglösungen			Total Präzipitatmenge mm					
			10 % mm	2 % mm	1 % mm						
Keine Färbg.	Rotbraun	0,65	7,5	2,0	1,25	10,75	Futterbrei, Tier 1		Flugort der Bienen: Wald (Honig war aufgewärmt worden). Wiesen.		
" "	schw. Silberspiegel	0,90	9,0	2,5	1,5	13,0	" "	" "	Wiesen.		
" "	rotbraun	1,55	9,5	2,5	1,5	13,5	" "	" "	Wiesen, Kastanien und Erika.		
" "	Silberspiegl.	2,85	9,5	2,75	1,25	13,5	" "	" "	Wiesen, Kastanien und Erika.		
" "	rotbraun	1,25	11,0	2,50	1,25	14,75	" "	" "	Akazie u. Obstbäume		
" "	" "	1,40	11,5	2,0	1,50	15,0	" "	" "	Akazie, Linde und Kastanie.		
" "	" "	1,10	10,0	2,0	1,25	13,25	" "	" "	Löwenzahn, Apfelbaum, Weissklee.		
" "	" "	0,90	12,5	3,5	1,5	17,5	" "	" "	Kirschbaum, Löwenzahn u. Esparsette.		
Keine Färbg.	Silberspiegl.	—	8,0	2,5	1,5	12,0	" " Tier 2				
Keine Färbg.	Silberspiegl.	0,35	6,5	1,5	0	8,0	" "		Honig wurde durch Rohrzuckerfütterung gewonnen.		
Rotf. bg.	Silberspiegl.	0	Spur	0	0	Spur	" "				
—	—	—	3,5	1,5	Spur	5,0	Bienenbrot, Tier 5		Mikroskop. Befund: Bienenleiber, Holzteilchen, verunreinigt.		
—	—	—	7,0	1,5	1,5	10,0	" "		Mikroskop. Befund: Bienenleiber, Holzteilchen, in starker Gärung.		
—	—	—	9,0	2,0	1,5	13,5	" "		Mikroskop. Befund: Bienenleiber, Ameisen, Holz, stark verunreinigt.		
—	—	—	9,5	2,5	1,5	13,5	" "		Chemischer Befund: Spricht ebenfalls für Kunsthonig.		
Keine Färbg.	normal	0,90	9,0	2,0	1,0	13,0	" "				
" "	rotbraun	1,05	8,0	1,5	1,0	10,5	" "				
—	—	—	Spur	0	0	Spur	" "				
—	—	—	"	0	0	"	" "				
—	—	—	1,0	0	0	1,0	" "				
—	—	—	Spur	0	0	Spur	" "				
—	—	—	za. 1,0	0	0	za. 1,0	" "				
—	—	—	1,0	0	0	1,0	" "				
—	—	—	1,0	0	0	1,0	" "				
—	—	—	2,0	0	0	2,0	" "				
—	—	—	2,0	0	0	2,0	" "				

ich soviel wie möglich solche Proben aus, über deren Ursprung gewissenhafte Angaben erhältlich waren. Ein glücklicher Zufall hat mir diese Aufgabe in hohem Masse erleichtert, indem noch 40 Honige der Honigstatistik erhältlich waren. Die schweizerische Honigstatistik<sup>1)</sup> bezweckt, durch Unter-

<sup>1)</sup> Schweizerische Bienenzeitung, Nr. 7, 1910.

suchung einer grossen Anzahl von Proben echter Bienenhonige das chemische Verhalten derselben genau festzustellen. Für diese Statistik erfolgt die Probenentnahme durch die Kontrollorgane des Vereins schweiz. Bienenfreunde, wobei jeder Imker neben der Beantwortung einer Anzahl von Fragen, welche die Verhältnisse und Art der Honiggewinnung betreffen, die Naturreinheit des bei ihm erhobenen Honigs unterschriftlich bezeugt. Die Zuckerfütterung der Bienen ist den Mitgliedern des Vereins nur als Not- und Brutfutter in trachtloser Zeit, wenn die Honigwaben noch nicht im Stocke sind, gestattet. Ferner ist aller Honig, von dem Proben entnommen wurden, durch Ausschleudern gewonnen worden, wobei nachherige Erwärmung bis auf höchstens  $35^{\circ}$  behufs rascher Klärung, resp. Ausscheidung der beim Schleudern gefangenen Luft, vorgenommen wurde. Diese « Statistikhonige » bieten also eine weitgehende Gewähr dafür, dass sie reine, natürliche Produkte darstellen. Weitere 25 Honigproben wurden von befreundeten Imkern oder aus Honighandlungen bezogen oder waren von kantonalen Laboratorien eingesandt worden. Ihre Echtheit war nicht in allen Fällen erwiesen. Unter ihnen fanden sich auch solche vor, die aus dem Auslande stammten. Von einem Bienenzüchter erhielt ich ferner zwei Proben, die durch Rohrzuckerfütterung gewonnen worden waren. Sie sind unter der Bezeichnung « Fütterungshonige » aufgeführt. Endlich wurden noch 15 Kunsthonige beigezogen, die als solche deklariert waren. Sämtliche Untersuchungsergebnisse dieser 90 Proben sind in den vorstehenden Tabellen XII a und XII b unter der Rubrik « Serologischer Befund » zusammengestellt. Soweit die genauen chemischen Analysenresultate erhältlich waren, finden sich auch diese eingetragen. In der vorletzten Kolonne sind die Materialien bezeichnet, die zur Erzeugung der Antihonigsera dienten, und in der letzten Kolonne unter « Bemerkungen » werden Angaben gemacht über den Flugort der Bienen, über mikroskopische Befunde, über auffallende Eigenschaften der Honige etc. Die Technik der serologischen Prüfung wurde nach Untersuchung der ersten 28 Proben, wie am Kopfe der Tabellen angeführt ist, abgeändert, weil sich inzwischen gezeigt hatte, dass der Säuregehalt der Honiglösungen nicht ohne Bedeutung ist. Eine weitere Abänderung, nämlich die Erweiterung des Lumens im kapillaren Teile der Zentrifugengläser, erfolgte, weil verschiedene Beobachtungen erkennen liessen, dass mit steigender Höhe des Präzipitatsäulchens die Genauigkeit der Resultate abnahm. Miteinander vergleichbar sind daher die Ergebnisse der Proben von 1—28 und diejenigen von 29—90 unter Berücksichtigung der verschiedenen Antisera, wovon im ganzen 8 zur Verwendung kamen. Die mit dem gleichen Serum geprüften Proben folgen sich in fortlaufender Reihe.

### **Diskussion der Untersuchungsergebnisse.**

Auf die Einzelheiten der chemischen Untersuchungsresultate soll hier nicht eingetreten werden. Sie sind in die Zusammenstellung aufgenommen worden, um zu prüfen, ob sich bei einer Gegenüberstellung mit den serologischen Daten irgendwelche Relationen feststellen lassen.

Die biologische Prüfung der 8 Zuckerproben, Nr. 49—56, ergab das vollständige Ausbleiben von Präzipitat. Bei den 15 Kunsthonigen (Nr. 21, 22, 46, 47, 48, 73 und 82—90) verhielten sich 2 Proben (Nr. 22 und 73) wie die Zuckerlösungen, die übrigen zeigten, und zwar nur bei den 15- resp. 10%igen Lösungen, Niederschlagsmengen, die von nicht messbaren Spuren bis zu 2 mm Schichthöhe variierten. Auch dieses Resultat war zu erwarten. Es bestätigt die bekannte Tatsache, dass den meisten Kunsthonigprodukten kleinere Mengen Bienenhonig beigemischt werden, um das Aroma von Naturhonig vorzutäuschen. Verfolgt man weiter das Verhalten der 40 « Statistikhonige », indem die Maxima und Minima der Schichthöhe des Präzipitatsäulchens der nach dem gleichen Verfahren und mit dem gleichen Antibienenhonigserum behandelten Proben einander gegenüber gestellt werden, so erhält man folgende Uebersicht:

Tabelle XIII.

No. der Honigproben, die mit gleichem Serum geprüft wurden,	Anzahl Proben	Honiglösungen						Totalpräzipitatemengen	
		15 % resp. 10 %		3 % resp. 2 %		1,5 % resp. 1 %			
		Maxim. mm	Minim. mm	Maxim. mm	Minim. mm	Maxim. mm	Minim. mm	Maxim. mm	Minim. mm
2-11 u. 13-15	13	37,0	28,5	15,5	8,0	9,5	4,5	59,0	43,0
24-26	3	31,0	23,5	7,0	5,0	3,5	2,5	40,5	33,5
29-34 und 39	7 (6)	7,0	4,25 (6,0)	2,5	1,5 (2,0)	1,5	Spur (1,25)	11,0	5,75 (9,25)
57-62	6 (5)	17,0	7,0 (11,5)	4,5	1,5 (2,5)	2,5	0,75 (1,5)	24,0	9,25 (14,75)
63-70	8	12,5	7,5	3,5	2,0	1,5	1,0	17,5	10,75
80-81	2	9,0	8,0	2,0	1,5	1,0	1,0	13,0	10,5

Nach dem älteren Verfahren, bei Verwendung 15-, 3- und 1,5%iger Honiglösungen und engerem Lumen der Kapillaren (Nr. 1—29), waren die Schwankungen von Maximal- und Minimalpräzipitat ausgesprochen grössere als bei Benützung weiterer Lumina (von Nr. 29 ab). Besonders die bei Benützung verdünnterer Honiglösungen und grösserem Durchmesser des kapillaren Teiles der Zentrifugengläser erhaltenen Ergebnisse zeigen eine verhältnismässig grosse Stabilität, namentlich wenn berücksichtigt wird, dass auch diese vorliegenden Untersuchungen noch nicht mit genau tarierten Zentrifugengläsern ausgeführt wurden. Auffallend kleine Zahlen für die Schichthöhen der Präzipitate zeigten, im Vergleich zu den übrigen Resultaten, einzige 2 Honige, Nr. 34 und Nr. 57. Werden die Ergebnisse der genannten Proben bei der obigen Zusammenstellung nicht berücksichtigt, so resultieren die in Klammern angeführten Zahlen, welche die Differenzen zwischen Maximum und Minimum der Schichthöhen für die Präzipitate bedeutend kleiner werden lassen. Eine Erklärung der Ursache der geringen Präzipitatemengen bei den Proben Nr. 34 und 57 dürfte aus den chemischen Untersuchungsergebnissen abzuleiten sein. Diese zeigen nämlich, dass beide Proben mit Phosphorwolframsäurelösung aussert geringe Niederschlagsmengen

liefern, Mengen, die für echten Bienenhonig ebenfalls an der untersten Grenze des noch Zulässigen liegen. Bei Nr. 34 ist zudem der Rohrzuckergehalt sehr hoch, was darauf hindeutet, dass vielleicht bei diesem Honig doch ein wenig von dem während der Fütterungszeit der Bienen abgelagerten Material in die Honigwaben gelangen konnte. Jedenfalls werden die auf den ersten Blick auffallenden, niederen Zahlen des serologischen Befundes bei Nr. 34 und 57 durch die chemische Analyse bestätigt. Es sei noch hinzugefügt, dass beide Honigproben (Nr. 34 vom Jahrgang 1909 und Nr. 57 vom Jahrgang 1910) vom gleichen Imker stammen und sogenannte Waldhonige repräsentieren. Es scheint sich nun bei einem Vergleich des Flugortes der Bienen mit den Präzipitatquanta überhaupt zu ergeben, dass bei Waldhonigen im allgemeinen etwas kleinere Präzipitatemengen auftraten, als bei Wiesenhonigen. Die Präzipitate von Wald- und Wiesenhonig unterscheiden sich gewöhnlich deutlich durch die Verschiedenheit der Farbe. Während bei den dunklen Waldhonigen das Präzipitat stets weiss aussfällt, ist es bei den hellen Wiesenhonigen gelbweiss, was darauf hindeutet, dass im letzteren Falle ein wenig Farbstoff der Honiglösung mit niedrigerissen wird. Ob dies allein genügt, den Unterschied der Präzipitatquanta zwischen Wald- und Wiesenhonig zu bedingen, scheint fraglich, vielmehr dürfte der bei den Waldhonigen auftretende höhere Dextrin gehalt eher daran schuld sein, indem anzunehmen wäre, dass diese Zuckerart gegenüber den anderen eine erhöhte hemmende Wirkung auf die Präzipitinreaktion ausüben würde.

Irgendwelche gesetzmässigen Beziehungen zwischen der mit Phosphorwolframsäurelösung fällbaren Menge und dem Präzipitat lassen sich, wie unsere Zusammenstellung zeigt, nicht nachweisen. Wohl kann man beobachten, dass bei Honigen mit hohem Albumingehalt auch voluminöse Präzipitatquanta sich einstellten und umgekehrt. Dies ist aber durchaus nicht Regel. Wie wir später noch sehen werden, war sogar ein Fall zu konstatieren, wo mit Phosphorwolframsäure gar kein Niederschlag entstand, und doch traten bei der serologischen Prüfung Präzipitate auf, wie sie annähernd bei den « Statistikhonigen » erhalten wurden. Ein solches Verhalten muss zu der Ansicht führen, dass die mit Phosphorwolframsäurelösung in Honigen fällbaren Substanzen nicht mit den Antigenen des Honigimmunserums zu identifizieren sind.

Werden die Resultate der serologischen Prüfung dieser 40 « Statistik honige » mit den Einzelergebnissen der chemischen Untersuchung verglichen, wobei stets die mit dem gleichen Antiserum beschickten Proben einander gegenüber gestellt werden müssen, so dürfte nur der Wassergehalt kleinere Schwankungen zeigen, als sie das Präzipitinverfahren aufweist. Daraus ergibt sich, dass das Bienenhonigantigen von den den Bienenhonig zusammensetzenden Substanzen quantitativ eine grosse Konstanz besitzt. Die Schwankungen der Schichthöhen des Präzipitates, die bei den verschiedenen Antiserien zutage traten, beruhen auf der ungleichen Wertigkeit derselben. Durch

Auswahl von hochwertigen Honigimmunseris mit bestimmtem Titer würden viel ausgeglichenere Resultate zu erzielen gewesen sein.

Bei den 25 weiteren Honigproben, über deren Herkunft nicht in allen Fällen sichere Angaben erhältlich waren, fielen die Ergebnisse der serologischen Untersuchung verschieden aus. Gleiche oder annähernd gleiche Resultate, wie sie die «Statistikhonige» lieferten, wurden erhalten bei den Proben Nr. 17—20, 35—38, 41—44, 71, 76—78, also im ganzen bei 16 Proben. Davon wäre zwar Nr. 41 nach der Resorzinprobe (Reaktion nach *Fiehe*) als Kunsthonig oder ein mit Zuckerlösung und Bienenhonig gemischtes Produkt zu taxieren, da er bei genannter Reaktion deutliche Rotfärbung aufwies. Gegen diese Auffassung sprechen neben dem serologischen Befunde Geschmack, Aroma, ferner das mikroskopische und chemische Verhalten. Etwas kleinere Zahlen als sie bei den soeben erwähnten Proben ermittelt wurden, waren bei Nr. 12 und 16 zu konstatieren. Letzterer gab mit Phosphorwolframsäurelösung keinen Niederschlag, worauf bereits an anderer Stelle hingewiesen worden ist. Der hohe Wassergehalt bei Nr. 12 und die mikroskopischen Ergebnisse von Nr. 12 und 16 deuten an, dass es sich um verunreinigte Honige handelt, welche den Anforderungen, die an reine echte Bienenhonige zu stellen sind, nicht entsprechen. Nr. 27 und 28 erwiesen sich sowohl serologisch, wie auf Grund der Reaktionen nach *Fiehe* und *Ley* als Kunstprodukte. Gleich zu taxieren wie die Proben Nr. 12 und 16 war Nr. 40, ein französischer Honig, bei dem die mikroskopische Prüfung auch Verunreinigungen feststellte. Als Kunsthonige waren nach dem biologischen Verfahren ferner zu deklarieren die Proben Nr. 45, 74 und 79. Dieses Resultat wird auch durch verschiedene chemische Reaktionen bestätigt. Bei Nr. 75 sodann resultieren für die Schichthöhen der Präzipitate Zahlen, wie sie bei Honigprodukten erhalten wurden, die aus einem Gemisch von Bienen- und Kunsthonig bestanden. In nachstehender Tabelle XIV kommt ein Beispiel eines solchen gemischten Honigs zur Darstellung, bei welchem das Mischungsverhältnis von Bienenhonig und Kunsthonig ein wechselndes ist.

**Tabelle XIV.**

Honigsorte und Mischungsverhältnisse	Verdünnungsgrade			Total Präzipitatemenge		Differenz zwischen abgelesener und berechneter Totalpräzipit.
	10 %	2 %	1 %	abgelesen	berechnet	
Bienenhonig . . . . .	10,5 mm	3,0 mm	2,0 mm	15,5 mm	15,5 mm	0
Kunsthonig . . . . .	0	0	0	0	0	0
3 Teile Bienenhonig } . .	9,0 »	2,0 »	1,25 »	12,25 »	11,61 »	+ 0,64 mm
1 Teil Kunsthonig } . .	6,0 »	1,5 »	ca. 1,0 »	8,50 »	7,75 »	+ 0,75 »
1 Teil Bienenhonig } . .	3,5 »	1,0 »	ca. 0,5 »	5,0 »	3,87 »	+ 1,13 »
3 Teile Kunsthonig } . .	1,25 »	0 »	» »	1,25 »	1,55 »	- 0,30 »
9 Teile Kunsthonig } . .						

Ganz ähnliche Präzipitatemengen wie Nr. 75 ergab, zeigte in dieser Zusammenstellung die Mischung von 1 Teil Bienenhonig : 3 Teilen Kunsthonig. Die mikroskopische Untersuchung genannter Probe hat ferner das Vorhandensein von Bienenleibern und Holzstückchen ermittelt. Es stellt daher Nr. 75 entweder ein Falsifikat dar, oder aber, was ebenfalls in den Bereich der Möglichkeiten zu ziehen ist, es wurde dieses Produkt durch einen Schmelzprozess gewonnen, wobei die Eiweissstoffe teilweise denaturiert worden sind. Bei einer derartigen Manipulation werden auch Aroma und Geschmack sehr stark verändert, so dass ein solcher Honig als minderwertig anzusehen ist.

Ein ausserordentliches Interesse beanspruchen nun ferner die Ergebnisse der beiden Proben «Fütterungshonig» Nr. 23 und Nr. 72. Sie unterschieden sich schon makroskopisch von echtem Bienenhonig, indem sie dickflüssigem Zuckersirup ähnlich sahen. Die Präzipitate waren bedeutend weniger voluminos, als sie die reinen Naturprodukte zeitigten. Es gelingt daher, auch solche Honigtypen mittelst des Präzipitinverfahrens zu kennzeichnen.

Diese Untersuchungen haben auch den Beweis erbracht, dass bei gären- den Honigen (Nr. 19 und Nr. 76) die Verwendbarkeit der Präzipitinreaktion nicht aufgehoben wird.

### Resumé.

Die Prüfung der 90 Honigproben und Zuckerarten mittelst der quantitativen Präzipitinreaktion hat ergeben, dass

1. bei Zuckerarten kein Präzipitat auftrat,
2. Kunsthonige entweder wie Zuckerarten sich verhielten oder, wo Niederschläge konstatiert wurden, dies nur bei den 10- resp. 15%igen Lösungen der Fall war und nur in sehr kleinen Mengen (Spuren bis höchstens 2 mm Schichthöhe),
3. bei echten Bienenhonigen und unter Berücksichtigung der Befunde die mit dem gleichen Antibienenhonigserum ermittelt wurden die Schichthöhen der Präzipitatsäulchen nur innerhalb verhältnismässig kleiner Grenzen schwankten und stets auch bei der 1%igen Lösung noch ein deutlich sichtbares Präzipitat gebildet wurde,
4. bei «Mischhonigen», die aus echtem Bienenhonig und Kunsthonig bestanden, die Präzipitatsäulchen entsprechend der Abnahme des Bienenhonigs in der Mischung kleiner ausfielen,
5. «Fütterungshonige» deutlich geringere Präzipitatemengen ergaben, als echte reine Bienenhonige,
6. bei gären- den Honigproben die Menge des gebildeten Präzipitates, verglichen mit demjenigen, die bei echten Naturhonigen erhalten wurden, nicht abnahm.

#### IV. Schlussbemerkungen nebst Angaben über die jetzige Form des serologischen Verfahrens bei Honiguntersuchungen.

Durch die vorstehenden Untersuchungsergebnisse dürfte der Beweis erbracht worden sein, dass die quantitative Präzipitinreaktion für die Beurteilung des Honigs und seiner Kunsterzeugnisse wertvolle Dienste zu leisten vermag, ja dass sie den bisherigen zu diesen Zwecken verwendeten chemischen und physikalischen Methoden aus verschiedenen Gründen überlegen ist. Bei dem serologischen Verfahren wird auf einen Stoff — das Bieneneiweiss — geprüft, das anscheinend in verhältnismässig konstanten Mengen dem Bienenhonig beigemischt ist. Wohl ist es möglich, den im Honig vorkommenden Eiweissgehalt durch eiweissfällende Agenzien, wie Tannin, Phosphorwolframsäurelösung u. a. m. zu ermitteln, aber wir haben bei den durch die genannten Chemikalien entstandenen Niederschlägen keine absolute Garantie dafür, dass diese wirklich die *spezifischen* Eiweissstoffe der Biene enthalten. Es kann sich hier ebensogut um andere Eiweissstoffe handeln, die in betrügerischer Absicht dem Honig einverleibt worden sind. Noch ein weiterer Punkt bietet hier Interesse. Es hat nämlich den Anschein, als ob zwischen dem mittelst Phosphorwolframsäurelösung eruierten Albumingehalt und den Präzipitatemengen echter Bienenhonige keine näheren gesetzmässigen Beziehungen bestehen. Ferner zeigten die Resultate des biologischen Verfahrens in seiner Anwendung auf eine Serie von Honigproben und unter Benützung des gleichen Antiserums eine bessere Uebereinstimmung als bei der Fällung der Albumine durch Phosphorwolframsäure. Die beiden Momente machen es daher sehr wahrscheinlich, dass bei der Präzipitinreaktion und bei dem chemischen Nachweis mittelst eiweissfällender Reagenzien nicht genau die gleichen Körper ermittelt werden. Bei der Verarbeitung des Pollens und Nektars durch die Biene ist anzunehmen, dass der Honig mit den Säften des Honigmagens gleichmässig durchtränkt werde, was durch die Uebereinstimmung der serologischen Daten gestützt wird. Die Schwankungen der Zahlenergebnisse für den Albumingehalt deuten anderseits darauf hin, dass auch noch von Pollen und Nektar herrührende Stoffe mittelst Phosphorwolframsäurelösung mitgefällt werden, die je nach Gegend und Flugort der Bienen wechseln können. Während also mittelst der Präzipitinreaktion etwas für den Honig spezifisches, das ihn von Kunstprodukten unterscheidet, getroffen wird, ist das bei der Albuminbestimmung nicht so ausgesprochen der Fall.

Die verschiedenen angeführten Argumente dürften beweisend dafür sein, dass dem serologischen Verfahren gegenüber den chemischen Untersuchungsmethoden bei Honiguntersuchungen eine Vorzugsstellung einzuräumen ist. Vorläufig möchte ich von den theoretischen Erörterungen, inwiefern die bei den Honiguntersuchungen zutage geförderten Ergebnisse mit den bisherigen Kenntnissen über das Wesen, das Zustandekommen und den quantitativen Verlauf der Präzipitinreaktion in Einklang zu bringen sind, absehen. Sie sollen einer späteren Publikation vorbehalten bleiben.

Im Nachfolgenden gedenke ich nun noch eine eingehende Beschreibung des Verfahrens zu geben, die es jedem mit den Elementen der serologischen Arbeitstechnik Vertrauten ermöglichen soll, eine Unterscheidung des echten Bienenhonigs von Kunsterzeugnissen vorzunehmen.

Wie aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen hervorging, variieren die gebildeten Präzipitatemengen ein und desselben Honigs je nach der Wertigkeit des Antiserums. Solange nun die Frage der Einstellung der Antisera mittelst einer Standartlösung für die Honiguntersuchungen nicht gelöst ist, sind wir gezwungen, die Wirksamkeit der Antibienenhonigsera an einem Bienenhonig festzustellen. Die auf diese Weise ermittelten Zahlen dienen uns dann als Vergleichsresultate für die zu prüfenden Honigproben. Die Auswahl dieses Kontrollhonigs ist nun sehr wichtig. Nach den bisherigen Erfahrungen empfiehlt es sich, einige Proben frisch gewonnener Waldhonige gut zu mischen und einen solchen Mischhonig für die genannten Zwecke zu benützen.

Für die Ausführung von Honiguntersuchungen sind folgende Apparate, Gerätschaften und Reagenzien notwendig: Zentrifuge, die mindestens 1500 Umdrehungen pro Minute macht und deren Tourenzahl genau regulierbar ist; Zentrifugengläser (Mellimeter)<sup>1)</sup>, deren kapillarer Teil genau kalibriert ist (vide nebenstehende Figur) und dazu passende Gummipropfen, Gestelle für die Zentrifugengläser (Mellimeter); Tarier-Wage; Wasserbad mit Kochvorrichtung zum Auflösen fest kandierter Honigproben; Thermometer; einige Bechergläser, gewöhnliche Reagenzgläser, und Glasstäbe und Spatel; gewöhnliches Reagenzglasgestell; einige Messzylinder à 100 cm<sup>3</sup> Inhalt mit eingeschliffenem Stöpsel; einige 1 cm<sup>3</sup>-Pipetten mit 1/10 cm<sup>3</sup>-Einteilung; Fettfarbstifte zum Notieren auf Glas; Vorrat an sterilem, destilliertem Wasser; 1/2%ige Soda- und Milchsäurelösung; Lackmus- oder Neutralrotfärbpapier; Toluol; Vorrat an echtem Bienenhonig und Kunsthonig; normales Kaninchen-serum; Antibienenhonigserum.

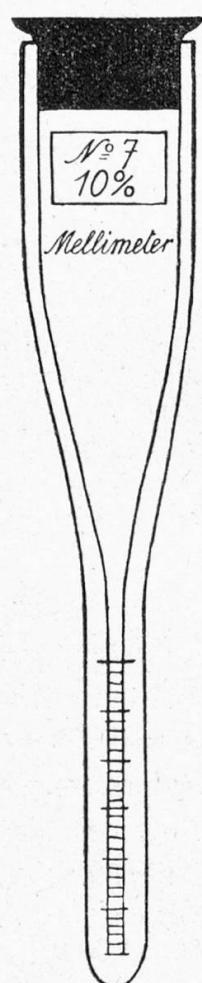


Fig. 15  
(natürl. Grösse)

Die Ausführung des quantitativen Präzipitinverfahrens bei Honiguntersuchungen lässt sich in die beiden Operationen der Vorprüfung des Antibienenhonigserums und der eigentlichen Reaktion zerlegen.

<sup>1)</sup> Die für die serologische Honigprüfung geeigneten Zentrifugengläser sind bei der Firma *C. Desaga*, in *Bern* und *Heidelberg*, unter der Bezeichnung « Mellimeter » nach Dr. J. Thöni erhältlich. Die Einteilung des kapillaren Teiles der Mellimeter wurde so gewählt, dass 1 Teilstrich = 1,5 mm<sup>3</sup> entspricht. Von der gleichen Verkaufsstelle können auch für die Mellimeter passende Gestelle bezogen werden.

**a) Vorprüfung der Wirksamkeit des Antibienenhonigserums.**

Zunächst hat man sich davon zu überzeugen, dass das Antiserum brauchbar ist und an zweiter Stelle, welche Präzipitatquanta bei dem Kontrollbienenhonig durch dieses Serum gebildet werden. Beide Fragen können gewöhnlich gleichzeitig durch die folgende Versuchsanordnung gelöst werden:

1. Bereitung von neutral reagierenden, klaren 10-, 2- und 1%igen Lösungen des Kontrollbienenhonigs, wobei als Lösungsmittel steriles, destilliertes Wasser zu verwenden ist.
2. Bereitung einer neutral reagierenden klaren 10%igen Lösung von reinem Kunsthonig.
3. Bereitstellen von 5 Mellimetern auf ein mit Nummern versehenes, für diese Gläser gut passendes Gestell.
4. Beschickung der Zentrifugengläser mit folgenden Lösungen und Quantitäten:

Röhrchen I = 1 cm<sup>3</sup> der 10%igen Bienenhoniglösung + 1/2 cm<sup>3</sup> Antibienenhonigserum + 1 Tropfen Toluol.

Röhrchen II = 1 cm<sup>3</sup> der 2%igen Bienenhoniglösung + 0,3 cm<sup>3</sup> Antiserum + 1 Tropfen Toluol.

Röhrchen III = 1 cm<sup>3</sup> der 1%igen Bienenhoniglösung + 0,2 cm<sup>3</sup> Antiserum + 1 Tropfen Toluol.

Röhrchen IV = 1 cm<sup>3</sup> der 10%igen Bienenhoniglösung + 0,5 cm<sup>3</sup> normales Kaninchenserum + 1 Tropfen Toluol.

Röhrchen V = 1 cm<sup>3</sup> der 10%igen Kunsthoniglösung + 0,5 cm<sup>3</sup> Antiserum + 1 Tropfen Toluol.

5. Verschliessen sämtlicher Röhrchen mit gut passenden Gummipropfen und Durchmischen des Inhaltes durch gehöriges Schütteln.
6. Ruhiges Stehenlassen der beschickten Gläser während einer Stunde bei Zimmertemperatur.
7. Ein brauchbares Antiserum zeigt nach 1stündiger Einwirkungsdauer in Röhrchen I (10%ige Bienenhoniglösung) deutliche Sedimentsbildung, in Röhrchen II und III ebenfalls Niederschläge oder doch ausgesprochene Trübung. Der Inhalt von Röhrchen IV und V muss nach dieser Zeit klar geblieben sein. Nach diesem Befunde kann mit der Behandlung des Untersuchungsmaterials begonnen werden. Es braucht also nicht das endgültige Resultat abgewartet zu werden.
8. Nach 5 Stunden, gerechnet vom Einfüllen der Mellimeter hinweg, werden Röhrchen I, II und III (der Inhalt von Röhrchen IV und V soll auch jetzt noch nicht getrübt sein) bei einer Tourenzahl von 1500 pro Minute zentrifugiert und die Schichthöhen des Präzipitates bestimmt.

**b) Die Ausführung der eigentlichen Reaktion.**

Nachdem man sich über die Tauglichkeit des Antiseraums Gewissheit verschafft hat (was bei der Vorprüfung schon nach einer Stunde nach Beschicken der Gläser der Fall ist), kann mit der Behandlung des zu prü-

fenden Honigs eingesetzt werden. Die einzelnen Operationen bleiben die gleichen, wie sie bei der Vorprüfung des Antiserums ausgeführt wurden, nur werden für jede zu untersuchende Honigprobe 4 Mellimeter verwendet. Wir haben also folgende Arbeiten auszuführen:

1. Bereitung von neutral reagierenden, klaren 10-, 2- und 1%igen Lösungen des Untersuchungsmaterials.
2. Bereithaltung von je 4 Mellimetern für jede zu prüfende Honigprobe.
3. Beschickung der Mellimeter mit folgenden Materialien und Quantitäten:

Röhrchen I = 1 cm<sup>3</sup> der 10%igen Lösung des Prüfungsmaterials + 0,5 cm<sup>3</sup> Antibienenhonigserum + 1 Tropfen Toluol.

Röhrchen II = 1 cm<sup>3</sup> der 2%igen Lösung des Prüfungsmaterials + 0,3 cm<sup>3</sup> Antibienenhonigserum + 1 Tropfen Toluol.

Röhrchen III = 1 cm<sup>3</sup> der 1%igen Lösung des Prüfungsmaterials + 0,2 cm<sup>3</sup> Antibienenhonigserum + 1 Tropfen Toluol.

Röhrchen IV = 1 cm<sup>3</sup> der 10%igen Lösung des Prüfungsmaterials + 0,5 cm<sup>3</sup> normales Kaninchenserum + 1 Tropfen Toluol.

4. Verschliessen sämtlicher Röhrchen mit passenden Gummipropfen und Durchmischen des Inhaltes durch andauerndes heftiges Schütteln.
5. Ruhiges Stehenlassen der beschickten Röhrchen während 5 Stunden bei Zimmertemperatur.
6. Nach Verlauf der unter 5 angeführten Zeitdauer Verbringen der Mellimeter in die Zentrifuge und Zentrifugieren der Proben während 5 Minuten bei einer Tourenzahl von 1500 pro Minute.
7. Ermittlung des Resultates; Röhrchen IV darf keinen Niederschlag aufweisen.
8. Gegenüberstellung der Ergebnisse der Untersuchungsmaterialien mit den Ergebnissen des Kontrollbienenhonigs. Gleiche oder grössere Präzipitatquanta bei dem Untersuchungsmaterial im Vergleich zu dem Präzipitat des Kontrollhonigs lassen auf Echtheit des Untersuchungshonigs schliessen, wesentlich kleinere Präzipitatemengen des Prüfungsmaterials als sie bei dem Kontrollhonig auftraten deuten auf gemischten Honig (Mischung von Bienenhonig mit Kunsthonig) hin, während das gänzliche Fehlen oder das Vorkommen sehr kleiner Mengen nur in der 10%igen Honiglösung auf Kunsthonig oder solchen Honig hinweist, dessen Eiweißstoffe zerstört worden sind. In den nebenstehenden Figuren 16 und 17 sind die Gestelle mit Kontroll- und Untersuchungsproben dargestellt.

Zu dem in möglichster Kürze skizzierten Gang des serologischen Verfahrens seien noch einige erläuternde Zusätze gemacht, die besonders dem Anfänger wertvolle Dienste leisten können und ihm die Aufgabe einer solchen Untersuchung erleichtern dürften. Die Bereitung der neutralen, klaren Honiglösungen geschieht am einfachsten auf folgende Weise. Alle festgewordenen und kandierten Honigproben werden im Wasserbade bei

### I. Gestell mit Kontrollproben.

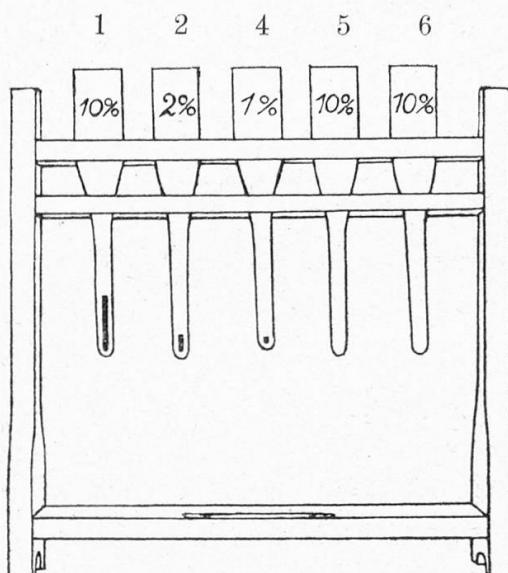


Fig. 16.

### Erklärung zu Fig. 16.

- Röhrchen 1, 2 und 3 = Kontrollbienenhonig + Antibienenhonigserum
- Röhrchen 4 = Kontrollbienenhonig + normales Kaninchenserum
- Röhrchen 5 = Kunsthonig + Antibienenhonigserum

### II. Gestell mit Untersuchungsproben.

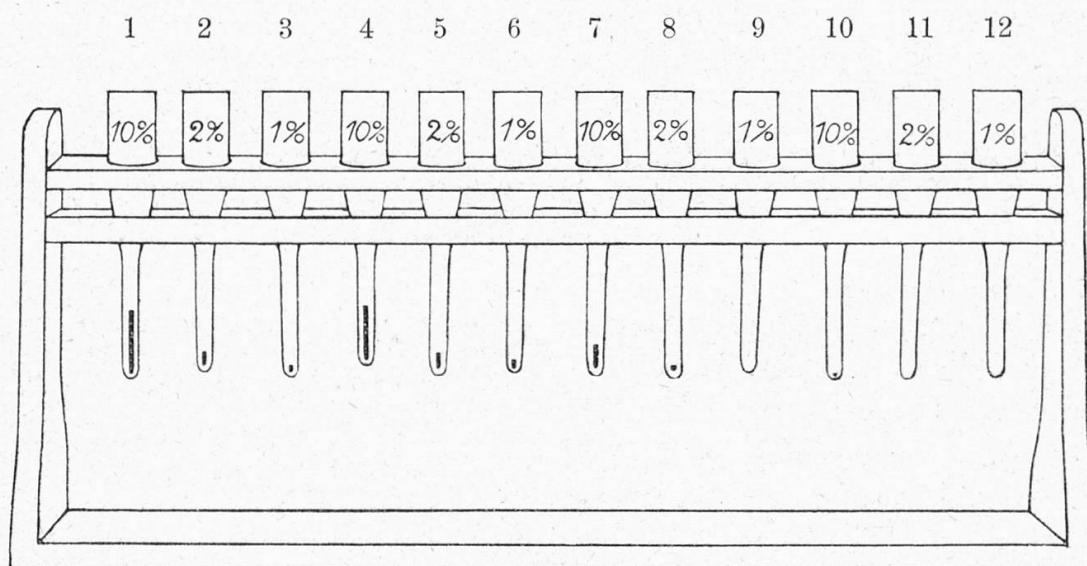


Fig. 17.

### Erklärung zu Fig. 17.

- Röhrchen 1, 2 und 3 = Präzipitatmengen der 3 Verdünnungen bei Bienenhonig
- Röhrchen 4, 5 und 6 = Präzipitatmengen der 3 Verdünnungen bei Bienenhonig
- Röhrchen 7, 8 und 9 = Präzipitatmengen der 3 Verdünnungen bei Mischhonig bestehend aus Bienen- und Kunsthonig
- Röhrchen 10, 11 und 12 = Präzipitatmengen der 3 Verdünnungen bei Kunsthonig

45—50° C leicht flüssig gemacht und gut gemischt. Dann werden von jeder Honigprobe je 10 g in ein Becherglas abgewogen und mit angewärmtem (45—50° C), destilliertem, sterilem Wasser gelöst. Nach vollständiger Auflösung des Honigs wird mittelst Lackmus- oder Neutralrotfärbereitung die Reaktion geprüft. Die Lösungen sollen neutral reagieren. Saure Lösungen werden mit  $\frac{1}{2}\%$ iger Sodalösung, alkalisch reagierende Lösungen mit  $\frac{1}{2}\%$ iger Milchsäurelösung möglichst genau auf neutrale Reaktion eingestellt. Als weitere Manipulation folgt die Gewinnung klarer Lösungen. Diese bietet im allgemeinen keine Schwierigkeiten. Meistens genügt eine Filtration durch gewöhnliche Filter. Die im Becherglase sich noch befindende neutrale Honiglösung wird direkt in einen Messzylinder von 100 cm<sup>3</sup> Inhalt filtriert und mit destilliertem, sterilem Wasser auf 100 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Zweckmäßig werden solche Messzylinder gewählt, deren Öffnungen durch eingeschliffene Stöpsel abschließbar sind. Diese auf 100 cm<sup>3</sup> aufgefüllte Honiglösung entspricht einer 10%igen Lösung. Durch gehöriges Schütteln wird der Inhalt gleichmäßig vermischt. Von der 10%igen Lösung ausgehend werden die 2- und 1%igen Lösungen bereitet, indem man mit einer Pipette in ein erstes Reagensglas 2 cm<sup>3</sup> und in ein zweites 1 cm<sup>3</sup> der 10%igen Honiglösung bringt und bei beiden Reagensgläsern den Inhalt auf 10 cm<sup>3</sup> auffüllt. Der Inhalt des ersten Reagensglases stellt dann eine 2%ige, derjenige des zweiten Reagensglases eine 1%ige Honiglösung dar. Beim Beschicken der Millimeter mit den Honiglösungen wird für jede Honigprobe eine besondere Pipette benutzt. Wo 3 Lösungen der gleichen Honigprobe verwendet werden, beginnt man mit Einfüllen mit der 1%igen Verdünnung, dann folgt die 2%ige und erst zuletzt die 10%ige. Auf diese Weise erspart man sich das Reinigen von 2 Pipetten. Das Antibienenhonigserum wie das normale Kaninchenserum werden gewöhnlich in Tuben von 1, 2 und 5 cm<sup>3</sup> vorrätig gehalten. Da es nun vorkommen kann, dass nicht der gesamte Inhalt eines solchen Serumfläschchens benutzt wird, so muss darauf Bedacht genommen werden, den noch übrig bleibenden Rest vor Infektion zu schützen. Die Entnahme des Serums darf daher nur mit sterilen Pipetten erfolgen, wobei selbstverständlich für jede Serumart eine andere Pipette zu gebrauchen ist.

Um alle Fehlerquellen bei dem serologischen Verfahren auszuschließen, sind, wie aus der obigen Anweisung hervorgeht, 3 Kontrollen notwendig, und zwar für die Vorprüfung des Antibienenhonigserums zwei, für die eigentliche Reaktion eine.

Die Kontrollen bei der Vorprüfung, Röhrchen IV und V, haben folgenden Zweck. Röhrchen IV — Zusatz von normalem Kaninchenserum zu der 10%igen Bienenhoniglösung — in dem kein Niederschlag auftreten soll, beweist, dass das in den Röhrchen I, II und III sich einstellende Präzipitat auf einer spezifischen Wirkung des Antiserums beruht und dass normales Kaninchenserum eine solche Reaktion nicht auslöst. Röhrchen V — Zusatz von Antibienenhonigserum zu einer 10%igen Kunsthoniglösung —

in dem ebenfalls kein Niederschlag entstehen darf, zeigt, dass, sobald das spezifische Bieneneiweiss fehlt, die Präzipitinreaktion auch ausbleibt.

Die Kontrolle bei der eigentlichen Reaktion — Röhrchen IV — liefert den Beweis, dass ein Zusatz von normalem Kaninchenserum zu der Untersuchungslösung keine Fällung gibt.

Wurde als Kontrollbienenhonig ein aus einigen Sorten gemischter frischer Waldhonig benutzt, so dürfen die Resultate des Untersuchungsmaterials nicht wesentlich kleinere Präzipitatquanta bei den 3 verschiedenen Verdünnungsgraden geben, sonst ist der Verdacht auf Fälschung begründet. Wiesenhonige weisen im allgemeinen etwas höhere Präzipitatsmengen auf als Waldhonig, was besonders dann zu berücksichtigen ist, wenn Wiesenhonig als Kontrollhonig benutzt wurde.

Ist die Untersuchung mit den notwendigen Kontrollen ausgeführt worden, so wird die Beurteilung des Befundes keine Schwierigkeiten bieten. Kunsthonige geben gar keine oder nur bei der 10%igen Lösung sehr geringe Präzipitate. Die Ursache des Auftretens von Präzipitatspuren bei Kunsthoniglösungen haben wir bereits früher kennen gelernt. Bienenhonige, die mit Kunsthonig oder Zuckerlösungen gemischt wurden, dürften ebenfalls ohne weiteres als Falsifikate an dem Minderausfall an Präzipitat gegenüber dem Kontrollhonig erkannt werden.

Eine gewisse Einschränkung erfährt das serologische Verfahren nur dann, wenn die Eiweißstoffe des Honigs denaturiert worden sind. Mit der Zerstörung dieses Honigbestandteiles wird aber auch der Geschmack und das Aroma derart verändert, dass meines Erachtens ein solches Produkt leicht als minderwertig zu taxieren ist. Bei den heute üblichen Honiggewinnungsverfahren ist eine Schädigung der Eiweißstoffe nicht zu befürchten, selbst bei dem in Gebirgsgegenden zuweilen noch vorkommenden Ausschmelzen aus den Waben an der Sonne oder auf angewärmtem Ofen. Eine Behandlung des Bienenhonigs, bei welcher die Eiweißstoffe vernichtet oder wesentlich geschädigt werden, kann nur mehr aus Unkenntnis oder aber in betrügerischer Absicht erfolgen. Durch Einfügen einer kurzen Bemerkung in die Definition «Bienenhonig» könnte überhaupt bei der zukünftigen Lebensmittelgesetzgebung dafür Sorge getragen werden, dass der zu hoch erhitzte Honig ausgeschaltet wird.

Bei dieser Besprechung des serologischen Verfahrens für die Honigkontrolle habe ich die Technik der Gewinnung der Antibienenhonigsera nicht einbezogen, weil unser Laboratorium die Aufgabe übernommen hat, für die amtlichen Untersuchungsanstalten das Antibienenhonigserum gratis zu bereiten. Dem Serologen dürfte anderseits für die Erzeugung von diesen Antiseren die eingangs gegebene Darstellung genügen.