

Analyse du risque posé en santé animale par la présence de l'hydroxyméthylfurfural dans les sirops de nourrissage des abeilles domestiques

WILMART O.¹, REYBROECK W.³, DE MEULENAER B.⁴, DE GRAAF D.C.⁵, NGUYEN B.K.⁶,
HUYGHEBAERT A.^{2,4}, SAEGERMAN C.^{2,7}

- ¹ Direction d'Encadrement pour l'Evaluation des Risques, Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA), CA-Botanique - Food Safety Center, Boulevard du Jardin botanique, 55, 1000 Bruxelles, Belgique.
- ² Comité scientifique, Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA), CA-Botanique - Food Safety Center, Boulevard du Jardin botanique, 55, 1000 Bruxelles, Belgique.
- ³ Eenheid Technologie & Voeding, Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek, Brusselsesteenweg 370, 9090 Melle, België.
- ⁴ Vakgroep Voedselveiligheid en Voedselkwaliteit, Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Universiteit Gent, Coupure Links 653, 9000 Gent, België.
- ⁵ Laboratorium voor Zoöfysiologie, Faculteit Wetenschappen, Universiteit Gent, K.L. Ledeganckstraat 35, 9000 Gent, België.
- ⁶ Unité Entomologie fonctionnelle et évolutive, Département Sciences agronomiques, Gembloux Agro Bio Tech, Université de Liège, Passage des Déportés 2, 5030 Gembloux, Belgique.
- ⁷ Unité de Recherche en Epidémiologie et Analyses de Risques appliquées aux Sciences vétérinaires (UREAR), Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, bât. B42, 4000 Liège, Belgique.

Correspondance : Ir Olivier Wilmart ; E-mail : olivier.wilmart@afsca.be

RÉSUMÉ : Cet article traite d'un incident qui s'est produit en Belgique, au cours de l'hiver 2009-2010, et suite auquel de nombreuses colonies d'abeilles domestiques ont été perdues. Des analyses ultérieures ont montré que ces colonies avaient été nourries pendant l'hiver à l'aide d'un sirop de sucre inverti de betteraves qui présentait une forte concentration en hydroxyméthylfurfural (HMF). Les concentrations en HMF variaient de 18,8 ppm à 365,6 ppm. Les données issues de la littérature scientifique sont assez limitées mais plusieurs auteurs confirment un effet nocif de l'HMF sur la santé des abeilles. D'autres éléments pourraient toutefois avoir joué un rôle dans cette mortalité apparente tels qu'une cristallisation des sirops, entraînant une indisponibilité du sucre pour les abeilles, et de ce fait la mort de celles-ci par manque de nourriture. Dans l'attente d'acquérir de nouvelles connaissances scientifiques en la matière, il est recommandé de suivre les bonnes pratiques apicoles détaillées dans cet article afin de limiter autant que possible la formation d'HMF dans les sirops de nourrissage des abeilles domestiques. En outre, une limite d'action provisoire correspondant à une concentration maximale de 40 ppm d'HMF est proposée de manière à maîtriser le risque au niveau des producteurs et distributeurs de sirops de nourrissage des abeilles domestiques.

1. INTRODUCTION

1.1. L'hydroxyméthylfurfural

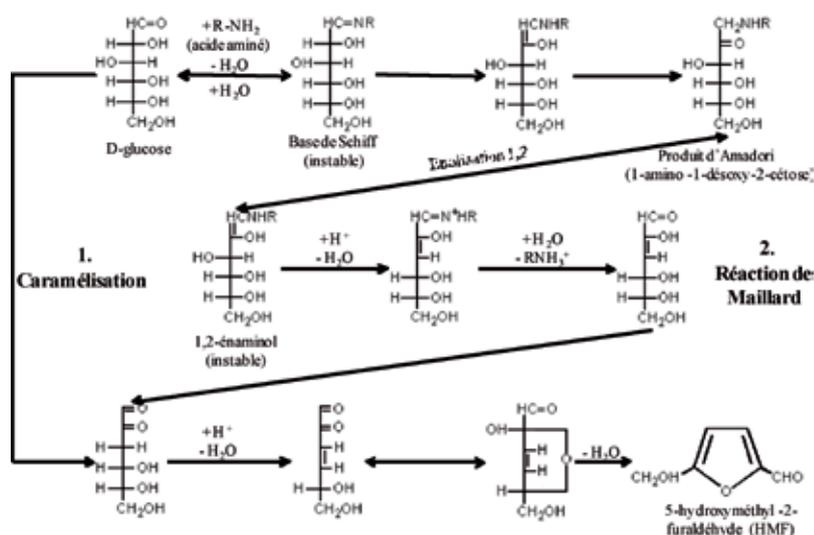
L'hydroxyméthylfurfural (5-hydroxyméthyl-2-furaldéhyde) (HMF) se forme spontanément comme intermédiaire dans la réaction de Maillard (Machiels et Istasse, 2002), qui est pour rappel une réaction entre les résidus aminés des protéines ou des acides

aminés et des sucres réducteurs, et comme produit typique de dégradation des hexoses lors de la caramélisation. La figure 1 schématise les différentes étapes conduisant à la formation d'HMF. La structure chimique de l'HMF est, quant à elle, représentée à la figure 2.

Bien que l'HMF n'est pas, ou très peu, présent dans les denrées alimentaires fraîches ou non-traitées, il s'accu-

mule rapidement pendant le traitement thermique (relation directe entre la formation d'HMF et la charge de chaleur appliquée) et le stockage des produits riches en hydrates de carbone. La concentration en HMF peut varier fortement dans diverses denrées alimentaires (ex. café, fruits transformés, lait traité thermiquement, produits céréaliers, miel) et peut même parfois excéder 1 g/kg (1000 ppm) dans

Figure 1 : représentation schématique des principales voies de formation de l'hydroxyméthylfurfural (HMF) au cours d'un traitement thermique des denrées alimentaires (d'après Morales (2009)).



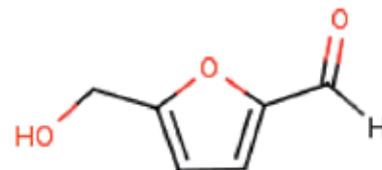
certains fruits séchés et produits au caramel. La concentration en HMF est d'ailleurs largement utilisée comme marqueur de la détérioration de la qualité, résultant d'un chauffage excessif ou d'un stockage dans des conditions inadéquates, pour un large éventail de denrées alimentaires contenant des hydrates de carbone.

1.2. L'hydroxyméthylfurfural et le miel

Dans le miel, Morales (2009) précise que l'HMF y est naturellement présent en très petites quantités et qu'il est produit par l'action de l'acidité normale du miel sur les sucres réducteurs et le saccharose habituellement à température ambiante. Comme mentionné ci-dessus, la concentration en HMF dans le miel augmente suite à un traitement thermique et/ou à un stockage à une température inappropriée (Escriche *et al.*, 2008). Le miel est soumis à un traitement thermique pour deux raisons différentes : pour modifier sa tendance à cristalliser ou retarder son apparition et, dans de rares cas, pour réduire la charge microbienne. Le traitement thermique du miel entraîne simultanément une diminution de l'activité diastasique et de l'activité de l'invertase. L'activité diastasique désigne l'activité d'une enzyme appelée diastase ou α -amylase. Celle-ci est naturellement présente dans le miel car elle est sécrétée par les abeilles afin d'hydrolyser l'amidon et les sucres complexes contenus dans les nectars et miellats qu'elles récoltent, dans

le but de s'en nourrir. L'application d'un traitement thermique au miel entraîne une diminution de l'activité de cette enzyme. L'indice diastasique (*Diastase Number*) (DN) est dès lors un paramètre de qualité du miel qui renseigne sur « l'état de fraîcheur » de ce dernier. Cet indice est déterminé par les méthodes spectrophotométriques de Schade et de Phadebas, qui se basent sur la mesure de l'hydrolyse d'une quantité connue d'amidon ajouté au miel dilué (*International Honey Commission*, 2009). L'activité diastasique s'exprime selon l'échelle de Schade, qui correspond à l'échelle de Gothe, ou en gramme d'amidon hydrolysé par heure à 40°C et pour 100 g de miel (Bogdanov *et al.*, 1997, cité par Tosi *et al.*, 2008). Afin de s'assurer que le miel n'a pas subi un traitement thermique excessif, la Directive 2001/110/CE impose un indice diastasique supérieur ou égal à 8 sur l'échelle de Schade. L'activité de l'invertase désigne quant à elle l'activité d'une enzyme appelée invertase ou α -glucosidase. Celle-ci est aussi naturellement présente dans le miel car elle est sécrétée par les abeilles afin d'hydrolyser le saccharose, contenu dans les nectars et miellats qu'elles récoltent, en glucose et fructose dans le but de s'en nourrir. L'application d'un traitement thermique au miel entraîne également une diminution de l'activité de cette enzyme. L'indice d'activité de l'invertase (*Invertase Number*) (IN) est dès lors aussi un paramètre de qualité du miel qui

Figure 2 : structure chimique de l'hydroxyméthylfurfural (HMF)



renseigne sur « l'état de fraîcheur » de ce dernier. Cet indice est déterminé par la méthode spectrophotométrique de Siegenthaler, qui se base sur la mesure de la décomposition du substrat p-nitrophényl α -D glucopyranoside en produit p-nitrophénol, qui a une absorbance maximale à 400 nm (*International Honey Commission*, 2009). L'activité de l'invertase s'exprime en gramme de saccharose hydrolysé par heure dans les conditions du test pour 100 g de miel. L'indice d'activité de l'invertase n'est actuellement pas inclus dans les standards internationaux de qualité du miel, bien que l'invertase soit considérée comme un meilleur indicateur de fraîcheur du miel que l'activité diastasique, en raison de sa plus grande sensibilité aux traitements thermiques (Persano Oddo *et al.*, 1999). L'*International Honey Commission* (IHC) a toutefois émis une proposition de normes : ≥ 50 unités Siegenthaler pour les miels normaux; ≥ 20 unités Siegenthaler pour les miels avec une faible teneur en enzyme et ≥ 10 unités Siegenthaler pour les miels d'*Arbutus*, *Robinia* et *Erica* (Bogdanov *et al.*, 1997).

1.3. L'hydroxyméthylfurfural et les sirops de nourrissage des abeilles domestiques

Cette revue concerne non pas la concentration en HMF dans le miel mais bien sa concentration dans les sirops de nourrissage des abeilles domestiques (*Apis mellifera*). Au printemps 2010, l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA) a en effet reçu plusieurs plaintes relatives à des cas de mortalité apparente (à savoir que la mortalité est estimée mais non mesurée et qu'il ne peut être exclu que des abeilles aient quitté la ruche avant de mourir) de colonies entières d'abeilles domestiques. Des analyses ultérieures ont montré que ces colonies avaient été nourries pendant l'hiver à l'aide d'un sirop de sucre inversé de betteraves

(35 % fructose, 32 % dextrose (glucose) et 33 % saccharose, selon van der Zee et Pisa (2010)) qui présentait une forte concentration en HMF.

Contrairement à l'HMF éventuellement présent dans le miel, qui ne semble poser aucun risque significatif pour la santé publique (cf. point 1.5. ci-dessous), l'HMF présent dans les sirops de nourrissage des abeilles semble être toxique pour celles-ci. Jachimowicz et El Sherbiny (1975) ont d'ailleurs démontré qu'il existait une corrélation linéaire positive et significative ($n = 0,6 \log c - 0,13$) entre le taux de mortalité (n) et le logarithme de la concentration en HMF ($\log c$). Selon ces auteurs, un sirop contenant 30 ppm (mg/kg) d'HMF administré aux abeilles ne montre aucune influence significative sur la longévité des abeilles. Par contre, un sirop (solution de sucre inverti produite à partir de la mise en solution de 770 g de glucose hydraté, de 700 g de fructose et de 100 g de saccharose dans 1430 ml d'eau distillée, portée auparavant au pH 3,9 par addition d'acide citrique (10 %)) contenant 150 ppm d'HMF conduit en moyenne (calculée sur 2 ans (1973 et 1974)) à 58,7 % de mortalité des abeilles après 20 jours d'administration. En 2006, Ceksteryte et Racys ont conclu qu'un sirop sucré fabriqué à partir de maïs et contenant 48 ppm d'HMF était inoffensif pour les abeilles domestiques hivernantes. Plus récemment, LeBlanc et collaborateurs (2009) sont arrivés à des résultats similaires. Ainsi, une administration aux abeilles d'un sirop de maïs à haute concentration en fructose (55 %) et contenant 150 ppm d'HMF conduit à 50 % de mortalité après 19 jours. Toutefois, une comparaison de la mortalité après 26 jours ne révéla pas de différence significative entre les concentrations en HMF de 57, 100, 150 et 200 ppm. Seule une concentration en HMF de 250 ppm conduisit à une mortalité significativement plus importante après 26 jours, que pour les concentrations en HMF mentionnées ci-avant. Ces auteurs conclurent que cette concentration de 250 ppm est à considérer comme toxique pour les abeilles. Hormis ces quelques études, d'autres données toxicologiques relatives à l'influence de l'HMF sur la santé des abeilles domestiques ne semblent pas exister.

1.4. Fabrication des sirops de nourrissage des abeilles domestiques

La production de sirops de nourrissage des abeilles domestiques se fait soit enzymatiquement, soit chimiquement à

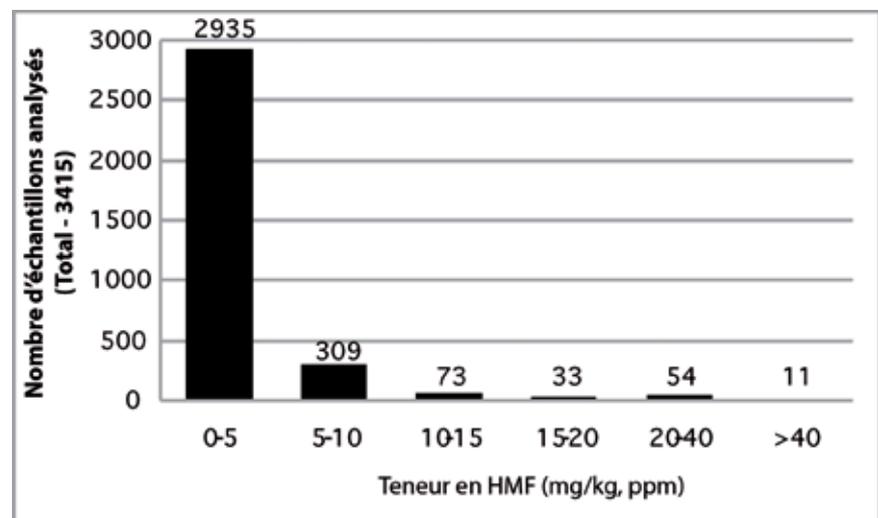
partir de sucres plus complexes tels que l'amidon ou le saccharose. La voie enzymatique constitue un traitement plus « doux » et conduit dès lors à une moindre formation d'HMF. Au contraire, la voie chimique entraîne des phénomènes de caramélisation et conduit dès lors à une formation plus importante d'HMF. Bailey (1966, cité par LeBlanc *et al.*, 2009) a d'ailleurs démontré qu'un sirop de saccharose hydrolysé à l'aide d'une enzyme invertase était non toxique pour les abeilles, au contraire d'un sirop de saccharose hydrolysé à l'aide d'acide minéral ou organique. Précisons toutefois, qu'au sein du secteur apicole, les sirops de nourrissage des abeilles sont dans la plupart des cas préparés par l'apiculteur lui-même, par la dissolution de sucre de saccharose dans de l'eau. Ces sirops « *self made* » ne devraient pas satisfaire à la concentration maximale provisoire proposée ci-dessous car ils ne sont pas commercialisés, mais il est dans l'intérêt de l'apiculteur à ce que ces sirops respectent néanmoins cette limite.

1.5. Contexte législatif

Afin de s'assurer que le miel n'a pas subi un traitement thermique excessif, la Directive 2001/110/CE impose une concentration maximale en HMF de 40 ppm et un indice diastasique supérieur ou égal à 8 sur l'échelle de Schade. Pour les miels originaires de régions ayant un climat tropical

et pour les mélanges de ces miels, la concentration maximale en HMF est de 80 ppm (Union européenne, 2001). Cette directive impose également un indice diastasique d'au moins 3 sur l'échelle de Schade pour les miels ayant une faible concentration naturelle en enzymes (par exemple, les miels d'agrumes) et une concentration en HMF inférieure ou égale à 15 ppm, pour les miels dits « de qualité ». Il ne s'agit dès lors pas de limites maximales imposées pour protéger la santé des consommateurs mais bien de limites visant à garantir qu'un miel est frais, c'est-à-dire qui n'a pas été stocké trop longtemps et/ou à une trop haute température ou qui n'a pas été chauffé de manière excessive. L'HMF semble en effet ne poser aucun risque significatif pour la santé publique aux niveaux actuels d'exposition (*International Agency for Research on Cancer*, 1998 ; Severin *et al.*, 2010). Morales (2009) précise qu'une dose journalière admissible (*Acceptable Daily Intake*) (ADI) de 2 mg d'HMF par kg de poids corporel est proposée pour l'homme par Zaitzev et collaborateurs (1975), en utilisant un facteur de sécurité égal à 40. En Belgique, la très grande majorité (3274 échantillons sur 3285, soit 99,66 % avec un intervalle de confiance 95 % compris entre 99,40 et 99,83 %) des miels analysés par le Centre apicole de Recherche et d'Information (CARI) au cours de la période 2006-2009

Figure 3 : distribution des miels analysés par le Centre apicole de Recherche et d'Information (CARI) entre 2006 et 2009 et par l'*Instituut voor Landbouw en Visserijonderzoek* (ILVO) en 2010 en fonction de leur concentration en hydroxyméthylfurfural (HMF) (sources : Freytag (2010) et ILVO, communication personnelle de W. Reybroeck).



satisfaisaient à la limite légale de 40 ppm d'HMF. Un total de 97,05 % de ces miels analysés présentaient même une concentration en HMF inférieure à 15 ppm. L'*Instituut voor Landbouw en Visserijonderzoek* (ILVO) confirme ces résultats en démontrant que tous les miels analysés par leurs soins pour l'année 2010 satisfont à la limite légale de 40 ppm d'HMF. Selon ces résultats, 120 échantillons sur 130 de ces miels analysés présentent même une concentration en HMF comprise entre 0 et 5 ppm (92,31 % avec un intervalle de confiance 95 % compris entre 86,31 et 96,25 %). Ces résultats sont représentés à la figure 3.

Par contre, en ce qui concerne la concentration en HMF dans les sirops de nourrissage des abeilles domestiques, il n'existe jusqu'à présent aucune limite maximale au niveau national, européen ou mondial.

2. EXAMEN DE L'INCIDENT D'AVRIL 2010 ET DE L'ÉTAT DE LA SITUATION

2.1. L'incident d'avril 2010

Les concentrations en HMF variaient de 108,2 ppm à 365,6 ppm pour les échantillons de sirop prélevés par l'AFSCA chez un apiculteur confronté à ce problème de mortalité, et de 18,8 ppm à 66,4 ppm pour les échantillons de sirop prélevés par l'AFSCA directement chez le producteur des sirops incriminés. Les résultats sont détaillés dans le tableau I.

Selon van der Zee et Pisa (2010), le producteur des sirops de sucre inversé de betteraves dont il est question dans le présent article n'avait mis en place aucun contrôle de la qualité de sa production, ni en ce qui concerne la concentration en HMF, ni en ce qui concerne la composition des sirops produits (ex. concentrations en fructose, glucose et saccharose). De sérieux manquements au niveau de l'étiquetage et de la traçabilité ont également été constatés. Rappelons qu'une entreprise active dans la chaîne alimentaire, dont les fournisseurs d'intrants agricoles, doivent satisfaire aux exigences imposées par l'arrêté royal du 14 novembre 2003 relatif à l'auto-contrôle, à la notification obligatoire et à la traçabilité dans la chaîne alimentaire (Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, 2003).

En outre, les sirops sucrés incriminés présentaient apparemment une couleur

Tableau I : concentrations en hydroxyméthylfurfural (HMF) et pH des différents échantillons de sirops de nourrissage des abeilles domestiques analysés lors de l'incident d'avril 2010 en Belgique (source : Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA)).

N° échantillon	pH	HMF (ppm)	Lieu de prélèvement	Echantillonneur
2067/10/0002	3,8	18,8	Producteur 1	AFSCA
2067/10/0003	4,7	66,4	Producteur 1	AFSCA
2067/10/0004	4,5	169,5	Apiculteur	AFSCA
2196/10/0037	4,1	364,1	Apiculteur	AFSCA
2196/10/0038	4,6	108,2	Apiculteur	AFSCA
2543/10/0016	4,4	365,6	Apiculteur	AFSCA

Légende : ppm : part par million (mg/kg)

brunâtre alors qu'ils auraient dû être translucides. Cette couleur brunâtre témoigne très probablement de phénomènes de caramélisation au cours desquels de l'HMF a très probablement dû se former.

van der Zee et Pisa (2010) ont démontré qu'il y avait une relation linéaire positive et significative ($r = 0.831$, $n = 10$, $p < 0,003$) entre la concentration en fructose et la concentration en HMF dans les sirops incriminés dont il est question dans cet article de revue. Ces auteurs ont également mis en évidence une relation linéaire négative et tout aussi significative ($r = -0.832$, $n = 10$, $p < 0,003$) entre les concentrations en saccharose et en HMF.

2.2. L'état de la situation

Suite à cet incident, l'AFSCA a programmé différents contrôles au sein du secteur apicole afin de vérifier la concentration en HMF des sirops de nourrissage des abeilles domestiques mis sur le marché belge.

Les résultats de ces contrôles sont repris dans le tableau II. Les concentrations en HMF varient de 9 ppm à 38,3 ppm pour les échantillons prélevés par l'AFSCA chez des producteurs de sirops (différents du producteur concerné par l'incident d'avril 2010), et de $< 1,0$ ppm à 44,4 ppm pour les échantillons prélevés par l'AFSCA chez des négociants. Par ailleurs, l'ILVO a communiqué à l'AFSCA des résultats d'analyse suivants : 122,5 ppm, 45,2 ppm et 0 ppm pour des échantillons de sirop de nourrissage des abeilles achetés respectivement en septembre 2009 pour le premier et en mai 2010 pour les deux autres (communication personnelle de W. Reybroeck). En outre, le CARI a également communiqué à l'AFSCA plusieurs résultats d'analyse de la concentration en HMF dans des sirops de nourrissage des abeilles (tableau III). Les concentrations variaient de 19,4 ppm à 124,9 ppm en 2009 et de 0 ppm à 226,3 ppm en 2010.

Tableau II : concentrations en hydroxyméthylfurfural (HMF) des différents échantillons de sirop de nourrissage des abeilles domestiques analysés en juillet 2010 (source : Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA)).

N° échantillon	HMF (ppm*)	Lieu de prélèvement	Echantillonneur
371954	38,3	Producteur 2	AFSCA
371958	14,2	Producteur 3	AFSCA
372918	24,5	Négociant	AFSCA
373448	44,4	Négociant	AFSCA
376009	24,4	Négociant	AFSCA
376011	14,7	Négociant	AFSCA
376200	$< 1,0$	Négociant	AFSCA
376381	9,8	Négociant	AFSCA
376382	4,3	Négociant	AFSCA
379701	9	Producteur 3	AFSCA
380606	6,1	Négociant	AFSCA
380828	11,8	Négociant	AFSCA

Légende : ppm : part par million (mg/kg)

Tableau III : caractéristiques (concentration en hydroxyméthylfurfural (HMF), acidité et composition) des échantillons de sirop de nourrissage des abeilles domestiques analysés par le Centre apicole de Recherche et d'Information (CARI) en 2009 et 2010 (source : communication personnelle de H. Dailly).

Année	N° d'analyse	HMF (ppm)	pH	Acidité libre (mEq/kg)	Fructose (%)	Glucose (%)	Maltose (%)	Saccharose (%)	Humidité (%)
2010	10885	226,3	*	*	31,2	30,5	1,5	3,6	28,5
2010	10888	32,8	*	*	26,4	22,1	0,7	16,5	27
2010	10979	220,6	*	*	*	*	*	*	*
2010	11001	ND	*	*	*	*	*	*	*
2010	11002	31,3	*	*	*	*	*	*	*
2010	11003	12,9	*	*	*	*	*	*	*
2010	11160	18,1	4,68	ND	9,1	13	53	ND	22,2
2010	11180	36,2	*	*	15,6	24,5	26,9	ND	*
2010	11233	*	*	*	*	*	*	*	*
2009	10345	19,4	5,86	ND	11,2	15,3	41,5	ND	22,3
2009	10346	124,9	5,01	9,4	32,5	35,2	1,5	5,5	22,5
2009	10347	26,2	4,71	ND	28,4	23,7	0,7	18,4	26,4
2009	10348	*	4,28	22,6	35,7	38,7	2	ND	25,3

Légende : * : mesures non réalisées ; ND : non détecté ; mEq : milli équivalent ; ppm : part par million (mg/kg)

3. DISCUSSION

3.1. Famine dans la ruche

Outre la question de la toxicité éventuelle de l'HMF pour les abeilles domestiques, se pose également la question de l'accessibilité/disponibilité de la nourriture pour les abeilles, en raison d'une cristallisation. Celle-ci est en effet favorisée par une concentration plus élevée en glucose dont la solubilité est inférieure à celle du fructose (environ 45-50 % pour le glucose par rapport à environ 75-80 % pour le fructose et environ 60-65 % pour le saccharose) (Reybroeck, 2008), rendant de la sorte le sucre indisponible pour les abeilles, car sous forme solide. Les abeilles seraient dans ce cas de figure mortes de faim. Des cas de cristallisation du sirop de nourrissage dans les bidons, avant utilisation, ont d'ailleurs été observés au cours de l'hiver 2009-2010 mais également des cas de cristallisation du sirop dans les ruches, après que le sirop ait été stocké dans les cellules des cadres par les abeilles domestiques. En outre, il est à noter que si des phénomènes de cristallisation se produisent dans les sirops, cela conduit très probablement à une concentration de l'HMF dans la phase liquide du sirop ; phase liquide qui seule reste accessible aux abeilles.

3.2. Toxicité de l'hydroxyméthylfurfural pour les abeilles domestiques

LeBlanc et collaborateurs (2009) arrivent à la conclusion qu'une concentration de 57 ppm d'HMF ne diffère

pas significativement d'une concentration de 200 ppm d'HMF au niveau de l'effet sur la mortalité des abeilles domestiques après 26 jours. Sur base de ces résultats, on ne peut cependant conclure à la présence ou à l'absence d'une différence significative entre une concentration de 57 ppm d'HMF et une concentration plus faible de 30 ppm d'HMF (considérée comme sûre pour les abeilles selon Jachimowicz et El Sherbiny (1975), cf. point 1.3.). Il est toutefois souligné que les conclusions de l'étude doivent être interprétées avec précaution étant donné que le sirop utilisé pour le contrôle était constitué de saccharose (élément plutôt défavorable à la production d'HMF en regard des considérations émises au point 2.1.). En outre, cette étude ne précise pas quel type d'abeilles a été utilisé pour les expérimentations. Or, il faut savoir que les abeilles domestiques d'été ne vivent naturellement que 4-5 semaines. En résumé, des inconnues subsistent en ce qui concerne cette étude et celle-ci ne peut dès lors être l'unique référence pour fixer une concentration maximale en HMF des sirops de nourrissage des abeilles. Il est également souligné qu'hormis quelques résultats, notamment ceux de l'étude de van der Zee et Pisa (2010), on ne dispose pas de données systématiques quant au lien entre les concentrations en HMF observées dans les sirops et les taux de mortalité des abeilles observés au niveau des colonies nourries à l'aide de ces sirops. Ainsi, les connaissances scientifiques actuelles sont insuffisan-

tes. Il serait nécessaire d'étudier de manière approfondie la relation qu'il pourrait y avoir entre, d'une part, la concentration en HMF mais également entre la composition des sirops (ex. concentration en glucose, fructose et saccharose) et, d'autre part, la mortalité observée au sein des colonies nourries à l'aide de ces sirops.

3.3. Mauvaises pratiques apicoles

La première version du guide de bonnes pratiques apicoles (Bruneau *et al.*, 2009) recommandait de rendre aux abeilles domestiques ou d'envoyer vers l'industrie de transformation les miels dont les concentrations en HMF dépassent 40 ppm. *A priori*, la limite d'action provisoire (à défaut de définitive) qui est proposée ci-dessous (maximum 40 ppm d'HMF) pour les sirops devrait également s'appliquer aux miels non conformes d'un point de vue de leur concentration en HMF qui sont rendus aux abeilles. Il se pourrait toutefois qu'une différence existe entre un sirop et un miel présentant une même concentration en HMF, en ce qui concerne leur influence sur la santé des abeilles. En l'absence de preuve du contraire, la seconde version du guide (Bruneau *et al.*, 2010), uniquement disponible en néerlandais à l'heure actuelle, a été adaptée en ce sens.

Il est fait remarquer qu'il existe dans la pratique un manque d'homogénéité entre les différents sirops de nourrissage des abeilles disponibles. Leur composition varie fortement. Cela complique la fixation d'une limite

d'action en HMF applicable à tous les produits. La composition de ces sirops devrait être mieux définie/standardisée.

Notons aussi, qu'en pratique, les apiculteurs administrent souvent tiède (légèrement chauffée) l'alimentation sucrée aux abeilles, afin d'obtenir une meilleure stimulation de la reine. Cette pratique risque d'entraîner une augmentation de la concentration en HMF dans le sirop et l'apiculteur doit dès lors veiller à ce que le sirop ne dépasse pas la température de 25°C.

3.4. Autres éléments

D'autres paramètres (ex. présence d'ions métalliques, de phosphates) pourraient influencer la formation d'HMF lors de la production et/ou du stockage des sirops de nourrissage des abeilles. Le rôle de ces facteurs devrait être étudié avec plus de détails.

Davantage d'attention devrait également être portée sur la présence éventuelle de contaminants chimiques, tels que les métaux lourds, dans les auxiliaires technologiques (ex. soude caustique (NaOH)) éventuellement utilisés dans le cadre de la production des sirops de nourrissage des abeilles (Dufault *et al.*, 2009).

4. RECOMMANDATIONS EN MATIÈRE DE GESTION DU RISQUE

Dans l'attente d'acquérir de nouvelles connaissances scientifiques en la matière, il est recommandé de suivre les bonnes pratiques apicoles suivantes afin de limiter autant que possible la formation d'HMF dans les sirops de nourrissage des abeilles domestiques.

Pour les apiculteurs :

- ne pas rendre aux abeilles domestiques les miels dont les concentrations en HMF dépassent les 40 ppm ;
- faire analyser la concentration en HMF des sirops qu'il a lui-même fabriqués.

Pour les apiculteurs et les producteurs de sirops :

- ne pas acheter ou vendre des sirops de nourrissage présentant une couleur brunâtre ;
- ne pas acheter ou vendre des sirops de nourrissage présentant une

cristallisation, même partielle ;

- conserver les sirops de nourrissage à une température inférieure à 25°C. En effet, il a été démontré pour le miel que la concentration en HMF de celui-ci augmentait en fonction de la température de stockage. En l'absence de données spécifiques pour les sirops, il est opportun de se baser sur les connaissances relatives au miel pour émettre la présente recommandation, même si vu la composition des sirops (absence de protéines, et donc de résidus aminés, contrairement au miel), la formation d'HMF devrait être plus lente dans ces derniers que dans le miel (une seule voie possible pour les sirops, la caramélisation ou déshydratation), contre deux voies pour le miel, la réaction avec les protéines ou réaction de Maillard et la caramélisation) ;
- ne pas chauffer un sirop de nourrissage cristallisé dans le but de le liquéfier. Cela ne ferait qu'augmenter sa teneur en HMF. Seule la phase liquide de ces sirops cristallisés peut encore être utilisée, telle quelle (sans chauffage).

Pour les producteurs de sirops :

- mettre sur l'étiquette « conserver à une température inférieure à 25°C » et « à utiliser avant fin... (2 ans après la date de fabrication) ». Cette période maximale d'utilisation devra être précisée sur base de l'augmentation de la concentration en HMF dans le sirop au cours du temps et de la limite d'action proposée dans le présent article ;
- ne pas vendre un sirop produit il y a plus d'un an ;
- privilégier la voie enzymatique comme méthode de production, plutôt que la voie chimique (Rogers, 1995) ;
- standardiser la composition des sirops de nourrissage.

Pour les producteurs de sirops et l'AFSCA, il est conseillé d'appliquer la limite d'action provisoire suivante et de contrôler l'application de celle-ci : Concentration maximale en HMF des sirops de nourrissage des abeilles = 40 ppm (sur base du poids frais). Le choix de cette valeur repose sur le fait que i) Jachimowicz et El Sherbiny (1975) ont démon-

tré qu'une concentration de 30 ppm d'HMF ne montre aucun effet significatif sur la longévité des abeilles, que ii) Ceksteryte et Racy (2006) ont conclu qu'une concentration de 48 ppm d'HMF était inoffensive pour les abeilles hivernantes, et que iii) la norme de qualité pour le miel est de 40 ppm (Union Européenne, 2001). Cette limite d'action devrait être respectée au niveau des producteurs de sirops mais également au niveau des négociants de sirops.

Pour le monde scientifique, il est recommandé d'améliorer les connaissances scientifiques par la réalisation d'études sur les relations qui pourraient exister entre la concentration en HMF des sirops de nourrissage des abeilles domestiques et la mortalité de ces dernières suite à l'administration de ces sirops, entre la composition des sirops de nourrissage des abeilles (ex. concentrations en fructose, glucose, maltose, saccharose) et l'apparition de la mortalité chez ces dernières et entre l'origine (ex. maïs, betteraves) du sucre utilisé pour produire les sirops de nourrissage ainsi que le type de procédés (ex. enzymatique et chimique) et la mortalité des abeilles.

5. COMMUNICATION SUR LE RISQUE

Avant la publication du présent article, le Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire a également déjà eu l'occasion de communiquer sur le risque que représente l'HMF pour la santé des abeilles domestiques. Ses principales conclusions figurent dans son avis 32-2010 (Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, 2010) et servent par ailleurs de base au présent article.

Sur base des travaux de son Comité scientifique, l'AFSCA a programmé, comme mentionné ci-dessus au point 2.2., différents contrôles au sein du secteur apicole afin de vérifier la concentration en HMF des sirops de nourrissage des abeilles domestiques mis sur le marché belge. Il est fort probable qu'il en soit ainsi également dans les années à venir.

D'autre part, la révision du guide de bonnes pratiques apicoles constitue l'opportunité idéale afin de communiquer au secteur apicole les recommandations en matière de gestion du risque détaillées ci-dessus.

6. CONCLUSIONS

Au vu des éléments énumérés ci-avant, il apparaît difficile de fixer à l'heure actuelle une limite d'action définitive pour la teneur en HMF dans les sirops de nourrissage des abeilles domestiques. Une limite d'action provisoire correspondant à une concentration maximale de 40 ppm d'HMF est proposée. Celle-ci devra toutefois être réexaminée dès que de nouvelles études scientifiques seront disponibles. En outre, plusieurs recommandations sont formulées ci-dessus afin de limiter à un minimum la formation d'HMF dans les sirops de nourrissage des abeilles domestiques.

7. REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient B. Verhoeven et D. Van Oystaeyen de l'AFSCA et, E. Bruneau, I. Freytag et H. Daily du CARI pour leur collaboration par la mise à disposition de différentes

données relatives à la concentration en HMF dans le miel et/ou dans les sirops de nourrissage des abeilles.

ABSTRACT

Risk analysis in animal health caused by the presence of hydroxymethylfurfural in syrup for honey bee feeding.

This paper discusses an incident that occurred in Belgium during winter 2009-2010, after which many honey bee colonies have been lost. Later analyses showed that these colonies had been fed during the winter with a inverted sugar syrup from sugar beet which had a high concentration of hydroxymethylfurfural (HMF). HMF concentrations ranged from 18.8 ppm to 365.6 ppm. Data from the scientific

literature are quite limited, but several authors confirm the harmful effect of HMF on honey bee health. Other elements, however, may have played a role in this apparent mortality such as crystallization of syrups, resulting in unavailability of sugar for the honey bees, and thus the death of them from starvation. Pending the acquisition of new scientific knowledge on the subject, it is recommended to follow good beekeeping practices detailed in this article to minimize the formation of HMF in syrups for honey bee feeding. In addition, a draft action limit corresponding to a maximal concentration of 40 ppm of HMF is proposed in order to control the risk at the producer and distributor of syrups for honey bee feeding level.

BIBLIOGRAPHIE

- AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE Arrêté royal du 14 novembre 2003 relatif à l'autocontrôle, à la notification obligatoire et à la traçabilité dans la chaîne alimentaire. [en ligne] 2003 Adresse URL : http://www.afsca.be/autocontrole-fr/legislation/documents/2003-11-14_AR_autocontrole.pdf, consulté le 15 octobre 2011.
- AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SECURITÉ DE LA CHAINE ALIMENTAIRE Avis 32-2010 du Comité scientifique du 15 octobre 2010 : limite d'action pour la concentration en hydroxyméthylfurfural (HMF) dans la nourriture pour abeilles (dossier Sci Com 2010/21). (2010) [en ligne] 2010 Adresse URL : http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/_documents/AVIS32-2010_FR_DOSSIER2010-21.pdf, consulté le 15 octobre 2011.
- BAILEY L. The effect of acid-hydrolysed sucrose on honeybees. *J. Apic. Res.*, 1966, **5**, 127-136.
- BOGDANOV S., MARTIN P., LÜLLMANN C. Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie*, 1997, 1-59.
- BRUNEAU E., LEQUEUX R., REYBROECK W., JACOBS F. Guide de bonnes pratiques apicoles. Centre apicole de Recherche et d'Information (CARI) : Louvain-la-Neuve. [en ligne] (2009) Adresse URL : http://www.cari.be/medias/autres_publications/gdbp-franc_br.pdf, consulté le 15 octobre 2011.
- BRUNEAU E., LEQUEUX R., REYBROECK W., JACOBS F. Gids voor Goede Bijenteeltpraktijken. Centre apicole de Recherche et d'Information (CARI) : Louvain-la-Neuve. [en ligne] (2010) Adresse URL : http://www.cari.be/medias/autres_publications/gdbp_nl_br.pdf, consulté le 15 octobre 2011.
- CEKSTERYTE V., RACYS J. The quality of syrups used for bee feeding before winter and their suitability for bee wintering. *J. Apic. Sci.*, 2006, **50**, 5-14.
- DUFAULT R., LEBLANC B., SCHNOLL R., CORNETT C., SCHWEITZER L., WALLINGA D., HIGHTOWER J., PATRICK L., LUKIW W.J. Mercury from chlor-alkali plants: measured concentrations in food product sugar. *Environ. Health*, 2009, **8**:2 doi:10.1186/1476-069X-8-2
- ESCRICHE I., VISQUERT M., CAROT J.M., DOMÉNECH E., FITO P. Effect of honey thermal conditions on hydroxymethylfurfural content prior to pasteurization. *Food Sci. Tech. Int.*, 2008, **14**, 29-35.
- FREYTAG I. Du changement dans les analyses. [en ligne] (2010) Adresse URL : http://www.cari.be/medias/abcie_articles/135_lab0.pdf consulté le 15 octobre 2011.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER Report of an ad-hoc IARC monographs advisory group on priorities for future evaluations. Lyon, 16-18 September 1998.

- International Agency for Research on Cancer (IARC). [en ligne] (1998) Adresse URL : <http://monographs.iarc.fr/ENG/Publications/internrep/98-004.pdf> consulté le 15 octobre 2011.
- INTERNATIONAL HONEY COMMISSION Harmonised methods of the International Honey Commission. [en ligne] (2009) Adresse URL : http://www.bee-hexagon.net/files/fileE/IHCPapers/IHC-methods_2009.pdf, consulté le 15 octobre 2011.
- JACHIMOWICZ T., EL SHERBINY G. Zur Problematik der Verwendung von Invertzucker für die Bienenfütterung. *Apidologie*, 1975, **6**, 121-143.
- LEBLANC B.W., EGGLESTON G., SAMMATARO D., CORNETT C., DUFAULT R., DEEBY T., ST. CYR E. Formation of hydroxymethylfurfural in domestic high-fructose corn syrup and its toxicity to the honey bee (*Apis mellifera*). *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 7369-7376.
- MACHIELS D., ISTASSE L. La réaction de Maillard : importance et applications en chimie des aliments. *Ann. Méd. Vét.*, 2002, **146**, 347-352.
- MORALES F.J. Hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. In : Stadler R.H., Lineback D.R. (Eds), Process-Induced Food Toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks. Wiley-Blackwell : Hoboken, 2009, 135.
- PERSANO ODDOL., GIOIPIAZZA M., PULCINI P. Invertase activity in honey. *Apidologie*, 1999, **30**, 57-65.
- REYBROECK W. Kristallisatie van honing. [en ligne] (2008) Adresse URL : <http://www.konvib.eu/artikels/producten/honing/1604-kristallistie-van-honing.html>, consulté le 15 octobre 2011.
- ROGERS R.E.L. Choose carbohydrates carefully for your bees. *Am. Bee J.*, 1995, **135**, 742.
- SEVERIN I., DUMONT C., JONDEAU-CABATON A., GRAILLOT V., CHAGNON M.-C. Genotoxic activities of the food contaminant 5-hydroxymethylfurfural using different in vitro bioassays. *Toxicol. Lett.*, 2010, **192**, 189-194.
- TOSIE., MARTINETAR., ORTEGAA M., LUCEROA H., RÉ E. Honey diastase activity modified by heating. *Food Chem.*, 2008, **106**, 883-887.
- UNION EUROPÉENNE Directive 2001/110/CE du Conseil du 20 décembre 2001 relative au miel. [en ligne] (2001) Adresse URL : <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:010:0047:0052:FR:PDF>, consulté le 15 octobre 2011.
- VAN DER ZEE R., PISA L. Bijensterfte 2009-10 en toxische invertsuikersiroop. Nederlands Centrum Bijenonderzoek : Tersoal (Nederland). [en ligne] (2010) Adresse URL : [http://www.bijenonderzoek.nl/\(S\(njwdf145vzstfx55hyu45t55\)\)/pdf/Bijensterfte%202009-10%20en%20toxische%20invertsuikersiroop.pdf](http://www.bijenonderzoek.nl/(S(njwdf145vzstfx55hyu45t55))/pdf/Bijensterfte%202009-10%20en%20toxische%20invertsuikersiroop.pdf), consulté le 15 octobre 2011
- ZAITZEV A.N., SIMONYAN T.A., POZDNYAKOV A.L. [Hygienic standardization of oxymethylfurfurool in food products]. *Vopr. Pitan.*, 1975, **1**, 52-55.