

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL
MEDIO NATURAL



Adulteración de la cera de abeja. Problemática en su industrialización y comercialización.

GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL

2016-2017

Autor del trabajo: Alicia Trillo Soler

Tutora: Dra. Isabel Escriche Roberto

Cotutora: Marisol Juan Borrás

Valencia, 28 de Julio 2017

Adulteración de la cera de abeja. Problemática en su industrialización y comercialización.

Alicia Trillo Soler, Isabel Escriche Roberto I¹; Marisol Juan-Borrás, ¹

RESUMEN

La adulteración de cera de abejas, está preocupando cada vez más al sector apícola. Se trata de un producto natural de la colmena en el que la incorporación de cualquier sustancia se considera una práctica fraudulenta. Las láminas industriales de cera de abeja son utilizadas por los apicultores para ayudar a la formación de nuevos panales, observando en ocasiones el rechazo de estas láminas por parte de las abejas. Esto implica una importante pérdida económica, ya que estas hojas deben ser sustituidas por otras nuevas, y lo que es más importante, disminuye el rendimiento de la colmena en lo que respecta a la producción de miel y al desarrollo de las crías. Una de las causas más probables del este rechazo es la incorporación a la cera de abeja de otros productos más baratos: sintéticos (como las parafina) o ceras vegetales (como la cera de carnauba), entre otros. Estas prácticas tienen lugar durante la fabricación de las láminas estampadas ya que el coste de la cera de abeja es considerablemente mayor al de estos productos adulterantes, lo que hace que resulte atractiva su adulteración. En este sentido, el objetivo de este estudio ha sido generar información acerca de la calidad de la cera estampada que está utilizando el sector apícola español. Para ello, se han analizado muestras de ceras de diferentes orígenes (*Valencia, Teruel, Otros y Empresa*) y tipos (*Opérculo, Bresca y Lámina*). Los parámetros fisicoquímicos, de acidez y especialmente densidad, establecidos como indicadores de calidad, no han resultado idóneos para la diferenciación entre la cera pura de abeja y adulterantes como la cera carnauba y las parafinas. Sin embargo, la relación \sum hidrocarburos pares/ \sum hidrocarburos impares (Carbon Preference Index-CPI), obtenida por cromatografía (GC-FID), permite diferenciar muestras de cera de abeja adulteradas y hacer una estimación del nivel de adulteración que presenta en relación a la incorporación de parafinas. Como era de esperar, las ceras de abeja identificadas como más adulterada han sido las láminas estampadas procedentes de empresas. La utilización de este índice minimizaría la problemática que existe en el sector en relación a la industrialización y comercialización de cera de abeja ya que impediría la entrada de cera adulterada en la cadena de reciclaje y por lo tanto la posterior utilización de láminas inadecuadas para la actividad apícola.

Palabras clave: cera de abeja, adulteración, parafinas, cera carnauba, sector apícola

¹ Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD)
Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 460022 Valencia

Adulteration of beeswax. Problems in its industrialization and commercialization.

Alicia Trillo Soler, Isabel Escriche Roberto I²; Marisol Juan-Borrás,²

ABSTRACT

The adulteration of beeswax is increasingly worrying the beekeeping sector. It is a natural product of the hive in which the incorporation of any substance is considered a fraudulent practice. The industrial sheets of beeswax are used by beekeepers to help the formation of new combs, sometimes observing the rejection of these sheets by the bees. This implies an important economic loss, since these sheets have to be replaced by new ones, and more important, it diminishes the performance of the beehive as far as the production of honey and the development of the hatchlings. One of the most likely probabilities of this rejection is the incorporation of cheaper products into beeswax: synthetic (such as paraffin) or vegetable waxes (such as carnauba wax), among others. These practices take place during the manufacture of stamped sheets since the cost of beeswax is considerably higher of these adulterating products, which makes it attractive to adulterate. Thus, the objective of this study has been generated information about the quality of stamped wax being used by the Spanish beekeeping sector. For this reason, samples of waxes from different origins (*Valencia, Teruel, Others and Company*) and types (Operculum, Bresca and Sheet) have been analyzed. The physicochemical, acidity and especially density parameters, established as indicators of quality, have not been suitable for the differentiation between pure beeswax and adulterating products such as carnauba wax and paraffins. However, the ratio of $\sum \text{odd-numbered} / \sum \text{odd-carbon hydrocarbons}$ (Carbon Preference Index-CPI), obtained by chromatography (GC-FID), allows differentiating samples of adulterated beeswax and estimating the level of adulteration present in relation to the quantity of paraffins. As expected, the most frequently adulterated bee waxes have been stamped sheets from companies. The use of this index minimizes the problems that exist in the sector in relation to the industrialization and commercialization of beeswax. That prevents the entry of adulterated wax in the recycling chain and therefore the subsequent use of inappropriate sheets by the beekeeping sector.

Keywords: bee wax, adulteration, paraffin, carnauba wax, beekeeping sector

² Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD)
Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 460022 Valencia

AGRADECIMIENTOS

El Trabajo Fin de Grado que se presenta a continuación ha sido realizado bajo la dirección de mi tutora, la Dra. D^a M^a Isabel Escriche Roberto, a quien quisiera expresar mi gratitud por hacerlo posible y apoyarme en su consecución, aportando su tiempo, dedicación y conocimientos, como también mi cotutora, la Dr. D^a Marisol Juan Borrás.

Mi agradecimiento a Mario Visquert, por su entrega y apoyo en el desarrollo de toda la fase experimental del trabajo.

Por último, quiero dedicar este trabajo a mi familia, porque su apoyo me ha permitido llegar a este lugar, por aguantarme en los malos momentos y confiar en mí en todo momento.

Alicia Trillo Soler

Valencia, julio 2017

INDICE

1. Introducción	1
1.1. La cera de abeja	1
1.1.1. Como se forma la cera de abeja	1
1.1.2. Composición de la cera de abeja	2
1.2. Industrialización de la cera de abeja	3
1.2.1. Importancia de su industrialización	3
1.2.2. Proceso de reciclado de la cera de abeja	3
1.2.3. Problemática de la industrialización	5
2. Objetivos	7
2.1. Objetivo general	7
2.2. Objetivos específicos	7
3. Material y Métodos	8
3.1. Muestras de cera	9
3.2. Análisis de cera	10
3.2.1. Parámetros físicoquímicos	10
3.2.2. Análisis cromatográfico	11
4. Resultados y Discusión	14
4.1. Cuantificación del grado de acidez y densidad en ceras y parafinas	14
4.2. Cuantificación de hidrocarburos en ceras y parafinas	17
5. Conclusiones	25
6. Bibliografía	26

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Imagen de abeja fabricando el panal	1
Figura 2.	Tipos de construcción de celdillas, según Hepburn (1986)	5
Figura 3.	Cromatógrafo de gases GC 8000 Top	12
Figura 4.	Columna capilar	12
Figura 5.	Tabla de comandos	12
Figura 6.	Inyector del GC	13
Figura 7.	Densidad según el origen de la cera	15
Figura 8.	Acidez según el origen de la cera	15
Figura 9.	Densidad según el tipo de cera	16
Figura 10.	Acidez según el tipo de cera	16
Figura 11.a	Cromatograma de los patrones de hidrocarburos $C_{13}H_{28}$ - $C_{20}H_{42}$	19
Figura 11.b	Cromatograma de los patrones de hidrocarburos $C_{22}H_{46}$ - $C_{36}H_{74}$	19
Figura 12.	Sumatorio de las áreas de los hidrocarburos pares de las muestras	21
Figura 13.	Sumatorio de las áreas de los hidrocarburos impares de las muestras	21
Figura 14.	Relación (\sum hidrocarburos pares/ \sum hidrocarburos impares: “Carbon Preference Index” (CPI)	22

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Valores medios y rangos de los parámetros físico-químicos medidos en cera de abejas blancas y amarillas. Valores de referencia propuestos para los parámetros físico-químicos en la cera de abejas pura (<i>Farmacopea Europea, 2008</i>)	2
Tabla 2.	Principales componentes orgánicos de la cera de abeja pura (<i>Farmacopea Europea, 2008</i>)	3
Tabla 3.	Propiedades físicas de algunas ceras utilizadas como adulterantes según (<i>Bogdanov, 2004</i>).	4
Tabla 4.	Rango de variabilidad de algunos de los de los parámetros fisicoquímicos e índices de calidad de las ceras de abeja pura (<i>Farmacopea Europea, 2008</i>)	4
Tabla 5.	Muestras utilizadas en el estudio: Ceras de abeja de diferentes orígenes geográficos (OG) y de diferentes tipos (TC) (bresca, lámina opérculo); patrón comercial de cera, adulterantes (parafina en perlas, parafina en bloque y cera carnauba); cera con diferentes niveles de adulteración (5%, 10%, 20% y 40%). Códigos de las muestras según OG y TC.	10
Tabla 6.	Valores medios y desviación estándar de los parámetros Físico-Químicos (Densidad y acidez) de la cera de abeja y resultados del ANOVA atendiendo al “Origen” y al “Tipo de cera”	17
Tabla 7.	Formulas, nombres y tiempos de retención de patrones de hidrocarburos.	18
Tabla 8.	Valores medios y desviación estándar de los hidrocarburos individuales, hidrocarburos pares e impares, relación entre pares e impares (CPI) y resultados del ANOVA atendiendo al “Origen Geográfico” y al “Tipo de cera”.	24

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La Cera de abeja

1.1.1. Como se forma la cera de abeja

Las abejas melíferas (*Apis mellifera* L. 1758), son insectos sociales que construyen nidos compuestos por panales paralelos entre sí, en los cuales se desarrolla la cría y se almacena el alimento de la colonia (Seely Y Visscher, 1985 Citado en Pratt, 2004).

La cera de abejas corresponde a una secreción natural, producida por dos pares de glándulas, ubicadas en la zona ventral del abdomen de las abejas jóvenes. Esta secreción está compuesta principalmente por ésteres de ácidos grasos y alcoholes, siendo una sustancia altamente insoluble en agua; a temperatura ambiente se presenta sólida y dura. En su origen es de color blanco, posteriormente va cambiando de tonalidad volviéndose más oscura debido al contenido de polen y a la acumulación de restos de mudas de larvas de la cámara de cría.

Las abejas producen la cera en estado líquido, y al contacto con el aire se solidifica, formando escamas. Estas escamas son moldeadas con sus mandíbulas y con la ayuda del primer par de patas. De esta manera, las abejas van construyendo los panales donde posteriormente albergarán la cría y las reservas de alimento, miel y polen (Figura 1).



Figura 1. Imagen de abeja fabricando el panal

El panal consta de la cera llamada “bresca” y el “opérculo”

- **Bresca**

La bresca es la cera lateral de las celdas que produce la abeja (Figura 1). Las glándulas de las obreras convierten el contenido de azúcar de la miel en cera. El panal de cera tiene una composición compleja, que cuando se retira de la colmena puede ser alrededor del 50 % de cera y el resto de impurezas (camisas, polen...). El panal de cera puede deteriorarse con bastante facilidad, tanto en el almacenamiento, como en los procesos de extracción y separación de la cera, se han de tener en cuenta las condiciones de conservación de las características propias del producto. El panal de cera puede enmohecerse, enranciarse y puede ser atacado por polillas, ratones.

- **Cera de opérculo.**

Proviene del sello que cierra las celdillas de miel o cera de panales, bien de renovación de panales, de sustitución de los ya viejos, o bien de bajas, de colmenas que han desaparecido por cualquier causa (frío, hambre, varroa, etc). La cera de opérculos es la más clara que hay en el mercado y la más apreciada por el apicultor, ya que no tiene tanto deterioro como la de panal en su conservación y procesado. Y, lo que es muy importante hoy en día, no acumula residuos de los tratamientos efectuados a las colmenas con acaricidas contra varroa ni ningún otro agente. Sin embargo es menos elástica que la de panal, y da láminas más quebradizas (independientemente del proceso de fabricación).

1.1.2. Composición de la cera de abeja

La cera de abejas está constituida por más de 300 componentes, (Tulloch, 1980 citado por Bogdanov et al., 2004) mezclas complejas de hidrocarburos parafínicos, ácidos grasos libres, ésteres de ácidos grasos y alcohol graso, y di ésteres, obtenidos de los panales después de retirar la miel por un proceso de centrifugación (Serra Bonvehí, 1988). Esta composición consta de cinco grupos principales: hidrocarburos de cadena recta, (12-16%) con una longitud de cadena predominante de C₂₇-C₃₃; ácidos grasos libres (12-14%), la mayoría de los cuales están saturados (aproximadamente 85%) y tienen una longitud de cadena de C₂₄-C₃₂; alcoholes grasos libres (aproximadamente 1%) de C₂₈-C₃₅ y los ésteres de cera complejos (67%) que contienen ácido hidroxipalmítico o dioles, que a través de su grupo hidroxilo están enlazados a otra molécula de ácido graso (Bogdanov, 2009, Kutnesof y Whitehouse, 2005).

La cera de abejas, presenta unas características fisicoquímicas determinadas, de manera que determinados parámetros característicos pueden tener valores útiles para su diferenciación. En las Tablas 1 y 2 se muestran los valores de referencia propuestos para los parámetros físico-químicos en la cera de pura de abejas y los principales componentes orgánicos de la misma (Farmacopea Europea 2008).

Tabla 1. Valores medios y rangos de los parámetros físico-químicos medidos en cera de abejas blancas y amarillas. Valores de referencia propuestos para los parámetros fisicoquímicos en la cera de abejas pura (Farmacopea Europea, 2008)

Parámetros	Cera blanca		Cera amarilla		Cera pura	
	Media	Rango	Media	Rango	Valores comunes	Datos propios
Acidez [mg KOH/g]	18.5	17.1-20.4	19.3	17.6-21.9	17.0-24.0	17.1-21.9
Densidad [g/mL]	0.936	0.920-0.947	0.934	0.921-0.957	0.960	0.920-0.957

Tabla 2. Principales componentes orgánicos de la cera de abeja pura (Farmacopea Europea, 2008)

Parámetros	Valor
Ésteres	67g/100g
Hidrocarburos	14g/100g
Ácidos libres	12g/100g
Alcoholes	1g/100g
Otros	6g/100g

1.2. Industrialización de la cera de abeja

1.2.1. Importancia de su industrialización

La cera de abeja tiene una excelente demanda en el mercado mundial. Hay más de 300 industrias que la usan. Las industrias de cosméticos y farmacéuticas son los principales consumidores, representando el 70% del mercado mundial y utilizan cera de primera clase que no puede ser sobre calentada. Otro de los consumidores más importantes son las industrias del sector apícola. Los apicultores, con el objetivo de facilitar la tarea a las abejas, proveen estas con láminas de cera prensada, fijándolas e introduciéndolas en los cuadros del interior de la colmena.

En la práctica apícola, para lograr un ahorro económico en la producción de cera y miel, acelerando la construcción de los panales, los apicultores deben desechar los viejos panales y sustituirlos, estimulando así a las abejas a construir otros nuevos. Se trata no solo de una medida higiénica, sino que además ayuda a los apicultores para aumentar la producción de miel. La mayoría de los apicultores entregan sus panales viejos a los fabricantes de cera, para que produzcan bloques de fundición y a partir de ahí producir las láminas estampadas que serán las que se vuelvan a introducir en la colmena (*Bogdanov S., 2016*).

Con la tecnificación que ha tenido la apicultura a lo largo de los años, los apicultores han aprendido a procesar la cera de los panales viejos. A través de este reciclaje el apicultor recupera cera libre de impurezas y microorganismos, la que posteriormente estira y estampa, para formar láminas de cera estampada que serán utilizadas en los marcos del interior de las colmenas. (*Medici, 1957*).

1.2.2. Proceso de reciclado de la cera de abeja

El proceso de industrialización de la cera de abeja consiste en reciclar la cera de abeja antigua; cera que extrae el apicultor de los cuadros de las colmenas, porque están muy deterioradas y no le sería de utilidad a la abeja. Obteniendo una libre de impurezas y microorganismos para de nuevo ser usada.

Hay dos tipos de procesado a láminas:

El procesado automático, donde se funden los cerones limpios y se deja caer un chorro de cera fundida sobre dos rodillos que llevan los hexágonos de las celdillas impresos. Los rodillos giran en direcciones contrarias, y están refrigerados por un chorro de agua jabonosa, que favorece el desprendimiento de la cera después. Se forma así un lienzo de cera estampada de grosor graduable (separando más o menos los rodillos) y que es arrastrada hacia una mesa de corte, en la que se colocan las cuchillas de manera que salgan láminas del tamaño prefijado. Este mecanismo de fabricación da láminas más rígidas, que se rompen fácilmente en frío.

En segundo lugar, el procesado semiautomático en el que la cera fundida forma primero un rodillo liso, que después se pasa a la máquina impresora de los hexágonos y a la mesa de corte. Esta cera es más flexible que la anterior, aguantando golpes sin romperse cuando hace frío.

La mayoría de la cera de opérculo y de los cerones de panal se usa para hacer láminas, generalmente mezclando los dos tipos. Además pueden añadirse a las ceras de abejas diversos tipos de ceras artificiales (parafinas de alto punto de fusión, ceras microcristalinas, etc.). Generalmente se almacena sin más y se vende a los industriales cereros para ser recuperado como láminas. A veces se hacen procesos de extracción y separación de la cera del resto de los componentes del panal: miel en la cera de opérculos, y camisas de la cría, miel y polen en la cera de panales. La cera de opérculo se presenta más o menos melada a la salida de la extracción de miel. Cuando está recién extraída se puede separar bien de la miel por centrifugación cuando pasa el tiempo parte de la miel cristaliza sobre la superficie de los opérculos y la separación es más difícil. En este caso puede separarse más o menos mediante la aplicación de calor; pero se ha de procurar que no sea excesivo, para evitar la pérdida de aromas que la harán menos atractiva para su uso posterior con las abejas

Las parafinas son materiales translúcidos blancos, que se empezaron a utilizar desde la segunda mitad del siglo XIX, y fundamentalmente se destinan a la fabricación de velas para uso doméstico. Éstas se originan a partir de diferentes puntos de fusión, como se puede ver en la (Tabla 3), que oscilan entre 47° y 65°. Las ceras de parafina son químicamente estables y se pueden definir como una fracción del petróleo en la cual predominan los n-alcanos, que son cantidades más pequeñas de los alcanos, cicloalcanos iso y aromáticos.

Tabla 3. Propiedades físicas de algunas ceras utilizadas como adulterantes según (Bogdanov, 2004).

Tipo de cera	Densidad (g/cm ³)	Punto de fusión (°C)	Punto de Inflamabilidad (°C)	Temperatura de Ignición espontánea (°C)
Parafina	0.88-0.94	47-65	198	245
Cera de carnauba	0.99-1	0.82-0.86	>180	Desconocido
Candelilla	-	67-79		
Lanolina	0.92-0.96	31-42	>150	>500

El apicultor, con el objetivo de facilitar el trabajo y ahorrar tiempo, proporciona láminas de cera prensada que compra a las industrias de reciclado de la cera de abeja y a partir de la cual, la abeja comienza a formar las celdillas de las brescas, donde posteriormente depositará el alimento y la cría. Finalmente la abeja sella las celdillas de la bresca con lámina muy fina de cera, lo que se conoce con el nombre de cera de opérculo.

La construcción de las celdillas es simultánea en las dos caras del panal, y tiende a imbricar las de una cara con las de la otra, siguiendo, las abejas, generalmente un patrón “vertical”; el segundo en importancia es el “horizontal”; el “inclinado” y el de “roseta” son los menos frecuentes (Fig.2).

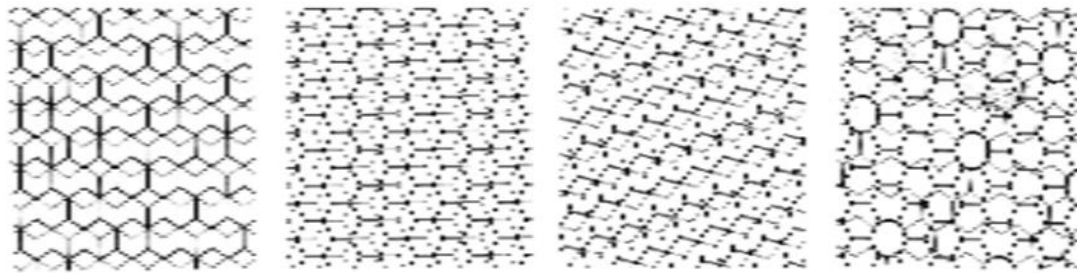


Figura 2. Tipos de construcción de celdillas, según *Hepburn (1986)*.

Es de destacar que el patrón vertical sea el preferido en nuestro clima, cuando ofrece menos fortaleza, menos resistencia a la tensión (se derrumba antes con el calor), que el patrón horizontal. Para las abejas como especie, es más eficaz la reproducción de los enjambres que tienen métodos de conservar la temperatura interna en sus límites razonables ($< 40^{\circ} \text{C}$) mediante el mantenimiento de un espacio correcto entre panales y una ventilación adecuada que la reproducción de los enjambres que hacen un panal más resistente y no tienen esos comportamientos. La construcción de los panales varía, además de con la temperatura externa y la disposición de miel y polen (o alimento), con las instrucciones hereditarias de las abejas (hacer agujeros al medio o no), con el espacio disponible y con la orientación de los campos magnéticos que perciben las abejas.

Finalmente tendremos un panal, más o menos oscuro dependiendo de la dieta de las abejas (tipo de flora), que tendrá una cierta cantidad de propóleos (alrededor del 1 %) en la parte superior para darle más resistencia, y que se utilizará en la colmena para almacenar las reservas, de miel y polen, y para la cría de nuevas abejas.

1.2.3. Problemática derivada de la industrialización

La cera de abejas es un producto natural, por lo tanto no se admiten aditivos ni adulteraciones (Maidana, 2005). Es por ello, que la problemática surge durante la fabricación de las láminas estampadas ya que el coste de la cera de abeja es considerablemente mayor al de otros productos adulterantes, lo que hace que resulte atractiva su adulteración. Realizándose mezclas con sustitutos grasos como la parafina, que suele agregarse hasta en un 10% para facilitar el trabajo industrial de la misma; pero cuando la cantidad es excesiva, la cera no cumple con los requisitos de calidad establecidos por la farmacopea.

La adulteración muchas veces pasa desapercibida por las abejas, pero cuando los porcentajes de adulterantes son elevados, se pueden encontrar los siguientes efectos:

- Rechazo por parte de las abejas: las abejas rechazan la lámina de cera y construyen celdillas en un plano paralelo a la lámina adulterada, provocando un innecesario gasto de energía (Para producir un kilo de cera la abeja debe consumir entre 8 a 12 kilos de miel).
- Inquietud por parte de las abejas: en casos exagerados de adulteraciones la colmena puede quedar impregnada con el olor del adulterante, provocando estrés en las abejas o estimulando que la familia enjambre.
- Engaño para el apicultor que compra cera adulterada: el apicultor estaría comprando a un elevado valor, una cera, que en su composición tiene un adulterante de bajo precio.

Los criterios de calidad actuales para la cera de abeja pura de acuerdo con la farmacopea, descritos en la (Tabla 4), se han venido utilizando para la detección de adulterantes en cera aunque son inadecuados para una determinación fiable, pero se siguen utilizando porque son fáciles de llevar a cabo (*Bernal et al., 2005*). Hoy en día, la adulteración puede detectarse muy sensiblemente mediante la determinación inequívoca por cromatografía de gases de componentes de cera (*Aichholz y Lorbeer, 2000, Boselli et al., 2002, Jimenez et al., 2003, Jimenez et al 2006, Jimenez et al., 2007*).

Tabla 4. Rango de variabilidad de algunos de los de los parámetros fisicoquímicos e índices de calidad de las ceras de abeja pura (*Farmacopea Europea, 2008*).

Propiedades táctiles	Consistencia típica, viscosidad, ductilidad, adhesión
Punto de fusión	61-65 °C
Densidad	0.950-0.965
Índice de refracción (a 75° C)	1.440-1.445
Numero de saponificación	87-102
Numero de acido	17-22
Numero de éster	70-90
Relación éster/acido	3.3-4.3
Contenido de agua	>1%

La adulteración de cera de abejas, está preocupando cada vez más al sector apícola. Este hecho ha sido puesto en evidencia por las ADS apícolas más importantes de España. Entre ellas destaca APIADS (una de las más importantes y representativas de la Comunidad Valenciana y de las primeras de España al agrupar a unos de 440 apicultores y cerca de 140.000 colmenas) y por APICASAJA Alicante con más de 450 profesionales. También han expresado su preocupación al respecto cooperativas apícolas como Melazahar, S.A. (cooperativa de servicios empresariales y profesionales, constituida en 2009 por apicultores valencianos, y sujeta a los principios y disposiciones de la Ley 8/2003 de Cooperativas de la Comunidad Valenciana).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

El objetivo de este estudio ha sido generar información acerca de la calidad de la cera estampada que se está utilizando en el sector apícola español.

Para alcanzar este objetivo general, se han planteado los siguientes objetivos específicos:

2.2 Objetivos específicos

- Aplicar criterios físico-químicos para la detección de adulteraciones en cera de abeja y evaluar la efectividad de los mismos.
- Aplicar criterios cromatográficos para la detección de adulteraciones en cera de abeja y evaluar la efectividad de los mismos.
- Determinar la influencia del origen geográfico y del tipo de cera de abeja en los parámetros físico-químicos y cromatográficos indicadores de adulteración.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Muestras de cera

En el presente estudio, se han utilizado 46 muestras de cera de abeja, de diferentes procedencias y de diferentes tipos (**bresca, lámina opérculo**). Además se ha utilizado patrón comercial de cera (Merck), adulterantes (parafinas y cera carnauba) y cera con diferentes niveles de adulteración (5%, 10%, 20% y 40%).

Cada una de las muestras de cera de abeja procede de distintas provincias de España y de algunas comarcas de la provincia de Valencia. Se cuenta además con ceras que han sido proporcionadas por empresas apícolas de la Comunidad Valenciana.

Para este análisis se han codificado las muestras agrupándolas según sea su origen y tipo de cera. Todas las muestras obtenidas, se agrupan según su origen en: cera de Valencia, Teruel, Otros y Empresa o según el tipo de cera en; brescas de los propios cuadros de distintos colmenares, láminas prensadas de cera comercial, proporcionadas por distintas empresas y algunas ceras puras como la cera de opérculo y cera salvaje.

La codificación de las ceras se rige en el siguiente orden: en primer lugar la inicial del tipo de cera del que se trata ("B" bresca, "L" lámina, "O" opérculo) seguido de las iniciales de cuál es el origen al que pertenece esa cera ("V" Valencia, "T" Teruel, "O" Otros y "E" Empresa seguida de un número que indica un orden cronológico de las muestras. En la Tabla 5 se especifican las ceras que se han utilizado en el estudio.

Las muestras, una vez recogidas se trasladaron al laboratorio de Calidad de la miel, y de los Productos apícolas ubicado en el Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD) en la Universidad Politécnica de Valencia (España).

Tabla 5. Muestras utilizadas en el estudio: Ceras de abeja de diferentes orígenes (O) y de diferentes tipos (TC) (bresca, lámina opérculo); patrón comercial de cera, adulterantes (parafina en perlas, parafina en bloque y cera carnauba); cera con diferentes niveles de adulteración (5%, 10%, 20% y 40%). Códigos de las muestras según O y TC.

Muestra	Procedencia	O	TC	Código O	Código TC
1	Andilla (Serrania)	Valencia	Bresca	V1-S	B-V1-S
2	Andilla (Serrania)	Valencia	Bresca	V2-S	B-V2-S
3	Monterde de Albarracin (Teruel)	Teruel	Bresca	T3-T	B-T 3-T
4	Monterde de Albarracin (Teruel)	Teruel	Bresca	T4-MA	B-T 4-MA
5	Teruel	Teruel	Bresca	T5-T	B-T 5-T
6	Monterde de Albarracin (Teruel)	Teruel	Bresca	T6-MA	B-T 6-MA
7	Andilla (Serrania)	Valencia	Bresca	V7-S	B-V7-S
8	Villar del Arzobispo (Serrania)	Valencia	Bresca	V8-S	B-V8-S
9	Teruel	Teruel	Bresca	T9-T	B-T 9-T
10	Chulilla (Serrania)	Valencia	Bresca	V10-S	B-V10-S
11	Losa del Obispo (Serrania)	Valencia	Bresca	V11-S	B-V11-S
12	Bronchales (Teruel)	Teruel	Bresca	T12-BR	B-T 12-BR
13	Bronchales (Teruel)	Teruel	Bresca	T13-BR	B-T 13-BR
14	Avila (Avila)	Otros	Bresca	A14-A	B-A14-A
15	Villar Arzobispo (Serrania)	Valencia	Bresca	V15-S	B-V15-S
16	Villar Arzobispo (Serrania)	Valencia	Bresca	V16-S	B-V16-S
17	Murcia (Murcia)	Otros	Bresca	M17-M	B-M17-M
18	Losa del Obispo(Serrania)	Valencia	Bresca	V18-S	B-V18-S
19	Saler (Huerta Valencia)	Valencia	Bresca	V19-HV	B-V19-HV
20	Llombai (Rivera alta)	Valencia	Bresca	V20-RA	B-V20-RA
21	Lliria (Serrania)	Valencia	Bresca	V21-S	B-V21-S
22	Villar Arzobispo (Serrania)	Valencia	Bresca	V22-S	B-V22-S
23	Valencia (Empresa)	Empresa	Bresca	V23-E	L-V23-E
24	Valencia (Empresa)	Empresa	Lámina comercial	V24-E	L-V24-E
25	Valencia (Empresa)	Empresa	Lámina comercial	V25-E	L-V25-E
26	Valencia (Empresa)	Empresa	Lámina comercial	V26-E	L-V26-E
27	Valencia (Empresa)	Empresa	Lámina comercial	V27-E	L-V27-E
28	Valencia (Empresa)	Empresa	Lámina comercial.	V28-E	L-V28-E
29	Valencia (Serrania)	Empresa	Lámina comercial.	V29-E	L-V29-E
30	Valencia (Serrania)	Valencia	Cera de opérculo.	V30-S	O-V30-S
31	Valencia (Empresa)	Empresa	Lámina comercial a	V31-E	L-V31-E
32	Valencia	Valencia	Cera de opérculo.	V32-S	O-V32-S
33	Cerdá (Empresa)	Empresa	Lámina de muy buena calidad.	V33-S	L-V33-S
34	Cerdá (Empresa)	Empresa	Lámina de mala calidad.	V34-E	L-V34-E
35	Empresa (Empresa)	Empresa	Lámina de calidad aceptable.	V35-E	L-V35-E
36	Empresa (Empresa)	Empresa	Lámina comercial	V37-E	L-V37-E
37	Valencia (Empresa)	Empresa	Lámina comercial pre	V37-E	L-V37-E
38	Valencia	Valencia	Cera de opérculo.	V38-S	O-V38-S
39	Cera Merk	Cera Merk	Adulteración	Merk	Merk
40	Carnauba	Carnauba	Adulteración	Carnauba	Carnauba
41	Parafina perlas	Parafina p.	Adulteración	Parafina p	Parafina p
42	Parafina bloque	Parafina b.	Adulteración	Parafina b	Parafina b
43	Adult 5%	Adult 5%	Lámina adulterada 5% parafina.	Adult 5%	Adult 5%
44	Adult 10%	Adult 10%	Lámina adulterada 10% parafina.	Adult 10%	Adult 10%
45	Adult 20%	Adult 20%	Lámina adulterada 20% parafina.	Adult 20%	Adult 20%
46	Adult 40%	Adult 40%	Lámina adulterada 40% parafina.	Adult 40%	Adult 40%

3.2. Análisis de las ceras

3.2.1. Parámetros físico-químicos.

Se realizaron los análisis fisicoquímicos de densidad y acidez, recomendados en la *farmacopea Europea* para análisis de cera, siguiendo el procedimiento descrito por (Tulloch, y col, 1980; Serra y col, 1986).

Acidez

Se define el índice de acidez como el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos minerales u orgánicos libres contenidos en un gramo de grasa. A partir de este valor, se puede calcular el porcentaje de ácidos.

El índice de acidez no es una constante específica para cada cera, y su valor es variable según la manera de obtener dicha cera o los tratamientos anteriores a que se hubiera sometido.

Para la determinación de la acidez, se pesa $1 \pm 0,01$ gramo de la muestra en un vaso de precipitados de 250 mililitros y se agregan 50 mililitros de cloroformo. Se calienta bajo un condensador de reflujo hasta la total disolución de la mezcla y se deja enfriar a temperatura ambiente. Se titula con una solución 0,05 M de hidróxido de sodio (JT.BAKER al 97%; CAS: [1310-73-2]), utilizando fenolftaleína como indicador.

Cálculo:

$$I.A. = \text{índice de acidez} = 56,1M(V - V')/w$$

M : Molaridad de NaOH

V : Volumen de la muestra

V' : Volumen del blanco

w : Gramos de muestra

Densidad

En la determinación de la densidad, el primer paso es la calibración del picnómetro. Para ello, se limpia y seca perfectamente el picnómetro y su tapón, con líquido adecuado, a continuación enjuagar con agua destilada seguido de acetona y secar en corriente de aire filtrado o al vacío si fuese preciso. Seguidamente, pesar el picnómetro vacío. Es muy conveniente conservar las anotaciones del peso en vacío, pues las pesadas sucesivas nos pueden indicar diferencias por suciedad o cambio del tapón (el picnómetro y su tapón no deben separarse).

Llenar el picnómetro con agua destilada hasta muy cerca del borde, colocar el tapón dejando que entre sin apretar, debe salir líquido por la parte superior del tapón, presionar el tapón sin tocar la parte superior para ajustarlo. Todo el picnómetro y su tapón deben quedar llenos de líquido y sin burbujas. Secar perfectamente el picnómetro y pesar el picnómetro lleno de agua destilada. La diferencia será la masa de agua destilada.

Una vez calibrado, se introduce dentro de él $10 \pm 0,1$ mg de cera, y se adiciona una pequeña cantidad de agua. A continuación con la ayuda de un cuentagotas se va añadiendo gotas de metanol, hasta que toda la cantidad de muestra haya descendido hasta el fondo del picnómetro. Una vez toda la cera se encuentre en el fondo, la densidad del líquido será igual a la densidad de la cera. Seguidamente se completa con agua hasta el límite superior del picnómetro. Finalmente pesamos el picnómetro con la muestra hidroalcohólica. Mediante la diferencia de volúmenes se obtiene el valor de la densidad.

Cálculo:

$$D = \text{Densidad} = \frac{[(m1-m2)+A]}{[(m3-m2)+A]}$$

A: $0,0012 \cdot (m1-m2)$

m1: peso en g del picnómetro con la mezcla hidroalcohólica.

m2: peso en g del picnómetro vacío

m3: peso en g del picnómetro lleno de agua.

3.2.2. Análisis cromatográfico: Obtención de perfiles de hidrocarburos.

La cromatografía de gases es una técnica que sirve para identificar y cuantificar un gran número de compuestos. Con esta técnica, se obtienen cromatogramas que son la representación gráfica de la señal que da el detector al paso de los distintos analitos en función del tiempo. Los picos obtenidos en cada cromatograma representan los analitos detectados en esa muestra. Los tiempos de retención de cada analítico son útiles para su identificación y las áreas para su cuantificación. En ambos casos se requiere la comparación con los patrones puros correspondientes.

Para la cuantificación de los hidrocarburos existen diversas técnicas, en este trabajo se ha utilizado el método del patrón interno, que en este estudio ha sido el escualeno. El patrón interno, además de ayudar en la cuantificación de los hidrocarburos en las muestras, se utiliza con el fin de corregir cualquier variación en los tiempos de retención que pudiese ocurrir en el análisis cromatógrafo de las muestras.

La concentración de cada uno de los compuestos en las muestras, se calculó a partir del procedimiento descrito por *Serra et al.*; 2012.

Cálculo:

$$Ca = (As \times Cis) / Ais$$

Ca: concentración (g/100g) de alcano en la muestra.

Aa: área del alcano en el cromatograma de la muestra.

Ais: área del escualeno en el cromatograma de la muestra.

Cis: concentración (g/100g) de escualano en el cromatograma de la muestra.

Equipo cromatográfico

El análisis cromatográfico se llevó a cabo mediante un cromatógrafo de gases CE Instruments (CG 8000 TOP), equipado con detector de ionización de llama (FID) (Figura 3), la columna usada fue una columna capilar (SGE) de 25m x 0.32mm ID HT5 x 0.1 micrómetro (Figura 4).

El modo de inyección fue en splitless, y el gas portador fue helio con un flujo de 1ml/min. La temperatura del inyector fue de 275° C, la temperatura del detector fue de 330° C y el horno se programó con una temperatura inicial de 70° C durante 2 minutos, con una rampa de 5 C/min se llegó hasta 310° C manteniéndose durante 5 minutos, finalmente con una rampa de 10 C/min se llegó hasta 330° C manteniéndose esta temperatura durante 35 minutos. De manera que el cromatograma duraba un total de 60 min. El análisis cuantitativo de los hidrocarburos, en la cera de abeja, se ha realizado utilizando el método del patrón interno, utilizando escualeno (C₃₀H₆₂), (Sigma-Aldrich).



Figura 3. Cromatógrafo de gases GC 8000 Top.

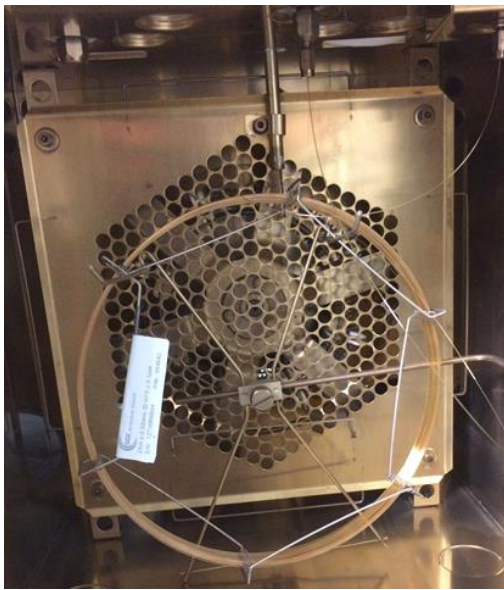


Figura 4. Columna Capilar.



Figura 5. Tabla de Comandos del GC.



Figura 6. Inyector del GC.

Descripción de la metodología empleada

La preparación de las muestras se realizó de la siguiente manera: En un matraz aforado de 5 mL, introducir 0,025g de muestra y 100 μ L de Escualeno (4 mg/mL) y aforar con cloroformo. (*SCHARLAU al 99%*). Se deja reposar hasta dilución de la cera (aprox. 15 min). Seguidamente se inyectaba 2 μ L de muestra en el inyector.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Cuantificación del grado de acidez y densidad en las muestras de cera

Las Figuras 7-8 y 9-10 representan los resultados de acidez y densidad de cada una de las muestras clasificadas según origen y tipo de cera, respectivamente. Los códigos de la figuras corresponden a los relacionados en la Tabla 5. Las líneas rojas de las figuras indican los límites superiores e inferiores, establecidos para estos parámetros, según la *Farmacopea Europea (2008)* para cera pura de abeja: 0.950-0965 (g/mL) para el valor de la densidad y 17-22 (mg KOH/g) para el valor de la acidez.

En las Figuras 7 y 9, correspondientes al parámetro densidad, se observa que menos de la tercera parte de las muestras de cera de abeja, tanto atendiendo al origen como al tipo de cera, alcanzan el mínimo valor requerido para este parámetro. Por el contrario, para el parámetro acidez (Figura 8 y 10) la mayoría de las muestras de cera de abeja, sí entran dentro del rango establecido.

Con respecto a las muestras de parafina y de carnauba, se observa que los valores de acidez (con valores medios de 15.86 e 25.77 respectivamente) difieren mucho de los encontrados en el presente estudio en las ceras de abeja, que oscilaron entre 6.75 y 7.48.

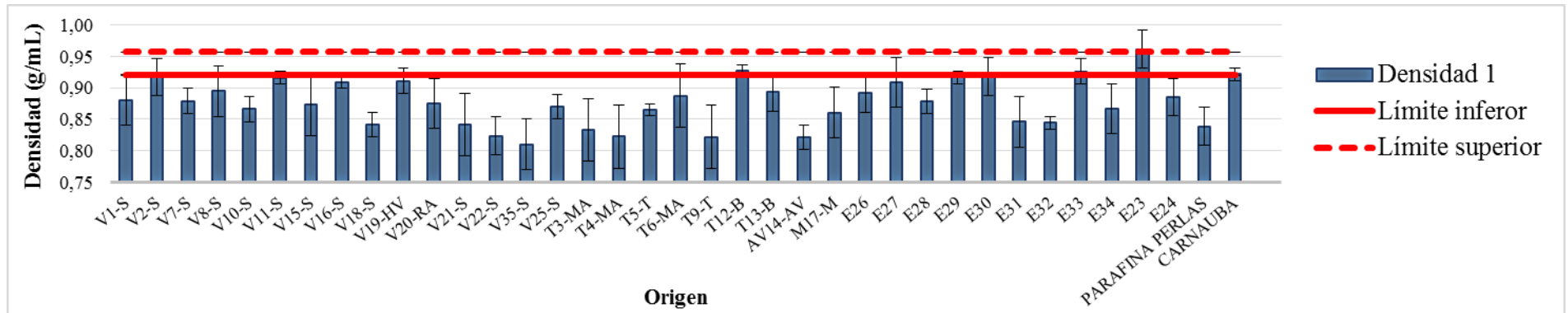


Figura 7. Densidad según el origen de la cera

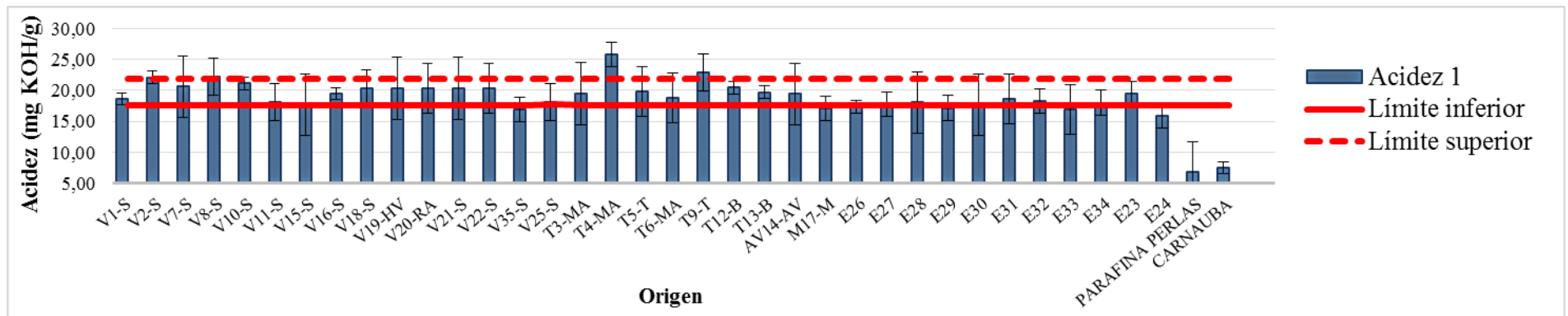


Figura 8. Acidez según el origen de la cera.

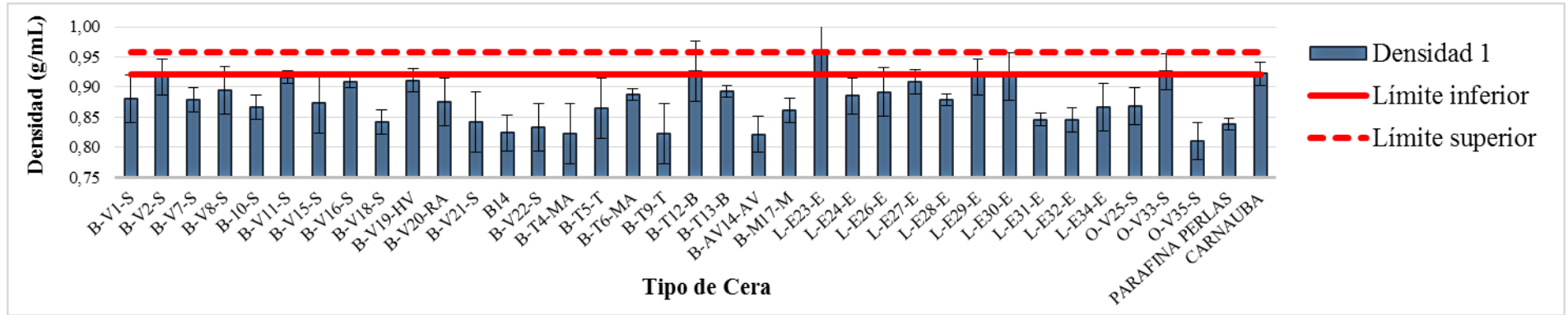


Figura 9. Densidad según el tipo de cera

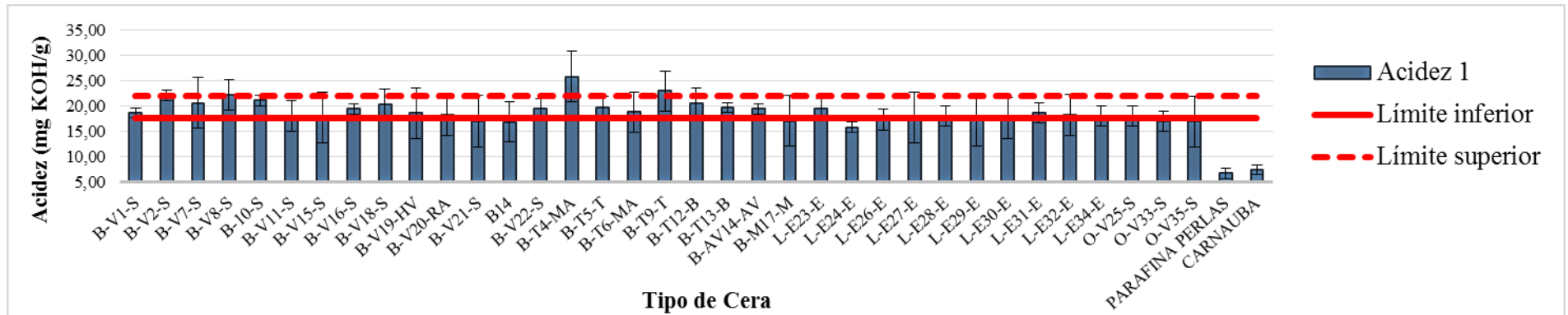


Figura 10. Acidez según el tipo de cera.

La Tabla 6 indica los resultados, del ANOVA (95%) para las variables densidad y acidez de las muestras de cera de abeja, con la finalidad de evaluar si hay diferencias significativas atendiendo al “Origen” y al “Tipo de cera”. Los resultados obtenidos muestran que en relación a la densidad, no existen de diferencias significativas tanto en lo que respecta al origen como al tipo de cera. Por el contrario, en ambos casos la acidez mostró diferencias significativas tanto para el origen (** p<0.01) como el tipo de cera (***p<0.001).

Tabla 6. Valores medios y desviación estándar de los parámetros Físico- Químicos (Densidad y acidez) de la cera de abeja y resultados del ANOVA atendiendo al “Origen” y al “Tipo de cera”.

Origen de la cera					
	Valencia	Teruel	Otros	Empresa	ANOVA
Densidad	0.8(0.03) ^a	0.8(0.04) ^a	0.8(0.03) ^a	0.8(0.03) ^a	NS
Acidez	19.7(1.58) ^{bc}	20.9(2.48) ^c	18.2(1.64) ^{ab}	17.7(0.94) ^a	6.4**
Tipo de Cera					
	Bresca	Lámina	Opérculo	ANOVA	
Densidad	0.8(0.03) ^A	0.8(0.03) ^A	0.8(0.06) ^A	NS	
Acidez	20.2(1.88) ^A	17.8(0.95) ^A	17.3(0.64) ^B	10.1***	

Los resultados de los parámetros fisicoquímicos tanto para densidad como acidez; atendiendo a la recomendación por la (*farmacopea Europea 2008*) y siguiendo los procedimientos descritos por *Tulloch, y col, 1980; Serra y col; 1986* se comprueba que hay similitudes en los resultados obtenidos para los parámetros; acidez, para la cera de abeja pura; opérculo, siguiendo la recomendación de la (*farmacopea Española 1997*) según el procedimientos descrito por *Maidana, J.F; 2005*.

4.2 Cuantificación de hidrocarburos en ceras y parafinas.

La Tabla 7 muestra las formulas, nombres científico y tiempos de retención de los patrones de los 38 hidrocarburos alifáticos (patrones externos) utilizados en el presente estudio para la identificación de los hidrocarburos presentes en las muestras. También se muestra el escualeno utilizado para la cuantificación (patrón interno).

Tabla 7. Formulas, nombres y tiempos de retención de patrones de hidrocarburos

Formula n-alcános	Código del pico en el cromatograma	Nombre del compuesto	Tiempo de retención (min)
$C_{13}H_{28}$	13	Tridecano	0.5
$C_{14}H_{30}$	14	Tetradecano	3.0
$C_{15}H_{32}$	15	Pentadecano	5.4
$C_{16}H_{34}$	16	Hexadecano	7.7
$C_{17}H_{36}$	17	Heptadecano	9.9
$C_{18}H_{38}$	18	Octadecano	11.9
$C_{19}H_{40}$	19	Nonadecano	13.7
$C_{20}H_{42}$	20	Eicoesano	16.3
$C_{21}H_{44}$	21	Heneicoesano	18.2
$C_{22}H_{46}$	22	Docosano	20.0
$C_{23}H_{48}$	23	Tricosano	21.7
$C_{24}H_{50}$	24	Tetracosano	23.4
$C_{25}H_{52}$	25	Pentacosane	24.9
$C_{26}H_{54}$	26	Hexacosano	26.5
$C_{30}H_{50}$	SQ	Escualeno	26.9
$C_{27}H_{56}$	27	Heptacosano	27.9
$C_{28}H_{58}$	28	Octacosano	29.3
$C_{29}H_{60}$	29	Nonocosano	30.7
$C_{30}H_{62}$	30	Triacotano	32.0
$C_{31}H_{64}$	31	Hentriacotano	33.3
$C_{32}H_{66}$	32	Dotriacotano	34.5
$C_{33}H_{68}$	33	Tritriacotano	35.7
$C_{34}H_{70}$	34	Tetratriacotano	36.8
$C_{35}H_{72}$	35	Pentatriacotano	38.0
$C_{36}H_{74}$	36	Hexatriacotano	39.1
$C_{37}H_{76}$	37	Heptatriacotano	40.1
$C_{38}H_{78}$	38	Octatriacotano	40.9

La Figura 11.a y 11.b muestra dos ejemplos de cromatogramas de los patrones de alcanos. En la Figura 11.a se observan los compuestos que van desde el $C_{13}H_{28}$ hasta el $C_{20}H_{42}$ (identificados con los números 13-20). Por otro lado, en la Figura 11.b aparecen los compuestos desde el $C_{21}H_{44}$ hasta el $C_{36}H_{74}$ (identificados con los números 21-36).

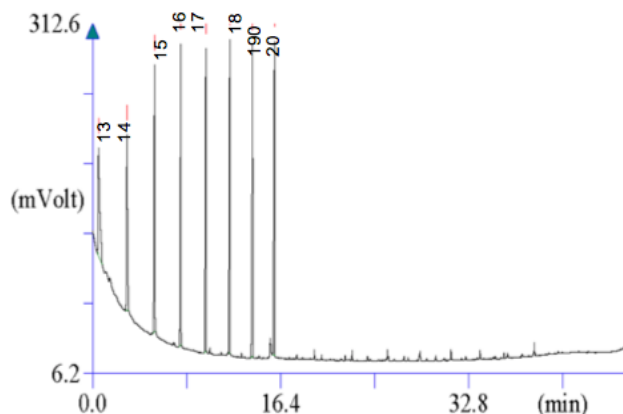


Figura 11.a Cromatograma de los patrones de hidrocarburos ($C_{13}H_{28}$ - $C_{20}H_{42}$)

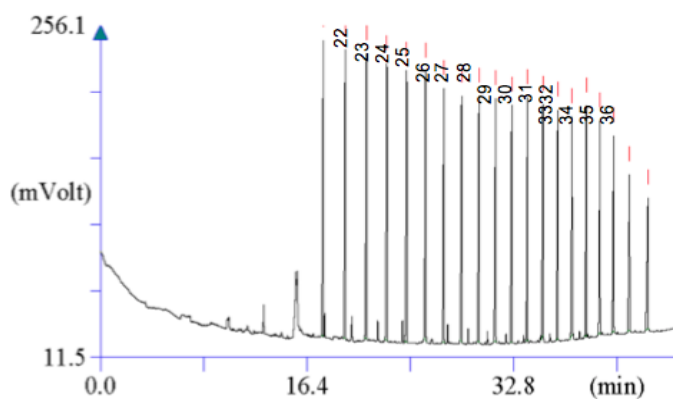


Figura 11.b Cromatograma de los patrones de hidrocarburos ($C_{22}H_{46}$ - $C_{36}H_{74}$)

La cuantificación de los diferentes hidrocarburos en las muestras se ha realizado comparando los tiempos de retención obtenidos en los cromatogramas de la muestras, con los de los patrones de hidrocarburos, pinchados en las mismas condiciones, y considerando las áreas de estos compuestos. En el Anexo 1 (fig. 1 a 10) se muestran algunos ejemplos de cromatogramas de las muestras, de diferentes procedencias (Valencia, Teruel, Murcia, Ávila) y tipos (cera pura de abeja, opérculo y láminas de cera prensada).

A simple vista se observa una diferencia clara en el perfil de hidrocarburos especialmente entre los tipos de cera: pura de abeja, opérculo y láminas de cera prensada. Esto pone en evidencia que el perfil de hidrocarburos puede cambiar con las características de la cera. Este hecho ha sido previamente observado por diferentes autores (*A P. Tulloch; 1980; Jiménez; 2006; Martín, M. T y col, 2006*)

En el Anexo 2 (fig. 11 a 21) se observan a modo individual los hidrocarburos que aparecen en cada una de las muestra. El área que representa cada hidrocarburo, se relaciona con la cantidad de compuesto que hay en la muestra. En dichas figuras, se observa que los hidrocarburos C27, C29, C31 y C33 son los mayoritarios especialmente el C27, que aparece en todas las muestras de cera de abeja analizadas. Sin embargo, no se puede afirmar que la mayor abundancia de estos carbonos sea un hecho exclusivo de la cera de abeja, ya que tanto en la parafina de perlas y parafina, así como en las adulteradas (Adult+5% parafina, Adult +10% parafina, Adult+20% parafina y Adult+40% parafina), el contenido de estos carbonos es también mayoritario. Por lo tanto, la observación a nivel individual de cada hidrocarburo, no se puede considerar un criterio suficiente para clasificar una cera de abeja como pura.

En este sentido, diversos autores han sugerido analizar de forma separada los sumatorios de carbonos pares y los sumatorios de carbonos impares para evaluar la calidad de las ceras de abeja (Wás et al., 2014, Serra et al 2012). Las figuras 12 y 13, representan los valores correspondientes al sumatorio de las áreas; tanto de hidrocarburos pares como de impares respectivamente. En ellas, se observa que el sumatorio de los pares no tiene una gran repercusión en las muestras, sin embargo el sumatorio de los impares aparecen de manera generalizada en todas las muestras.

La cera pura de abeja u opérculo (O-V30-S; O-V32-S; O-V38-S) refleja que el sumatorio de los hidrocarburos impares es muy superior al sumatorio de los pares. Opuestamente, se observa que en el caso de las parafinas (parafina en perlas y parafina en bloque), la proporción de hidrocarburos pares e impares es muy semejante.

De las ceras adulteradas con distintos porcentajes de parafina (5%, 10%, 15% y 20%) se obtiene: que tanto el sumatorio de hidrocarburos pares e impares son elevados, similares a los de las parafinas.

Las ceras de tipo bresca, procedentes de las provincias de Valencia (ej. B-V2-S y B-V21-S) y Teruel (ej. B-T6-MA y B-T9-T), muestran valores dispares entre el sumatorio de hidrocarburos pares e impares. Las ceras en forma de lámina prensada, proporcionadas por empresas del sector apícola (ej. L-V24-E y L-V27-E) han mostrado también una clara diferencia en el sumatorio de ambos conjuntos individualmente. Sin embargo algunas láminas como (ej. L-V29-E y L-V26-E), procedentes también de empresas del sector apícola muestran unos valores muy elevados para el sumatorio de los hidrocarburos pares. Por consiguiente y según lo expuesto por autores como (Wás et al., 2014a., Serra et al 2012) se puede afirmar que se trata de ceras adulteradas, ya que además del elevado sumatorio de los hidrocarburos pares, el valor obtenido es semejante al de las de las parafinas y ceras con distintos porcentajes de adulterantes.

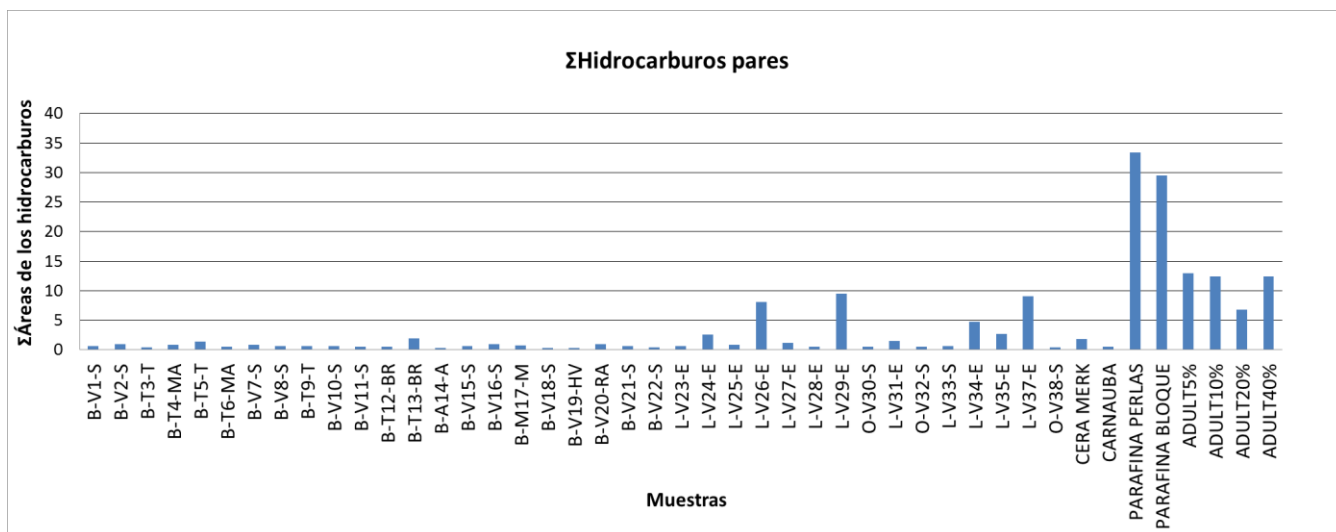


Figura 12. Sumatorio de las áreas de los hidrocarburos pares en las muestras.

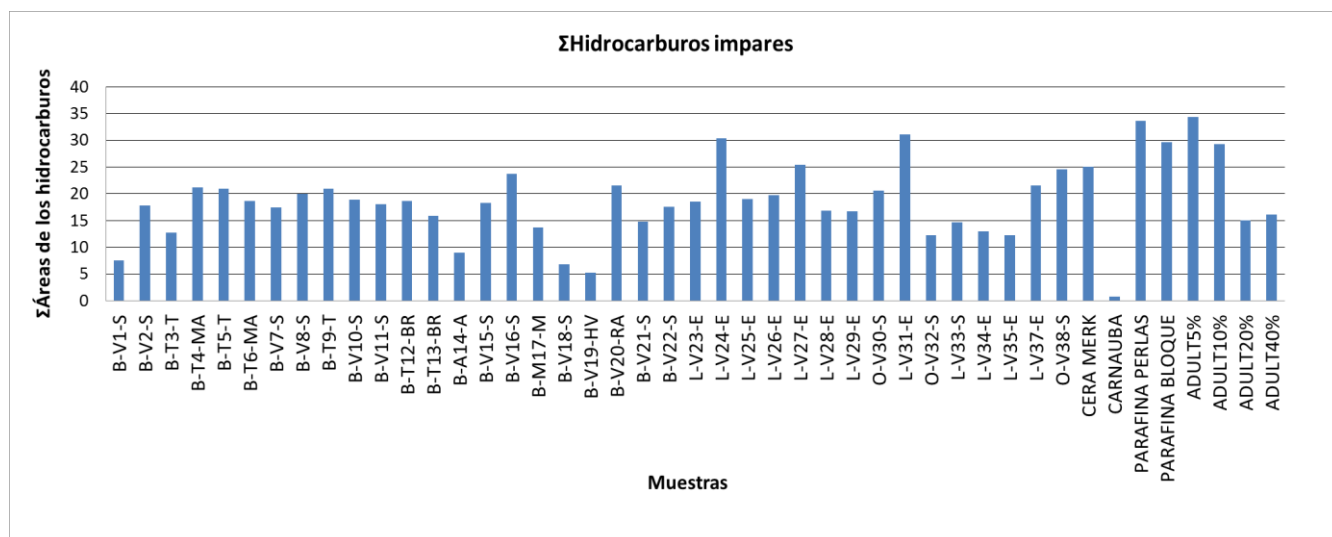


Figura 13. Sumatorio de las áreas de los hidrocarburos impares en las muestras.

Algunos autores (Jimenez; 2009 y Serra; 2012) consideraron que la relación ($\Sigma_{\text{pares}}/\Sigma_{\text{impares}}$) puede ser un índice “Carbon Preference Index” (CPI) útil para identificar adulteraciones en cera de abeja. Estos autores propusieron un índice que reflejara el equilibrio entre ambos tipos de hidrocarburos. Estos autores consideraron que la cera pura de abeja, debía tener un CPI comprendido entre 0.02-0.09.

La Figura 14 detalla el “Carbon Preference Index” calculado para las muestras estudiadas.

Se observa, que de las treinta y ocho ceras de abeja, excluyendo las parafinas y ceras con distintos niveles de adulteración, únicamente dieciséis ceras, cumplen el criterio CPI comprendido entre 0.02-0.04, mientras que las veinte y dos restantes no lo cumplen.

Atendiendo al tipo de cera se observa que de las veinte y dos muestras en forma de bresca, únicamente doce cumplen el criterio CPI, mientras que de doce muestras analizadas en forma de lámina prensada, solo dos de ellas cumplen este criterio. En cuanto a las ceras de opérculo, todas ellas cumplen el índice CPI, como era de esperar, tratándose de ceras puras de abeja.

La Figura 14 refleja, que las ceras con valores más altos de CPI, son las láminas prensadas procedentes de las empresas del sector apícola. No obstante se destaca la presencia de una bresca procedente de Murcia, dos brescas procedentes de la provincia de Teruel y seis de Valencia, con unos índices muy elevados, posiblemente esto es debido al proceso de reciclado que llevan las industrias de reciclaje de ceras de abeja, donde mezclan todas las ceras, independientemente de la calidad de las mismas.

Para las ceras adulteradas y parafinas este índice fue muy elevado difiriendo mucho del valor requerido: adulteración al 5% (0.38); adulteración al 10% (0.42); adulteración al 20% (0.45); adulteración al 40% (0.77); cera carnauba (0.619 y ambas parafinas (0.99) Por lo tanto, queda justificado según (*J. Serra et al 2012*), que a medida que aumenta el valor CPI, mayor es el grado de adulteración y disminuye la calidad de la cera.

Observado los CPI de las muestras que sobrepasan el límite de 0.04 y los de los adulterantes a diferentes niveles se puede hacer una estimación del porcentaje de adulteración que presenta la cera.

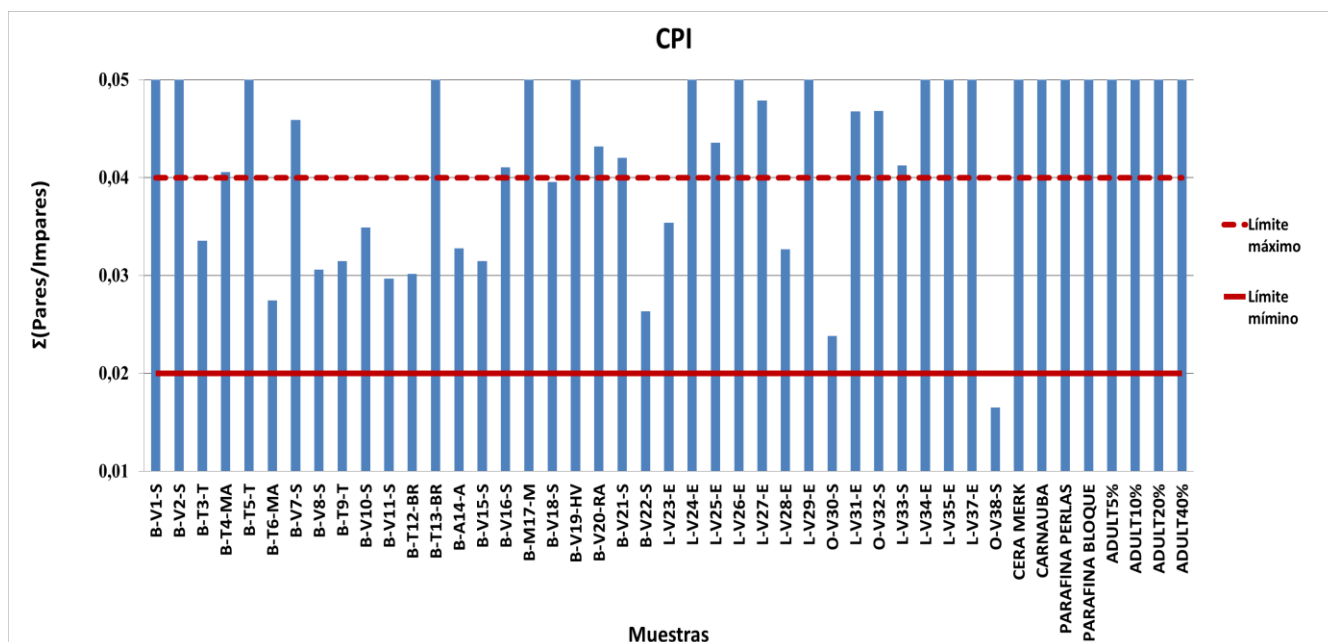


Figura 14. Relación (Σ hidrocarburos pares/ Σ hidrocarburos impares: “Carbon Preference Index” (CPI)

Se ha realizado un ANOVA para determinar la significación estadística de las diferencias observadas considerando el origen geográfico y el tipo de cera. La Tabla 8 muestra, como resumen, los valores medios y desviación estándar de los hidrocarburos individuales, hidrocarburos pares e impares, relación entre pares e impares (CPI), así como el resultado del ANOVA de las muestras de cera de abeja analizadas en el presente estudio.

Atendiendo a los hidrocarburos individuales, se observa que 11 de los 18 hidrocarburos para el caso del origen y 10 de los 18 hidrocarburos para el tipo de cera muestran diferencias significativas. En el caso de los sumatorios de hidrocarburos pares hay diferencias significativas para ambos factores, origen (* $p < 0.1$) y tipo de cera (** $p < 0.01$), mientras que no se observan para el sumatorio de los hidrocarburos impares.

Con respecto al índice CPI se observan diferencias significativas tanto por origen como por tipo de cera. Atendiendo a los grupos homogéneos se aprecia que el grupo “empresa” en el caso del factor origen y el grupo “lámina” en el caso del tipo de cera, muestran valores significativamente superiores (0.17 y 0.19, respectivamente) al resto y por encima del límite recomendado de 0.04. Este resultado demuestra que las ceras con más probabilidad de estar adulteradas son ceras lámina prensada provenientes de empresa de la mayoritariamente se abastecen los apicultores.

Tabla 8. Valores medios y desviación estándar de los hidrocarburos individuales, hidrocarburos pares e impares, relación entre pares e impares (CPI) y resultados del ANOVA atendiendo al “Origen Geográfico” y al “Tipo de cera”

Hidrocarburos	ORIGEN				TIPO DE CERA			ANOVA	
	Valencia	Teruel	Empresa	Otros	Bresca	Lámina	Opérculo	O	TC
C20	0.02(0.11) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	0(0) ^a	0.02(0.1) ^A	0(0) ^A	0(0) ^A	NS	NS
C21	0.15(0.21) ^a	0.10(0.1) ^a	0.12(0.14) ^a	0.11(0.03) ^a	0.12(0.15) ^A	0.17(0.21) ^A	0.02(0.04) ^A	NS	NS
C22	0.02(0.07) ^a	0(0.02) ^a	0.09(0.16) ^a	0.06(0.09) ^a	0.01(0.03) ^A	0.11(0.16) ^B	0(0) ^{AB}	NS	4.2*
C23	0.84(0.34) ^a	0.81(0.31) ^a	1.08(0.48) ^a	0.68(0.45) ^a	0.81(0.34) ^A	1.06(0.42) ^A	0.79(0.53) ^A	NS	NS
C24	0(0) ^a	0.02(0.04) ^b	0(0) ^a	0(0) ^{ab}	0(0) ^A	0(0) ^A	0(0) ^A	3.5*	NS
C25	1.54(0.63) ^a	1.72(0.48) ^{ab}	0.34(0.83) ^b	0.15(0.59) ^a	1.54(0.61) ^A	2.22(0.80) ^B	1.67(0.79) ^{AB}	3.6*	3.7*
C26	0.18(0.09) ^a	0.39(0.60) ^a	0.47(0.49) ^a	0.11(0.04) ^a	0.22(0.34) ^A	0.45(0.44) ^A	0.22(0.16) ^A	NS	NS
C27	4.82(1.64) ^a	5.84(1.08) ^{ab}	6.62(2.10) ^b	3.49(0.97) ^a	5.03(1.57) ^A	6.01(2.21) ^A	6.04(2.03) ^A	3.4*	NS
C28	0.19(0.09) ^a	0.2(0.03) ^a	0.55(0.51) ^b	0.15(0.07) ^{ab}	0.18(0.04) ^A	0.52(0.46) ^B	0.10(0.09) ^A	4.1*	6.8**
C29	3.51(1.23) ^a	3.99(0.60) ^{ab}	4.87(1.03) ^b	2.59(0.89) ^a	3.62(1.14) ^A	4.38 (1.31) ^A	4.26(1.23) ^A	4.4**	NS
C30	0.21(0.08) ^a	0.18(0.08) ^a	0.52(0.44) ^b	0.12(0.01) ^a	0.19(0.07) ^A	0.50(0.40) ^B	0.12(0.10) ^A	4.5**	7.1**
C31	2.97(1.05) ^a	3.43(0.53) ^{ab}	4.06(0.80) ^b	2(0.45) ^a	3.07(0.98) ^A	3.62(1.03) ^A	3.71(1.18) ^A	4.6**	NS
C32	0.10(0.18) ^a	0.02(0.04) ^a	0.48(0.71) ^b	0.06(0.09) ^{ab}	0.03(0.05) ^A	0.50(0.63) ^B	0.04(0.07) ^{AB}	2.6*	6.8**
C33	1.95(0.89) ^a	2.51(0.55) ^{ab}	2.69(0.88) ^b	1.31(0.02) ^a	2.12(0.78) ^A	2.30(1.05) ^A	2.64(1.02) ^A	NS	NS
C34	0.03(0.1) ^a	0.07(0.2) ^{ab}	0.34(0.46) ^b	0(0) ^{ab}	0.03(0.12) ^A	0.32(0.42) ^B	0(0) ^{AB}	3*	5.2*
C35	0(0.01) ^a	0(0) ^a	0.11(0.19) ^b	0(0) ^{ab}	0(0) ^A	0.10(0.18) ^B	0(0) ^{AB}	2.7*	3.9*
C36	0.10(0.31) ^a	0(0) ^a	0.45(0.84) ^a	0(0) ^a	0(0) ^A	0.52(0.79) ^B	0(0) ^{AB}	NS	5.5**
C37	0(0) ^a	0(0) ^a	0.07(0.12) ^a	0(0) ^a	0(0) ^A	0.64(0.11) ^B	0(0) ^{AB}	3.3*	3.7*
C38	0.06(0.21) ^a	0(0) ^a	0.33(0.65) ^a	0(0) ^a	0(0) ^A	0.38(0.61) ^B	0(0) ^{AB}	NS	4.7*
Pares	0.62(0.21) ^a	0.91(0.55) ^a	3.26(3.43) ^b	0.52(0.32) ^{ab}	0.72(0.37) ^A	3.49(3.47) ^B	0.49(0.08) ^A	4.2*	7.9**
Impares	16.3(5.92) ^{ab}	18.43(3.15) ^a	19.99(5.97) ^b	11.34(3.37) ^a	16.34(5.14) ^A	19.94(6.23) ^A	19.16(6.34) ^A	NS	NS
CPI	0.04(0.01) ^a	0.04(0.03) ^a	0.17(0.19) ^b	0.04(0.02) ^a	0.04(0.02) ^A	0.19(0.19) ^B	0.03(0.01) ^A	3.6*	7**

Los valores entre paréntesis son la desviación estándar. NS= No existen diferencias significativas. O= origen . TC=tipo de cera.

5. CONCLUSIONES

Los parámetros fisicoquímicos, de acidez y especialmente densidad, establecidos como indicadores de calidad, no han resultado idóneos en el presente estudio para la diferenciación entre la cera pura de abeja y adulterantes de la misma como la cera carnauba y las parafinas.

El método de determinación del perfil de hidrocarburos, mediante la técnica de cromatografía de gases (GC-FID), es útil para diferenciar cera pura de abeja de cera adulterada.

El cálculo de la relación \sum hidrocarburos pares/ \sum hidrocarburos impares (Carbon Preference Index_CPI) permite diferenciar muestras de cera de abeja adulteradas y hacer una estimación del nivel de adulteración que presenta en relación a la incorporación de parafinas.

Las ceras de abeja más adulteradas han sido las procedentes de láminas estampadas. Esto es lógico ya que la industria del reciclado, no solo no controla la calidad de la cera que se incorpora en el proceso de reciclado, sino que además en ocasiones además adiciona adulterantes como las parafinas.

La utilización de este índice minimizaría la problemática que existe en el sector en relación a la industrialización y comercialización de cera de abeja. El análisis de este índice en la cera que se utiliza como materia prima, impediría la entrada de cera adulterada en la cadena de reciclaje y por lo tanto la posterior utilización de láminas inadecuadas para la actividad apícola.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aichholz R., & Lorbeer, E. (2000). Investigation of combwax of honeybees with hightemperature gas chromatography and high-temperature gas chromatography–chemical ionization mass spectrometry. II: High-temperature gaschromatography– chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 883, 75–8

A .P. Tulloch: *Beeswax-composition and analysis. Be world* 1980,61,47-62.

Bernal J.L., Jiménez, J.J., del Nozal, M.J., Toribio, L., MARTÍN, M.T. 2005. Physico-chemical parameters for the characterization of pure beeswax and detection of adulterations. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 107:158-166.

Bogdanov, S. 2004. *Beeswax: quality issues today. Bee World*, 85 (3): 46-50. BOGDANOV, 2009, *Kutnesof y Whitehouse*, 2005.

Bogdanov S, *Beeswax Book, Chapter 1- Bee Product Science*, www.bee-hexagon.net, pag. 3, April 2016.

[ANON] (2008) *European pharmacopoeia. Council of Europe Strassbourg* (6. edition)

Jiménez, J. J., Bernal, J. L., Del Nozal, M. J., Toribio, L., & Bernal, J. (2007). Detection of beeswax adulterations using concentration guide-values. *European Journal Lipid*

Jimenez J J, Bernal J L, Aumente S, Del Nozal J, Martin T, Bernal J JR, *Quality assurance of commercial beeswax, Part I, Gas chromatography-electron impact ionization mass spectrometry of hydrocarbons and monoesters, Journal of Chromatography A* 1024:pag. 147-154, 2004

J. Serra S. Cañas, A Gómez: *Características físico-químicas de la cera de las ceras de abeja producidas en España. Alimentación, equipos y tecnología.* 1989, 5-6,213-216.

Medici, M. 1957. *Tratado de apicultura práctica. Buenos Aires, Argentina.* pp. 237.

Maidana, J.F. 2005. *Cera de Abejas: Composición, constantes físico-químicas y detección de adulteraciones. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Facultad de Agronomía y Agroindustrias, CEDIA, Santiago de Estero, Argentina.* pp.68

Real farmacopea Española, Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid (Spain) 1997, pp. 615-616.

Serra bonbehi J (1980) *Estudio de la adulteracion de la cera de abejas (Apis mellifera L.). Grasas y Aceites* 41 (1): 69-72.

Seely Y Visscher, 1985 *Citado en Pratt*, 2004.

Serra Bonvehi J, Orantes Bermejo F J, *Detection of adulterated commercial Spanish beeswax Food Chemistry, Vol.132(1), pag. 642-648, 2012.*

Wás E, Szczesna T, Rybak- Chimielewska H. (2014^a) *Determination of beswax hydrocarbons by gas chromatography with a mass detector (GC-MS) TECHNIQUE, Journal of Apicultural Science* 58(1):145-157. DOI :10.2478/ JAS-2014-0015.