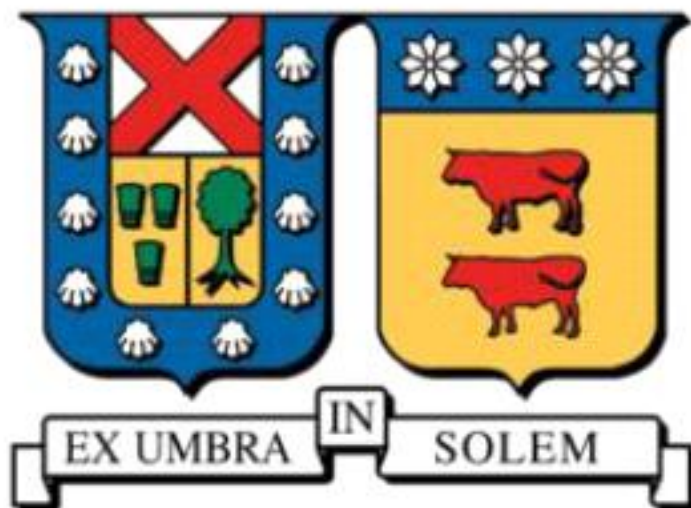


**UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA**  
**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL**  
**VALPARAISO – CHILE**



**“Evaluación de la eficiencia de purificación de cera de abejas usando solución hidroalcohólica a escala semi industrial y posterior análisis de la calidad de la cera esterilizada”**

Paolo Vicente Suau Cárdenas

Memoria de Titulación para optar al título de  
INGENIERO CIVIL AMBIENTAL

Profesora Guía: Karen Yáñez

Profesor Correferente: Daniel Ramírez



## CONSTANCIA DE VALIDACIÓN Y CONFIDENCIALIDAD DE MONOGRAFÍA A REPOSITORIO ACADÉMICO

### 1.- IDENTIFICACIÓN DEL TRABAJO ACADÉMICO

**Tipo de monografía (marcar una opción):** ☒ Memoria o trabajo de título ☐ Tesis de Postgrado

**Título del trabajo:** Evaluación de la eficiencia de purificación de cera de abejas usando solución hidroalcohólica a escala semi industrial y posterior análisis de la calidad de la cera esterilizada.

**Nombre del candidato(a):** Paolo Vicente Suau Cárdenas.

**Carrera / Grado:** Ingeniería Civil Ambiental.

**Campus:** Casa Central **Departamento:** Ingeniería Química y Ambiental.

### 2.- VALIDACIÓN DEL PROFESOR GUÍA/DIRECTOR DE TESIS

Yo, Karen Yáñez Arellano, en mi calidad de profesor(a) guía/director(a) del trabajo académico mencionado anteriormente

**DEJO CONSTANCIA** que:

- He revisado esta versión del documento y corresponde a la versión final aprobada del trabajo.
- El trabajo cumple con los requisitos académicos y de formato establecidos por la institución.

### 3.- EVALUACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD POR PROPIEDAD INDUSTRIAL (marcar una opción)

☒ El trabajo **NO contiene** información que amerite confidencialidad y puede ser publicado de inmediato en repositorio con acceso abierto.

☐ El trabajo **CONTIENE** información con potenciales implicancias de propiedad industrial o intelectual y requiere un periodo de confidencialidad (**embargo**) por (**marcar una opción**):

☐ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 2 años ☐ 3 años ☐ 5 años ☐ 10 años

**Fundamentación de la necesidad de confidencialidad (obligatorio si se solicita embargo):**

---

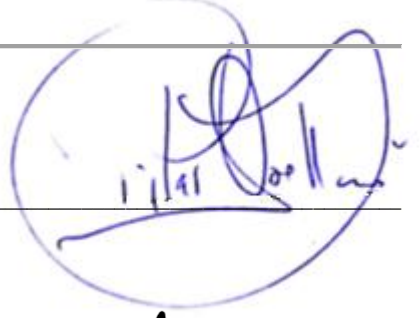
---

---

### 4.- FIRMAS

**Profesor(a) guía o director(a) de memoria o tesis:**

**Fecha:** 18.11.2025

**Firma:** 

**Estudiante o Candidato(a):**

**Fecha:** 18-11-202

**Firma:** 

*Este formulario debe ser insertado como página 2 de la memoria o tesis, completado y firmado por estudiante y profesor(a) antes de la entrega en portal PRISMA de Biblioteca USM.*

## Resumen Ejecutivo.

La abeja europea *Apis mellifera* es el insecto más importante para la humanidad, aportando diversos productos mediante la apicultura y siendo las principales polinizadoras a nivel mundial, lo cual permite mantener el sistema de monocultivos utilizado por la agricultura moderna. Sin embargo, debido a sus interacciones con esta industria, las abejas suelen entrar en contacto con una gran variedad de agroquímicos que son aplicados a los cultivos por diversas razones, muchos de los cuales pueden traer efectos negativos para las colonias. A esto se suman las aplicaciones de medicamentos para controlar a *varroa*, un parásito que ataca a las abejas y que se acumula en la cera, pudiendo incluso contaminar la miel.

En este sentido, el presente estudio tiene como objetivo de evaluar la capacidad de remoción de residuos del agroquímico Imidacloprid y tres residuos de medicamentos Fluvalinato, Coumafós y Amitraz desde la cera de abejas, utilizando una mezcla hidroalcohólica (50:50) compuesta por 40 [l] de isopropanol y 40 [l] de agua aplicada en 20 [kg] de cera de abejas contaminada, seguida por un proceso de esterilización a 120 °C por treinta minutos y 1 atm, todo en un mismo equipo de escala semiindustrial denominado Cleanwax (patentado n° 71.022), una innovación desarrollada explícitamente para la purificación de ceras.

El proceso descrito logró conseguir índices de remoción, con una primera limpieza, de 48.0% para el acaricida Fluvalinato, 62.2% para el acaricida Coumafós, 75.5% para el acaricida Amitraz y 78.3% o mayor para el insecticida Imidacloprid. Por otro lado, luego de aplicar una segunda limpieza en línea, se obtuvieron 29.5% de remoción para Amitraz y 53.1% para Coumafós, con resultados inconsistentes de Fluvalinato e Imidacloprid, que sugieren repetir el proceso para precisar en estas remociones.

Los resultados obtenidos en términos de calidad de la cera, como índice de acidez, índice de saponificación, índice de esterificación y punto de fusión, fueron analizados antes y después de cada etapa, con resultados hasta 4.4%, 15.7% y 19.0% por debajo de los estándares europeos para los tres primeros índices, respectivamente. En cambio, la cera esterilizada mostró indicios de poder revertir la pérdida de estas propiedades, logrando que en 43% del rango de datos el índice de acidez cumple el estándar estipulado. Adicionalmente, el análisis de infrarrojo mostró que todas las instancias de la cera trabajada (control, limpieza 1, limpieza 2 y esterilizada) mantienen los perfiles de grupos funcionales típicos de la cera de abeja.

## Índice

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| Resumen Ejecutivo.....               | 2  |
| 1. Introducción.....                 | 6  |
| 2. Antecedentes Generales.....       | 7  |
| 2.1 Las abejas.....                  | 7  |
| 2.1.1 Taxonomía.....                 | 7  |
| 2.1.2 Extensión Geográfica.....      | 7  |
| 2.1.3 Ciclo de vida.....             | 8  |
| 2.1.4 Roles ecosistémicos.....       | 9  |
| 2.1.5 Importancia simbólica.....     | 10 |
| 2.2 La apicultura.....               | 10 |
| 2.2.1 Productos de colmena.....      | 10 |
| 2.2.2 Servicios de colmena.....      | 14 |
| 2.3 Amenazas para las abejas.....    | 14 |
| 2.3.1 Cambio climático.....          | 15 |
| 2.3.2 Pérdida de Hábitats.....       | 15 |
| 2.3.3 Enfermedades.....              | 15 |
| 2.3.4 Contaminación atmosférica..... | 17 |
| 2.3.5 Monocultivos.....              | 17 |
| 2.3.6 Plagas.....                    | 17 |
| 2.3.7 Uso de pesticidas.....         | 18 |
| 2.4 Pesticidas.....                  | 18 |
| 2.4.1 Fluvalinato.....               | 19 |
| 2.4.2 Coumafós.....                  | 19 |
| 2.4.3 Amitraz.....                   | 20 |
| 2.4.4 Imidacloprid.....              | 20 |
| 2.5 Limpieza de cera de abejas.....  | 22 |
| 2.6 Equipo <i>Cleanwax</i> .....     | 23 |
| 3. Objetivos.....                    | 25 |
| 3.1 Objetivo General.....            | 25 |
| 3.2 Objetivos Específicos.....       | 25 |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| 4. Metodología. ....                                        | 25 |
| 4.1 Contaminación y descontaminación de ceras.....          | 25 |
| 4.1.1 Preparación de ceras e inserción en equipo. ....      | 25 |
| 4.1.2 Calentamiento y contaminación de ceras. ....          | 27 |
| 4.1.3 Limpieza de ceras. ....                               | 29 |
| 4.2 Esterilización de cera. ....                            | 31 |
| 4.3 Medición de porcentajes de remoción. ....               | 31 |
| 4.3.1 Laboratorio externo contratado. ....                  | 31 |
| 4.3.2 Método utilizado. ....                                | 32 |
| 4.4 Medición de Índices de Calidad de Cera. ....            | 32 |
| 4.4.1 Medición de Índice de Acidez. ....                    | 32 |
| 4.4.2 Medición de Índice de Saponificación. ....            | 34 |
| 4.4.3 Cálculo de Índice de Esterificación. ....             | 35 |
| 4.4.4 Medición de Punto de Fusión. ....                     | 35 |
| 4.5 Medición de Compuestos Orgánicos. ....                  | 36 |
| 5. Resultados y Discusión.....                              | 36 |
| 5.1 Resultados de Remoción de Pesticidas.....               | 36 |
| 5.1.1 Pesticidas en Cera Control.....                       | 36 |
| 5.1.2 Pesticidas en Cera posterior a Primera Limpieza.....  | 37 |
| 5.1.3 Pesticidas en Cera posterior a Segunda Limpieza. .... | 37 |
| 5.1.4 Resultados de Porcentajes de Remoción.....            | 38 |
| 5.2 Resultados Índices de Calidad de Cera.....              | 39 |
| 5.2.1 Resultados Índices de Acidez.....                     | 39 |
| 5.2.2 Resultados Índices de Saponificación. ....            | 39 |
| 5.2.4 Resultados Puntos de Fusión. ....                     | 40 |
| 5.2.5 Resumen de Índices de Calidad. ....                   | 40 |
| 5.3 Espectros de Infrarrojo. ....                           | 40 |
| 5.4 Discusión.....                                          | 41 |
| 5.4.1 Diferencias entre dopaje y cera control. ....         | 41 |
| 5.4.2 Calidad de la cera limpiada.....                      | 42 |
| 5.4.3 Comparación con memorias anteriores. ....             | 43 |

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.4.4 Cantidad óptima de limpiezas de cera.....                                                          | 44 |
| Conclusión.....                                                                                          | 45 |
| Recomendaciones. ....                                                                                    | 45 |
| Referencias .....                                                                                        | 47 |
| Anexos. ....                                                                                             | 53 |
| Anexo 1: Informe de Ensayo N° QUI-127-25 (Espectro Infrarrojo Ceras Trabajadas).<br>.....                | 53 |
| Anexo 2: Asignación de modos vibracionales en cera de abeja y parafina para<br>métodos FT-IR y AT-R..... | 61 |

# 1. Introducción.

La apicultura corresponde a la cría de abejas melíferas para efectos de cultivar su miel, polen, jalea real, propóleo, cera y veneno, además del proporcionamiento de colmenas como servicio de polinización a agricultores. Las abejas melíferas de por sí son polinizadoras, y en conjunto con otras especies silvestres han sido capaces de mantener equilibrada la biodiversidad a nivel mundial (Starr, 2021).

Sin embargo, debido a varios factores que incluyen enfermedades, uso de medicamentos, agroquímicos y el cambio climático, la población de abejas, y polinizadores en general, ha disminuido durante las últimas dos décadas a nivel mundial, causando estragos en la industria apícola y en sus clientes. Esta situación ha motivado al grupo de investigación de USM Bee Lab para desarrollar y patentar un equipo semi industrial que junto con un método de limpieza y posterior esterilización de cera de abejas es capaz de remover pesticidas neonicotinoides (hidrófilos) por sobre el 97% de eficiencia.

A pesar de ello, los acaricidas (lipofílicos) aún presentan bajos porcentajes de remoción (menores al 20%). En este sentido, el grupo ha seguido investigando otras soluciones acuosas eficientes en la purificación de ceras, que sean inocuas para las abejas y seguras para los apicultores, contando a la fecha con resultados preliminares, a escala de laboratorio, que demuestran que la solución hidroalcohólica con isopropanol al 50% (v/v) presenta eficiencias superiores en la remoción de Fluvalinato, Coumafós, Amitraz e Imidacloprid en cera de abejas.

La presente investigación comprende el objetivo de utilizar un método de limpieza de cera de abejas, basado en los resultados de la memoria de Francisco Osses que propuso una mezcla de solventes que dio buenos resultados en laboratorio, generando tasas de remoción de los compuestos de interés positivos, y utilizando un equipo caracterizado y modificado según las directrices estipuladas en la memoria de José Lillo, de modo de demostrar un ejemplo de las capacidades del método utilizando un equipo de escala semiindustrial. Por último, también se evalúa por primera vez la capacidad de esterilización de cera de abejas que tiene el equipo utilizado y se analizan los resultados de remoción y algunos índices de calidad de la cera limpiada.

## 2. Antecedentes Generales.

### 2.1 Las abejas.

Las abejas son insectos polinizadores que evolucionaron de las avispas para alimentar a sus crías con polen en vez de presa. Existen más de 20 mil especies de abejas, con tamaños que varían entre 2 y 40 mm de largo, y la gran mayoría son solitarias, con excepción de algunas especies que acostumbran a vivir en comunidad. De estas, las más notables incluyen los abejorros y las “abejas de miel” (honeybees), o *Apis mellifera*, donde las últimas son las más conocidas a nivel mundial debido a su inmensa extensión geográfica, importancia económica, ecosistémica, cultural, etc. (Starr, 2021).



Imagen 1: *Apis mellifera*. (Fotografía por lifar, obtenida bajo licencia Creative Commons en [commons.wikimedia.org](https://commons.wikimedia.org))

Para los propósitos de este trabajo, cada vez que se mencione el término “abeja(s)” se referirá siempre a la especie *Apis mellifera*.

#### 2.1.1 Taxonomía.

*A. mellifera* pertenece a la familia *Apidae*, orden *Hymenoptera*, clase *Insecta*, Filo *Arthropoda* y reino *Animalia*. La familia *Apidae* se divide además en seis subfamilias, de las cuales *A. mellifera* pertenece a *Apinae*, género *Apis*.

#### 2.1.2 Extensión Geográfica.

Originalmente, *Apis mellifera* se encontraba naturalmente en Europa, África, el medio oriente y partes del oeste de Asia, pero en la actualidad, debido a esfuerzos de movilización de apicultores, las abejas se pueden encontrar en todos los continentes del mundo con excepción única de Antártica (Marcelino, et al., 2022).

### 2.1.3 Ciclo de vida.

Las abejas son insectos eusociales, es decir que existe solamente una hembra fértil que lidera una colonia cuyos miembros realizan distintas actividades para mantenerla, incluyendo alimentar crías, defender invasiones de depredadores, limpieza, recolección de alimento, generación de alimento, construcción, etc. (Schilcher & Scheiner, 2023).

Las colonias son organizaciones completas de abejas que funcionan de manera fluida y organizada. Las colmenas en donde estas viven están principalmente construidas mediante estructuras hexagonales de cera, la cual es generada por las mismas abejas mediante glándulas especiales. Es dentro de estas mismas estructuras que se ponen huevos, alimentan crías y almacenan alimento.

El ciclo de vida general de las abejas es el siguiente:

1. Huevo.
2. Larva.
3. Pupa.
4. Adulto.

(Yadav, et al., 2023)

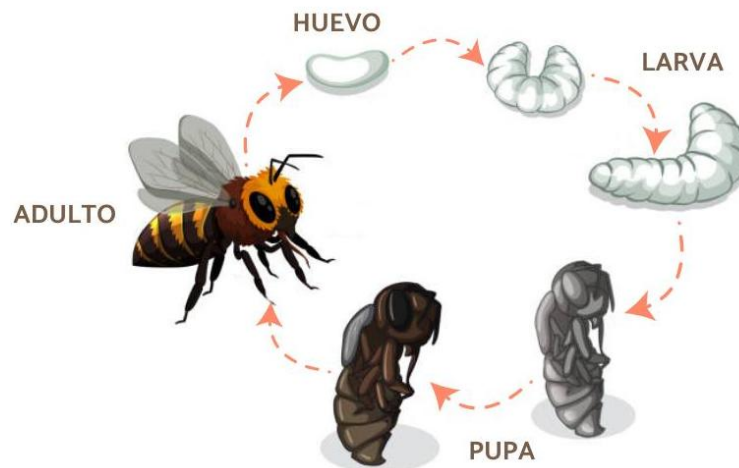


*Imagen 2: Ciclo de vida de la abeja. (Ilustración modificada, basada en la original de Nick Romero de expertoanimal.com)*

Sin embargo, cada abeja tiene su propio rol en la colmena, el cual depende de su sexo, edad y el tipo de alimentación que recibió como cría. Esta segmentación se denomina división de castes y engloba los siguientes tres tipos de abejas:

- Obreras: Corresponde a todas las hembras estériles de la colmena, constituyendo casi el 100% de todos los individuos de esta. Las hembras provienen de huevos fertilizados (Zhao, et al., 2021). Las labores asignadas a este grupo varían según su edad:

- Durante sus primeros días de vida, las trabajadoras solo son capaces de mantener la limpieza de la colmena, labor que también es realizada por otros rangos etarios.
  - Entre los cuatro y doce días de vida toman la labor de alimentar crías con secreciones proteicas, cuidar a la reina y comunicar sus mensajes a lo largo de la colmena a través de sus feromonas.
  - Entre sus dos y tres semanas de vida tienen varias labores incluyendo la construcción y mantención de la colmena y vigilar las entradas de la colmena. Además, este rango etario se preocupa de recibir todo el material forrajeado para luego procesarlo y transformarlo en miel, jalea real y cera, generalmente para su almacenamiento.
  - Una vez que las trabajadoras sobrepasan las tres semanas de vida se ocupan de la recolección de néctar, polen, agua y propóleo, recursos conseguidos de las flores cercanas (hasta 3 km de distancia de la colonia). La transición entre esta etapa y la anterior depende de las necesidades de la colonia, dado que debe existir un equilibrio entre estas últimas dos para que la colmena funcione en estado óptimo. (Johnson, 2009)
- Zánganos: Los zánganos corresponden a las abejas macho. Su única función es la reproducción con la reina de la colmena u otras colonias (drones) (Zhao, et al., 2021). Estas abejas mueren inmediatamente después de reproducir, o hasta los sesenta días en general (Rueppell, et al., 2008).
  - Reina: La reina corresponde a la única hembra fértil y se encarga únicamente de reproducirse con los zánganos y poner aproximadamente 1500 huevos al día (Abou-Shaara, et al., 2021). Proviene de los mismos huevos que las trabajadoras, pero fueron alimentadas con jalea real durante su crecimiento, causando diferencias fisiológicas como su longitud aumentada y su longevidad, viendo que viven entre 1 a 5 años mientras que las trabajadoras viven entre 15 a 38 días en el verano y 5 a 7 meses en el invierno (Remolina & Hughes, 2008).

#### 2.1.4 Roles ecosistémicos.

El rol principal de las abejas dentro de un ecosistema, sean salvajes o controladas por humanos, es polinizar, es decir, ayudar en la reproducción sexual de plantas mediante el transporte de polen de una flor a otra, proceso que hacen durante su búsqueda de néctar, el cual de por sí es el mecanismo de la planta para atraer a polinizadores. Gracias a esto se logra el incremento de la población de estas especies de plantas que, por supuesto, sirven como comida para animales (Papa, et al., 2022).

Este proceso, siempre y cuando sea apoyado por una variedad de otros polinizadores, de los cuales la mayoría son otros insectos, apoya en gran parte a mantener la

biodiversidad en un ecosistema (Katumo, et al., 2022). Por supuesto, las abejas también tienen el rol de ser presa para otros animales, generalmente aves.

### 2.1.5 Importancia simbólica.

La imagen de la abeja para el ser humano corresponde a una de responsabilidad social, trabajo en equipo, claridad ecosistémica (en que sus roles dentro de estos son evidentes, demostrables e importantes), y pureza (en que sus interacciones con la naturaleza son completamente positivas e inocuas), generando productos y servicios sin costos ambientales en un círculo puramente virtuoso. Esta perspectiva es trascendental a través de distintas culturas y distintas épocas, y viene de la observación de estas especies y su comportamiento.

Ante esto, la observación de las abejas y su forma de vida ha generado ciertos simbolismos como el potencial de la cooperación fluida tal como se ve en las obreras, de la realeza, como se observa en la abeja reina, entre otros. Estas observaciones permiten generar una conexión entre las personas y la naturaleza, teniendo como proxy principal estas especies. Tal conexión es invaluable, dado que acerca al ser humano a poder entender su rol en el ecosistema, incluyéndonos en este con un rol protector, albergador y apreciador (Papa, et al., 2022).

## 2.2 La apicultura.

La apicultura es la semi domesticación de *A. mellifera* con el propósito de cultivar varios productos de colmena o proporcionar servicios de esta. Es una práctica antigua que data, de alguna forma u otra, a la época prehistórica y que hoy en día abarca a todo el mundo (Starr, 2021).

En general, los apicultores trabajan con colmenas Langstroth que, a diferencia de la naturaleza, no utilizan un modelo tridimensional o esférico, sino que hacen uso de una serie de “marcos” paralelos con rejillas hexagonales que son llenadas por las mismas abejas para construir su colmena. Este modelo facilita el retiro de los distintos productos, principalmente la miel (United Nations, 2021).

El mercado de la apicultura mundial fue valuado en 11,75 billones de dólares en el año 2024 (Fortune Business Insights, 2025).

### 2.2.1 Productos de colmena.

La apicultura permite la producción de una gran variedad de productos, todos los cuales tienen aplicaciones en distintas industrias, particularmente la alimenticia. Todos estos productos vienen del trabajo de las abejas, o de partes de sus cuerpos.

#### 2.2.1.1 Miel.

La miel es el producto principal de la colmena, almacenado como fuente principal de energía por parte de las abejas y comercializado por los humanos que las cultivan, sea

como alimento o, especialmente, para tratar ciertas enfermedades (Fernandes, et al., 2022). Es un líquido viscoso y dulce que contiene propiedades antimicrobianas, antioxidantes e inmunomodulatorias (El-Din, et al., 2025).



*Imagen 3: Miel de abeja. (Fotografía por Orhidejasonce, obtenida bajo licencia Creative Commons en commons.wikimedia.org)*

#### **2.2.1.2 Polen.**

El polen de abejas es utilizado por ellas fundamentalmente como fuente de energía. Está formado por granos de polen de flores, néctar y secreciones salivales de las abejas y contiene proteínas, carbohidratos, lípidos y fibras dietéticas, además de minerales, vitaminas, entre otros compuestos, razones por las cuales el ser humano lo consume también (Ghouizi, et al., 2023). Las abejas suelen mantener bancos de polen por un tiempo antes de consumirlo, generando en el proceso un alimento llamado “pan de polen” o “pan de abeja”, que es aún más nutritivo para ellas (Anderson, et al., 2014).



*Imagen 4: Polen de abeja. (Fotografía por Efe\_madrid, obtenida bajo uso gratuito en freepik.com)*

#### **2.2.1.3 Cera.**

La cera de abejas es el sustento principal de la estructura de sus colmenas, y es producida por las glándulas de obreras jóvenes y depende en gran parte de la presencia de néctar y polen en los alrededores de la colmena (Ledjanac, et al., 2024). Gracias a sus propiedades hidrofóbicas, está presente en una variedad de productos cosméticos, en la industria alimenticia, y como antiinflamatorio (Fratini, et al., 2016).



*Imagen 5: Cera de abeja. (Fotografía por Frank Mikley, obtenida bajo licencia Creative Commons en commons.wikimedia.org)*

#### **2.2.1.4 Propóleo.**

El propóleo es un compuesto generado por abejas constituido principalmente por partes de flores y otros productos de colmena como lípidos varios, cera de abejas, aceites esenciales, polen y otros compuestos orgánicos (Zullkiflee, et al., 2022). Debido a sus propiedades mecánicas, en particular su pegajosidad, las abejas lo suelen utilizar en la construcción y mantención de las colmenas, como para sellar grietas u otros espacios de su estructura para proteger contra depredadores y riesgos

climáticos. En la actualidad, el ser humano hace uso de productos basados en propóleo para amenizar el tracto respiratorio, tratar quemaduras, acné, herpes, etc. (Wagh, 2013).



*Imagen 6: Propóleo de abeja. (Fotografía por Jonn Leffmann, obtenida bajo licencia Creative Commons en commons.wikimedia.org)*

#### *2.2.1.5 Jalea real.*

La jalea real es un compuesto generado por abejas constituido por varias proteínas, vitaminas, lípidos, minerales, hormonas, neurotransmisores, flavonoides y polifenoles que son secretadas por las glándulas hipofaríngeas y mandibulares de las obreras (Oršolić & Jembrek, 2024). Este compuesto demuestra tener varias utilidades para ellas, incluyendo su uso para la nutrición, mantención de buena memoria y correcto comportamiento social. Además, se le tiene atribuidas varias propiedades como anticancerígenas, terapéuticas, antiinflamatorias, antioxidantes, e incluso ha estado siendo considerada como componente de tratamientos para enfermedades humanas como aterosclerosis, cáncer e infertilidad.



*Imagen 7: Larva de abeja en marco con jalea real. (Fotografía por MariaLBee, obtenida bajo licencia Creative Commons en commons.wikimedia.org)*

#### 2.2.1.6 Veneno.

El veneno de abejas es producido en la glándula venenosa del abdomen de la abeja y se usa principalmente como mecanismo de defensa de la colonia. Está constituido por compuestos biológicos activos (es decir que tienen efectos en organismos vivos) incluyendo péptidos, enzimas, aminoácidos, minerales, carbohidratos y otros compuestos volátiles. Dos de sus compuestos, la melitina y la fosfolipasa A2, tienen propiedades anticancerígenas, antimicrobiales, anti-artritis, entre otras. Es por lo anterior que este veneno se usó desde hace milenios para tratar síntomas de artritis, reumatismo, dolor de espalda e infecciones varias, pero últimamente se suelen utilizar sus compuestos por separado (Ullah, et al., 2023).

### 2.2.2 Servicios de colmena.

#### 2.2.2.1 Servicios de polinización.

El principal servicio proporcionado por la apicultura es el uso de colmenas para la polinización de monocultivos. El 30% de la producción alimenticia mundial es dependiente de la polinización en base a animales (generalmente insectos), y un tercio del alimento consumido por humanos existe gracias a la polinización de abejas (Khalifa, et al., 2021). Cabe notar que incluso en áreas en donde se haya contratado el servicio de colmenas para polinizar, otros polinizadores salvajes también están presentes y aportan en este proceso (Ferenczi, et al., 2023).

#### 2.2.2.2 Servicios pedagógicos.

Otro servicio importante de la apicultura es su potencial pedagógico. Enseñar a la comunidad la importancia de las abejas, su rol simbólico y la polinización en general es un mecanismo efectivo para conectar al humano con la naturaleza (The Bee Conservancy, 2025). En Chile, el uso de la apicultura pedagógica como método de emprendimiento y aporte a la comunidad ha sido demostrado por varias empresas a lo largo de los años, como por ejemplo SEM (Servicio Educativo Móvil) liderado por Luis Suau y Josefina Cárdenas durante la década del 2000 y comienzos de la década del 2010 (SEM, 2000).

## 2.3 Amenazas para las abejas.

En la actualidad, las abejas están siendo amenazadas por factores naturales y antropogénicos como el cambio climático, enfermedades, plagas y parásitos como el ácaro *Varroa destructor* y residuos de agroquímicos varios (Flores, et al., 2023).

Además, otros factores como la contaminación atmosférica, la pérdida de hábitats y las prácticas de agricultura de monocultivos también afectan a las poblaciones de *Apis mellifera* (Ahmed, 2023).

Estos factores son capaces de generar una sinergia entre sí, generando consecuencias posiblemente desastrosas para las colonias de abejas y causando fenómenos

observados como el infame “Síndrome de Colapso de Colonias” que ha sido documentado en varios países (Papa, et al., 2022).

### 2.3.1 Cambio climático.

El cambio climático antropogénico corresponde a las consecuencias negativas persistentes sobre el clima global generadas por las actividades humanas de índoles varias. Este fenómeno trae consigo un aumento en temperaturas, un incremento claro en la frecuencia e intensidad de eventos climáticos extremos como huracanes, olas de calor, sequías, inundaciones y el incremento de niveles del mar (Salonen & Reiser, 2023).

El efecto del cambio climático en las abejas es variado. Puede afectar la calidad, cantidad y disponibilidad de flores aledañas a la colmena, o incluso hasta una descoordinación entre la colmena y la floración, reduciendo la capacidad de esta de conseguir alimento, forzando su relocalización y, en tanto, promoviendo competencia excesiva entre colonias (Le Conte & Navajas, 2008). Por supuesto, los eventos climáticos extremos como las sequías y los huracanes son capaces de directamente lidiar con colonias enteras.

### 2.3.2 Pérdida de Hábitats.

Debido a la urbanización y expansión territorial antropogénica, la cual suele traer consigo la pérdida de hábitats aptos para forrajeo de abejas, estas son evidentemente afectadas.

En cuanto menos flores silvestres haya disponibles, menos néctar y variedades de este tendrán disponibles las colonias. La mayor consecuencia de esto es que las poblaciones de abejas son forzadas a fragmentarse, a dividirse para encontrar las mejores condiciones de vida, lo cual genera aislaciones y pérdidas de diversidad genética y mayor encuentro con áreas destinadas a monocultivos de agricultura, con toda la exposición de agroquímicos que eso trae consigo. Todos estos factores, y más, generan estrés para las colonias, hecho que las pone más susceptibles a enfermedades y parásitos, generando pérdidas de colmenas enteras (Ahmed, 2023).

### 2.3.3 Enfermedades.

Dado el enfoque general en parásitos, el estudio de enfermedades virales, bacterianas y micóticas que afectan a las abejas es un tema en progreso, pero de todos modos se han identificado un número de patógenos presentes en sus poblaciones, los cuales incluyen, entre otros:

- Virus de parálisis crónica de abejas.
  - Causa parálisis crónica; generalmente afecta a adultos.
  - Suele estar presente en la primavera y el verano.

- Virus del lago Sión.
  - Asociado con la mala salud de colonias, pero no se conocen bien los síntomas específicos.
  - Se piensa que el ácaro *Varroa destructor* juega un papel en transmitir este virus.
- Virus de la cría sacra.
  - Afecta peor a crías y a abejas jóvenes, creando fallas en la pupación para las primeras y complicaciones en el forrajeo para las segundas.
  - Suele aparecer en primavera.
- Virus filamentosos de *Apis mellifera*.
  - Relativamente ubicuo, salvo por un cambio de color en un fluido linfático.
  - Se transmite por heces.
- Virus del ala deformada.
  - Causa complicaciones varias, como estropeo de alas, abdómenes acortados, parálisis, acortamiento de longevidad, dificultades de aprendizaje y dificultades de comportamiento forrajero.
  - Se transmite por heces.
- Apis Rhabdovirus 1 y 2.
  - No se conoce suficiente con respecto a sus efectos y mortalidad.
- Virus “BeeMLV” (Bee Macula-Like Virus)
  - No se conoce suficiente con respecto a sus efectos y mortalidad.
  - Suele ser transmitido por el ácaro *Varroa destructor*.
- Bacteria patógena *Spiroplasma melliferum*:
  - Causa espiroplasmosis, donde la bacteria actúa como invasora simbiótica, causando abdómenes inflados al ralentizar la digestión de polen, además de temblores crónicos.
  - No suele causar colapso de colonias completas.

(Van Herzele, et al., 2024)
- Bacteria patógena *Paenibacillus larvae*:
  - Causa la enfermedad Loque Americana, que afecta crías, no tiene cura y tiene alta mortalidad.
- Bacteria patógena *Melissococcus plutonius*:
  - Causa la enfermedad Loque Europea, que tiene síntomas similares.
- Bacteria patógena *Serratia marcescens*:
  - Puede causar envenenamiento de la sangre en larvas y adultos.

(Fünfhaus, et al., 2018).
- Protozoo patógeno *Nosema spp.*:
  - Puede causar nosemosis, una infección en el intestino medio que afecta a individuos adultos de *Apis mellifera*, causando muertes (Kushwaha, et al., 2023).

#### 2.3.4 Contaminación atmosférica.

La contaminación del aire ha sido atribuida a problemas del sistema inmunológico, de navegación, de olfato y de comportamiento de forrajeo en abejas, generando una conexión clara entre la mortalidad de abejas y la calidad del aire, especialmente luego de ocasiones de lluvia que transporta los contaminantes a las flores polinizadas por las abejas (Coallier, et al., 2025).

#### 2.3.5 Monocultivos.

Debido a las necesidades nutritivas de las abejas, las cuales requieren de dietas balanceadas para su crecimiento y vida adulta, las colonias que dependen de monocultivos, sean salvajes o controladas por apicultores, suelen tener complicaciones para sobrevivir, hecho que ha sido atribuido como razón para la disminución de colonias a nivel mundial (St Clair, et al., 2020).

#### 2.3.6 Plagas.

A continuación, se encuentra una lista de plagas (compuesto por insectos, aves y ácaros) que usualmente afectan a *Apis mellifera*:

1. *Galleria mellonella* es una polilla que ataca cera de abejas y fermenta su miel.
2. *Achroia grisella* es otra polilla que emplea una estrategia similar a la anterior.
3. *Acherontia styx* es otra polilla que se infiltra a la colmena haciendo uso de un camuflaje químico que asemeja su olor al de la miel, el cual usan para robar miel (Bäckmo, 2023).
4. *Vespa cincta* es una avispa que ataca directamente a individuos de la colmena (Subbiah & Mahadevan, 1960).
5. *Palerus orientalis* es otra avispita que ataca directamente a las abejas y se ha mostrado que son capaces de esparcir patógenos en la colmena (Zucca, et al., 2023).
6. *Aethina tumida* es un escarabajo que, en etapa de larva, excava dentro de colmenas, come crías, miel y polen (BeeAware, 2025).
7. *Merops orientalis* son pájaros que comen individuos de la colonia directamente (Bee Culture, 2022).
8. *Acarapis woodi* es un parásito interno de *Apis mellifera* que viven y se reproducen en su tráquea, alimentándose de su hemolinfa (fluido circulante de los invertebrados), debilitándolos significativamente (Elias, 2022).
9. *Varroa destructor* es el ácaro más importante en lo que respecta a la apicultura y la vida de las abejas, existiendo en todo lugar geográfico donde las abejas existan. Se alimenta principalmente de las grasas del cuerpo de las abejas, aferrándose a su cuerpo para esto (Noël, et al., 2020).

(Kushwaha, et al., 2023)

### 2.3.7 Uso de pesticidas.

Como ya ha sido mencionado, el uso de plaguicidas, fertilizantes y otros compuestos químicos son esenciales para la alimentación humana. Sin embargo, su uso, sea limitado o excesivo, suele traer consecuencias para las abejas sea directa o indirectamente. Sus efectos varían en toxicidad para la especie según el compuesto, pero hay algunos en particular que son más dañinos para *Apis mellifera* que otros, muchos de los cuales se han prohibido en ciertos países y otros que siguen permitidos. Tema que será abordado en profundidad en el siguiente capítulo.

## 2.4 Pesticidas.

Con el aumento de la población a nivel mundial viene la necesidad de producir más alimento, el cual proviene principalmente de la agricultura o es sustentada por ella. Es por esto por lo que ha sido necesario perfeccionar técnicas de agricultura, producir más eficientemente y a menos costo. La solución más utilizada a nivel global para abarcar todos estos problemas es el uso de agroquímicos como fertilizantes, pesticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, entre otros.

Sin embargo, esta solución trae consigo ciertos problemas. Por ejemplo, un gran porcentaje de los fertilizantes, especialmente los que tienen nitrógeno como componente principal, no es absorbido por las plantas objetivo, sino que pasa a ser emitido como amoníaco u otros gases de nitrógeno. En el caso de los pesticidas, estos suelen bioacumularse en plantas en distintas proporciones o suspendidos en el aire y agua, llegando a afectar a animales y a seres humanos (Elumalai, et al., 2025).

Debido a las preocupaciones que traen consigo los efectos negativos de los agroquímicos es que en varios países hay legislaciones que prohíben su uso.

La Tabla 1 cuenta con una lista de algunos compuestos relevantes para este estudio con estados de prohibición o cancelación de importación, venta y uso según el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) chileno, lo anterior considerando que el estado de prohibición impide su importación, comercialización y utilización dentro del territorio nacional y el estado de cancelación implica que pueden ser distribuidos, exportados y utilizados hasta la fecha límite expuesta, pero no importados.

Tabla 1: Estados de plaguicidas con prohibición, restricción o cancelación (SAG, 2025). Adaptación propia.

| Contaminante | Estado                              |
|--------------|-------------------------------------|
| Imidacloprid | Cancelado; Fecha Límite: 27-05-2027 |
| Clorpirifós  | Prohibido                           |
| Cipermetrina | Cancelado; Fecha Límite: 15-05-2027 |
| Fenhexamida  | Cancelado; Fecha Límite: 06-09-2026 |
| Propiconazol | Cancelado; Fecha Límite: 06-09-2026 |
| Tebuconazol  | Cancelado; Fecha Límite: 27-05-2027 |

El uso de acaricidas en la apicultura también es un acto común, especialmente para combatir al ácaro *Varroa*, en cuyo caso generalmente se aplican los compuestos directamente en las colmenas y se bioacumulan en los productos de la colmena, como la cera, más aún si son compuestos lipofílicos (Kast, et al., 2023).

A continuación se profundiza en los cuatro compuestos más relevantes para el estudio, y cuya identificación de índices de remoción bajo el protocolo de limpieza propuesto corresponde a uno de los objetivos de este.

#### 2.4.1 Fluvalinato.

Fluvalinato es un piretroide y uno de los acaricidas más utilizados en el mundo debido a su alta eficacia y relativamente baja toxicidad para las abejas, pero su uso repetido suele causar resistencias en el ácaro *Varroa*, su principal objetivo (Benito-Murcia, et al., 2021). Además, incluso con su baja toxicidad se ha encontrado que residuos de este compuesto en la comida de las abejas puede causar problemas de desarrollo en las larvas y en la capacidad de vuelo de los adultos, además de relativamente altos índices de mortalidad bajo exposición alta y continua de este (Wu, et al., 2022; Benito-Murcia, et al., 2024).

Su estructura química es la siguiente:

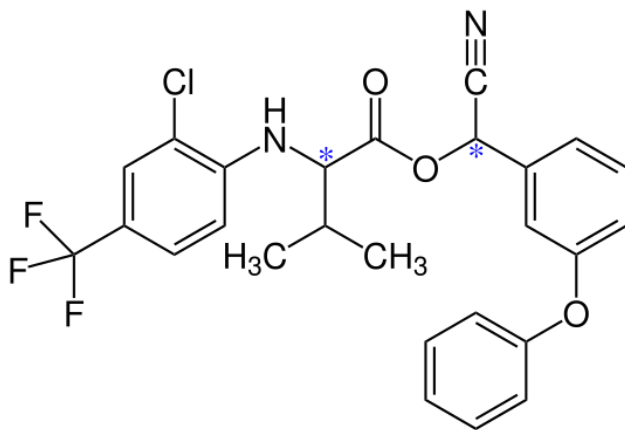


Imagen 8: Estructura química del Fluvalinato. Dominio público.

Sus propiedades físicoquímicas se pueden observar en la Tabla 2.

#### 2.4.2 Coumafós.

Coumafós es un compuesto organotiofosfato y un acaricida lipofílico que se acumula fácilmente en la cera de abejas, y es capaz de bioacumularse a través de los años incluso después de que se reemplace parcialmente por nueva cera producida por estas, complicando el proceso de reutilización de ceras. Las mismas abejas también son capaces de bioacumular este compuesto en sus cuerpos, aumentando su

mortalidad a altas concentraciones, aunque su efecto no es tan claro y severo como el de otros pesticidas (Kast, et al., 2023).

Su estructura química es la siguiente:

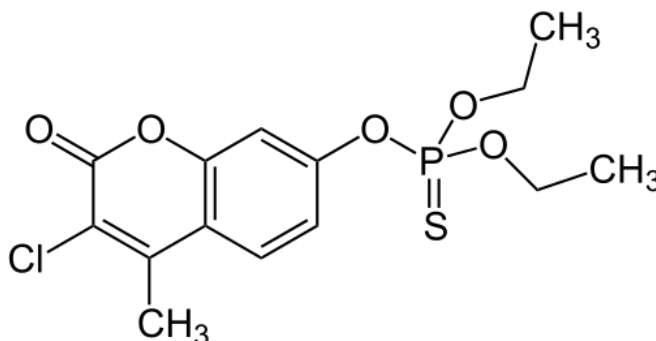


*Imagen 9: Estructura química del Coumatofós. Dominio público.*

Sus propiedades físicoquímicas se pueden observar en la Tabla 2.

#### 2.4.3 Amitraz.

Amitraz corresponde a un triazapentadieno, y es un acaricida neurotóxico que se ha usado por décadas para controlar las poblaciones del ácaro *Varroa*, siendo bastante efectivo en este cometido dado que este ácaro no ha logrado generar una gran resistencia a este compuesto hasta ahora (Rinkevich, 2020).

Siendo acaricida, su efecto en las abejas no es tan severo como otros plaguicidas, pero a altas dosis o altos tiempos de exposiciones capaz de afectar los sistemas olfativos y ovoposidores del insecto (Ilyasov, et al., 2021).

Su estructura química es la siguiente:

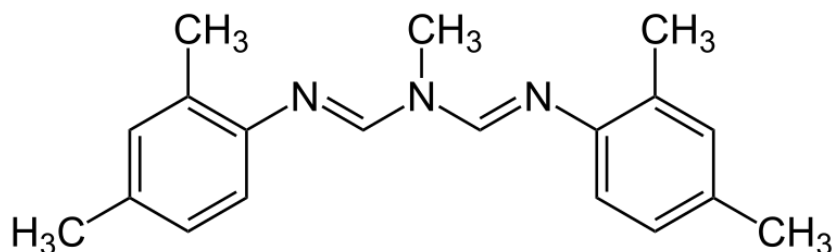


*Imagen 10: Estructura química del Amitraz. Dominio público.*

Sus propiedades físicoquímicas se pueden observar en la Tabla 2.

#### 2.4.4 Imidacloprid.

Imidacloprid es un insecticida utilizado a lo largo del mundo. Corresponde a un insecticida neonicotinoide, es decir que está basados en aminas y ataca los receptores nicotínicos de insectos, generando desregulaciones en estos. Se ha demostrado que

incluso dosis no letales de este son altamente nocivas para abejas, quienes son expuestas a este mediante las plantas rociadas de donde consiguen néctar, afectando su aprendizaje, memoria y comportamiento, tres cosas que son esenciales para la vida social de este insecto. También se ha demostrado que este compuesto actúa en concierto con el ácaro *Varroa*, causando efectos letales para individuos y la colmena en la que viven (Schwartz, et al., 2021), además de causar desbalances de bioelementos y malnutrición en las abejas (Paleolog, et al., 2023).

Su estructura química es la siguiente:

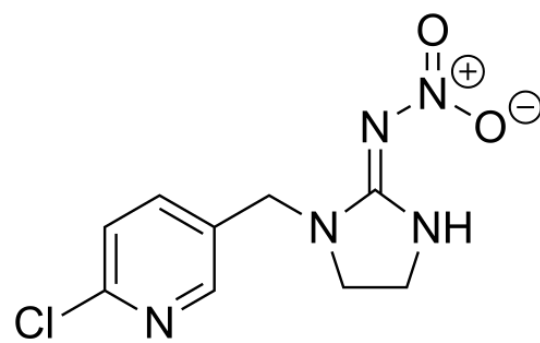


Imagen 11: Estructura química del Imidacloprid. Dominio público.

Sus propiedades fisicoquímicas se pueden observar en la Tabla 2.

En vista de que el presente estudio busca analizar la capacidad de remoción de los cuatro últimos contaminantes, la siguiente tabla describe sus características fisicoquímicas principales:

Tabla 2: Resumen de propiedades fisicoquímicas de Fluvalinato, Imidacloprid, Coumafós y Amitraz. Adaptación propia.

| Compuesto                   | Peso Molecular | Solubilidad en alcoholes (T°,P°)           | Punto de ebullición (°C) | Fotodegradable | Toxicidad |
|-----------------------------|----------------|--------------------------------------------|--------------------------|----------------|-----------|
| <b>Fluvalinato (1), (2)</b> | 502,9          | Soluble                                    | >450°C                   | Sí             | Aguda     |
| <b>Coumafós (1)</b>         | 362,8          | Limitada                                   | Desconoci do             | Sí             | Aguda     |
| <b>Amitraz (1)</b>          | 293,41         | Soluble                                    | Desconoci do             | Sí             | Irritante |
| <b>Imidacloprid (1)</b>     | 255,66         | 2,3*10 <sup>-4</sup> [mg/L] en isopropanol | Desconoci do             | Sí             | Aguda     |

(1) : (National Center for Biotechnology Information, 2025).

(2) : (Agilent, 2019).

## 2.5 Limpieza de cera de abejas.

La matriz de cera de abejas suele bioacumular importantes concentraciones de compuestos ajenos a la colmena, pero propios de la industria, tales como acaricidas, pesticidas y otros agroquímicos, los cuales son imposibles de retirar con una fundición simple , haciendo necesario entonces, el retiro con procesos más exhaustivos. En este contexto, se han propuesto varias soluciones, donde el principal desafío, además de remover contaminantes, es mantener las cualidades únicas de la cera que permiten que ésta sea aceptada por las colonias (Flores, et al., 2023).

Debido a las diferencias en las propiedades químicas de los distintos acaricidas y agroquímicos objeto de estudio, se han reportado distintos métodos de purificación. Ejemplo de ello son los tratamientos que incluyen el uso de carbón activado (Bonvehi & Orantes-Bermejo, 2016), limpieza con extracción por solventes, como metanol (Luna, et al., 2021), etanol (Luna, et al., 2021), hexano (Calatayud-Vernich, et al., 2019), y varias otras mezclas con más de un compuesto (Nozal, et al., 2021).

Uno de los métodos propuestos para la limpieza de cera (el utilizado durante el presente estudio) viene de la memoria del Ingeniero Civil Químico Francisco Osses presentada el mes de julio 2024 y consiste de una mezcla compuesta de 50% agua y 50% isopropanol, cuyos resultados se muestran en la Tabla 3. Además se incluyen resultados de la memoria de la Ingeniería Civil Química Macarena Quilodrán presentada el mes de diembre 2022 que considera dos otras mezclas evaluadas anteriormente y los de José Lillo en donde la cera se limpió con solo agua.

Los resultados conseguidos a escala laboratorio por Francisco y Macarena fueron los siguientes.

*Tabla 3: Resultados de remoción de mezclas hidroalcohólicas en laboratorio (Osses, 2024; Quilodrán, 2022). Adaptación propia.*

| Método                                                      | Remoción<br>Fluvalinato | Remoción<br>Coumafós | Remoción<br>Amitraz | Remoción<br>Imidacloprid | Memoria |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------|---------------------|--------------------------|---------|
| <b>Etanol-Agua 50% (v/v)</b>                                | 4                       | 11                   | n.d                 | 95                       | (A)     |
| <b>Propanol-Agua 50% (v/v)</b>                              | 28                      | 38                   | n.d                 | 96                       | (A)     |
| <b>Butanol-Agua 50% (v/v)</b>                               | 3                       | 44                   | n.d                 | 89                       | (A)     |
| <b>Etanol-Agua 75% (v/v)</b>                                | n.d                     | 40                   | 81                  | 86                       | (B)     |
| <b>Etanol (50%) + Ácido<br/>Oxálico 0.25% p/v (50%)</b>     | n.d                     | 11                   | 77                  | 88                       | (B)     |
| <b>Agua + Ác. Ox. (máximo<br/>de un período de 2 horas)</b> | 31,3                    | 29,4                 | 58,3                | 93,8                     | (C)     |

, donde:

(A): (Osses, 2024)

(B): (Quilodrán, 2022)

(C): (Lillo, 2022)

, y donde la segunda fila corresponde a los resultados de remoción de contaminantes que se consiguieron con la solución utilizada en el presente estudio.

## 2.6 Equipo *Cleanwax*.

El equipo Cleanwax (n° patente 71.022) corresponde a un tanque con calentamiento y agitación con capacidad de aproximadamente 130 litros. Fue diseñado bajo directrices del laboratorio Bee Lab de la Universidad Técnica Federico Santa María con el propósito de hacer pruebas de remoción de contaminantes y esterilización de cera de abejas, y fue construido por la empresa Maquinaria Agrícola y Apícola Brei Ltda. Como se muestra en la figura, el equipo tiene dos salidas, una lateral y una inferior.



*Imagen 12: Equipo Cleanwax. Fotografía propia.*

Cuenta con los siguientes módulos:

- Agitador.
  - Consiste en un motor trifásico Vematesa, modelo 2VTB80-4B controlado por un variador de frecuencia marca Danfoss hasta 50 Hz de potencia conectado a un agitador con dos pares de aspas inclinadas en 66° como se ve en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**
- Calentador.
  - Consiste en un sistema interno de circulación de aceite térmico en chaqueta controlado por un panel de temperaturas que permite marcar la temperatura set del aceite y del líquido al interior.
- Bomba de ozono.

- Consiste en la bomba YUMO OZONE QBF-15 con un caudal de 15 L/min. Diseñada explícitamente para trabajar con ozono, conectada a un tubo de plástico que entra al interior del tanque.

Dimensiones del tanque:

- Diámetro interno= 52 cm.
- Altura interna= 63 cm (hasta comienzo de termómetro).

El dimensionamiento, posicionamiento e inclinación de aspas del equipo utilizado fue estipulado gracias a los resultados del trabajo del Ingeniero Civil Ambiental José Lillo dentro de su tesis de grado presentada en julio del año 2022 llamada “Revisión, validación y puesta en servicio de sistema integrado de remoción de contaminantes en cera de abeja a escala semiindustrial.”

Las dimensiones del tanque se resumen en el siguiente esquema que muestra la sección transversal de su interior:

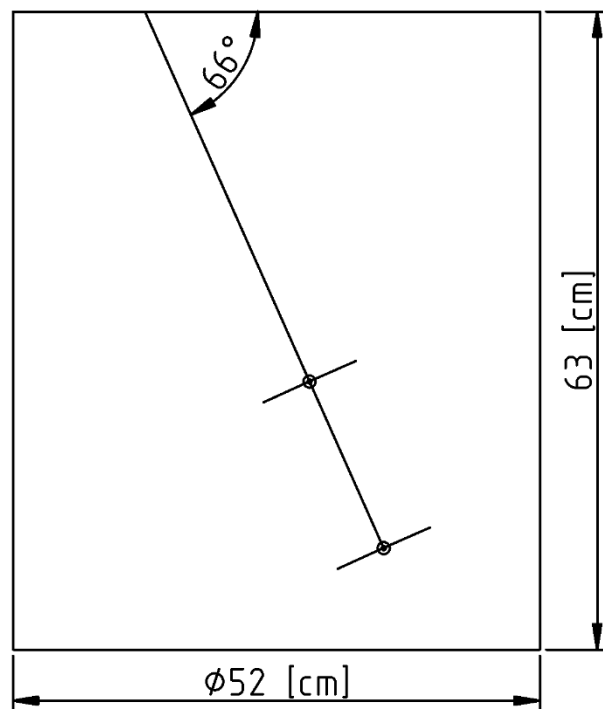


*Imagen 13: Esquema de tanque interno Cleanwax (Lillo, 2022). Recreación propia.*

El equipo descrito cuenta con la patente chilena N° 71.022 y la clasificación TRL 5 (BeeLAB, 2025).

### 3. Objetivos.

#### 3.1 Objetivo General.

Evaluar la capacidad de remoción de cuatro pesticidas en cera de abejas usando dos limpiezas con una mezcla 50:50 de agua / isopropanol (v/v) y la posterior evaluación de la calidad de las ceras esterilizadas en el mismo equipo semi industrial.

#### 3.2 Objetivos Específicos.

- Evaluar la eficiencia de remoción de los contaminantes *Fluvalinato*, *Coumafós*, *Amitraz* e *Imidacloprid* en cera de abejas con una y dos limpiezas consecutivas.
- Evaluar por primera vez, la capacidad técnica de esterilización de ceras del equipo *Cleanwax*.
- Evaluar la calidad de las ceras posterior a las limpiezas y la esterilización.

### 4. Metodología.

A continuación, se detalla la metodología utilizada a lo largo de todas las etapas de la investigación.

#### 4.1 Contaminación y descontaminación de ceras.

##### 4.1.1 Preparación de ceras e inserción en equipo.

Se recibió 20 [kg] de cera en dos formatos distintos: laminada y no laminada, como se puede ver en las siguientes imágenes:



Imagen 14: Ceras masadas para limpiar. Izquierda: masa de cera no laminada, derecha: masa de cera laminada  
Fotografías propias.

Las ceras no laminadas fueron trituradas con martillo hasta alcanzar un tamaño mejor manipulable para luego ser masada en una balanza semiindustrial cuya baja exactitud se consideró más representativa, en donde se encontró que su peso fue de 8,05 [kg] y 2,75 [kg]:



*Imagen 15: Ceras sólidas procesadas para limpiar. Izquierda: primera masa de cera no laminada, derecha: segunda masa de cera no laminada. Fotografías propias.*

En el caso de las ceras laminadas, estas fueron masadas, quedando en 9,20 [kg]:



*Imagen 16: Masa de ceras laminadas procesadas para limpiar. Fotografía propia.*

Los dos tipos de cera, sumando 20 [kg], fueron insertados en el equipo:

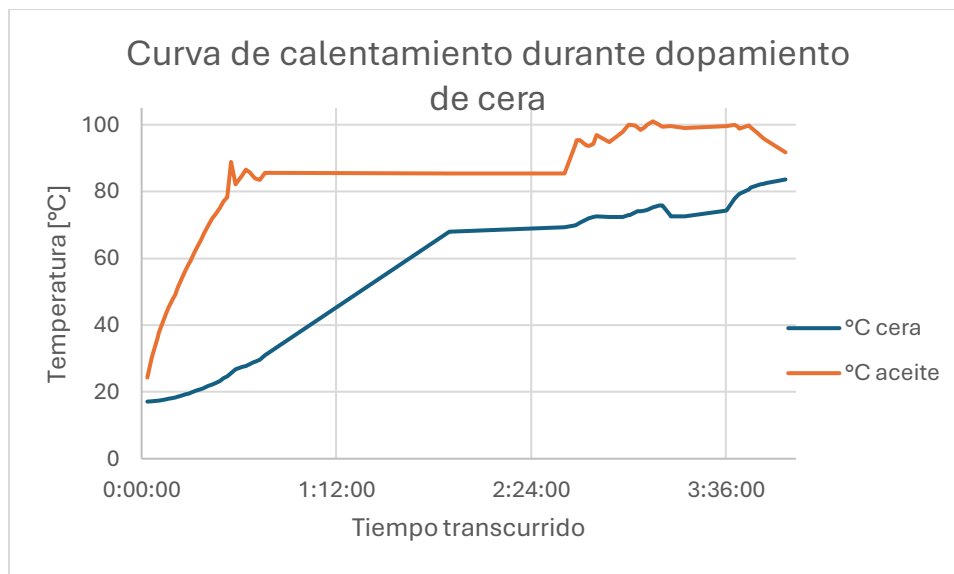


Imagen 17: Ceras insertadas en equipo Cleanwax. Fotografía propia.

#### 4.1.2 Calentamiento y contaminación de ceras.

Una vez insertados los 20 [kg] de cera, el equipo fue calentado hasta llegar un máximo de 83,7 [°C]. La curva de calentamiento fue la siguiente:

Gráfico 1: Curva de calentamiento de proceso de dopamiento de cera. Elaboración propia.



La curva anterior se generó bajo los siguientes sets del sistema de calentamiento:

Tabla 4: Datos de calentamiento de proceso de dopamiento de cera. Elaboración propia.

| Tiempo  | Set de Cera [°C] | Set de Aceite [°C] | Agitación [Hz de motor] |
|---------|------------------|--------------------|-------------------------|
| 0:00:00 | 65               | 85                 | 0                       |
| 2:33:37 | 75               | 95                 | 0                       |
| 2:55:00 | 75               | 100                | 0                       |
| 3:14:00 | 75               | 100                | 10                      |
| 3:39:40 | 75               | 100                | 15                      |
| 3:42:20 | 75               | 90                 | 15                      |
| 3:50:48 | 67               | 75                 | 0                       |

Al observar el proceso, se reconoció que la cera estaba completamente fundida transcurridas tres horas, cincuenta y ocho minutos y tres segundos, habiendo alcanzado 83,6 °C.

#### 4.1.2.1 Preparación e inoculación de mezcla de pesticidas.

Mientras se fundía la cera, se preparó la mezcla de pesticidas en laboratorio. La mezcla final estaba constituida por los siguientes compuestos:

Tabla 5: Concentraciones de pesticidas en mezcla de dopaje insertada. Elaboración propia.

| Nombre del compuesto | Masa [mg] | ppb teórica en mezcla |
|----------------------|-----------|-----------------------|
| Fluvalinato          | 3,9       | 195                   |
| Coumafós             | 2,0       | 100                   |
| Amitraz              | 3,1       | 155                   |
| Imidacloprid         | 2,7       | 135                   |
| Tebuconazol          | 2,2       | 110                   |
| Triflumizol          | 2,4       | 120                   |
| Propiconazol         | 8,1       | 405                   |
| Total                | 24,4      | 1220                  |

Considerar que los últimos tres compuestos y su comportamiento después de las limpiezas no son considerados por la presente investigación.

Se utilizó acetona para trasladar la mezcla, la cual fue inoculada en la cera fundida. Una vez insertada se agitó a 24 [Hz de motor] por 30 [min].

#### 4.1.2.2 Toma de muestra control.

Una vez homogeneizada la mezcla de cera y contaminantes, se dejó enfriar hasta quedar endeble y se tomó una muestra de 100 [g], funcionando como control.



*Imagen 18: Cera dopada, homogeneizada y solidificada. Fotografía propia.*



*Imagen 19: Muestra de cera control masada. Fotografías propias.*

#### 4.1.3 Limpieza de ceras.

Una vez ya tomada la muestra control, se prosiguió con las limpiezas de la cera.

Ambas limpiezas se realizaron insertando 40 [l] de agua potable y 40 [l] de propanol grado técnico a los (aproximadamente) 20 [kg] de cera contaminada fundida entre 75 y 80 [°C], de modo de luego dejarse homogeneizar por 30 [min] a 40 [Hz de motor].

La toma de muestra se realizó una vez vuelta a enfriar la mezcla de cera, y posterior a cada limpieza se retiró el RIL por debajo de la cera flotante, compuesto por agua, propanol y todo pesticida removido de la cera.



*Imagen 20: Ejemplo de residuos de limpieza. Fotografía propia.*

#### **4.1.3.1 Limpieza N°1.**

Para la primera limpieza se llegó a 80,1 [°C] en 3:31:00 [hr], y luego se insertaron los 80 [l] de limpiante, dejando homogeneizar, y luego enfriar hasta el día siguiente.

La muestra se tomó una vez enfriada la mezcla, sacando 100 [g].



*Imagen 21: Proceso de toma de muestra de primera limpieza. Fotografía propia.*

#### **4.1.3.2 Limpieza N°2.**

La segunda limpieza fue realizada una vez drenado el RIL de la primera.

Se llegó a 80,0 [°C] en 3:57:00, se insertaron los 80 [l] de la solución limpiante, dejando homogeneizar, y luego enfriar por 3 días.

La muestra se tomó una vez enfriada la mezcla, sacando 100 [g].



*Imagen 22: Proceso de toma de muestra de primera limpieza. Fotografía propia.*

## 4.2 Esterilización de cera.

La esterilización de la cera se realizó una vez drenado el RIL de la segunda limpieza.

Primero se fundió la cera ya pasada por las dos limpiezas anteriores, lo cual se logró en 3:33:00, y luego se cambió el set del sistema calefactor. Luego se llevó la cera fundida a 120 [°C], logrado después de 6:20:00 de calentamiento (incluyendo el tiempo de fundición inicial), y se mantuvo a esta temperatura por 30 [min] más sin agitación.

La muestra se tomó una vez enfriada la mezcla, tres días después, sacando 500 [g].



*Imagen 23: Cera esterilizada solidificada. Fotografía propia.*

## 4.3 Medición de porcentajes de remoción.

### 4.3.1 Laboratorio externo contratado.

La medición de concentraciones de pesticidas en las ceras manipuladas antes y después de los procesos de limpieza fue dejada en manos de una sucursal de

laboratorio alemana de la empresa Intertek, especializada en la inspección de productos alimenticios y sus materias primas, que tiene como uno de sus principales vértices el servicio de ensayos de laboratorio para cuantificar la presencia de agroquímicos en las muestras que analizan (Intertek, 2025).

#### 4.3.2 Método utilizado.

El análisis solicitado a Intertek fue “Pesticides and Bee Treatment Agents by GC-MS/MS and LC-MS/MS” para muestras de la cera control (antes de la primera limpieza), posterior a la primera limpieza y posterior la segunda limpieza, todas en triplicado. Cabe mencionar que solamente se pueden conseguir valores mayores o iguales a 0,010 [mg/kg] de esta forma.

El método utilizado refiere al descrito en la norma europea EN 15662 que hace uso de cromatografía a gas y a líquido en conjunto con espectrometría de masas que ha sido comprobado mediante una gran cantidad de estudios sobre un gran número de combinaciones de agroquímicos (UNE, 2024).

Una vez conseguidos los resultados, se les aplicó un análisis aritmético simple para conseguir los porcentajes de remoción de los pesticidas encontrados bajo el método.

### 4.4 Medición de Índices de Calidad de Cera.

Para conseguir un indicio numérico con respecto al estado de la cera una vez pasada por los procesos ya descritos, se procedió a hacer experimentos para determinar algunos índices de calidad sobre muestras de cera recuperadas.

#### 4.4.1 Medición de Índice de Acidez.

El índice de acidez es un parámetro comúnmente utilizado en la especificación química de grasas y aceites definido como la cantidad de KOH necesaria en miligramos para neutralizar los ácidos orgánicos en un compuesto graso/aceitoso, y funciona como una medida de lo ácidos grasos libres en el compuesto. En la cera de abejas, valores comunes varían entre 17 y 36 (Moore et al., 2008).

##### 4.4.1.1 Materiales Medición Índice de Acidez.

###### Materiales:

- Matraces Erlenmeyer 250 mL.
- Probetas graduadas 25 mL.
- Micropipetas 200-1000 µL.
- Puntas de micropipetas 200-1000 µL.
- Matraz aforado 250 mL.
- Gotario.
- Buretas 50 mL.
- Soporte universal.

#### Equipos:

- Balanza analítica.
- Baño de ultrasonido.
- Placa calefactora.

#### Reactivos:

- Etanol.
- Éter etílico.
- KOH 0.1M.
- KOH 0.5M.
- Fenolftaleína 1% p/v en metanol.

#### *4.4.1.2 Procedimiento Medición Índice de Acidez.*

La cuantificación se logra mediante dos titulaciones con soluciones de KOH en las muestras de cera fundidas en matraces con una mezcla 50%/50% de 25 [mL] etanol y éter etílico.

La primera titulación se realiza con la solución de KOH 0.1M, neutralizando la solución, y la segunda titulación se debería hacer con la solución de KOH 0.5M, pero debido a la pobre calidad de disolución lograda en laboratorio, durante esta ocasión se recurrió a volver a titular con la muestra de KOH 0.1M.

La masa de cera utilizada fue de 5 [g], y todas las titulaciones se realizaron en caliente haciendo uso de baño maría en placa calefactora y bajo campana.

Las soluciones de KOH y fenolftaleína fueron generadas en laboratorio con matraces aforados.

La fórmula del índice de acidez es la siguiente:

*Ecuación 1: Fórmula de índice de acidez. Adaptación propia.*

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{M_{\text{KOH}} \cdot V_{\text{KOH}} \cdot PM_{\text{KOH}}}{m_{\text{Cera}}}$$

(Manrique, 2022)

, donde:

- $M_{\text{KOH}}$ : Molaridad de solución KOH.
- $V_{\text{KOH}}$ : Volumen de titulación con KOH.
- $PM_{\text{KOH}}$ : Peso molecular de KOH.
- $m_{\text{Cera}}$ : Masa de muestra de cera.

#### 4.4.2 Medición de Índice de Saponificación.

El índice de saponificación es otro parámetro comúnmente utilizado para especificar muestras grasosas y determinar cuánto KOH es necesario para saponificar la muestra (Ivanova, et al., 2022).

##### 4.4.2.1 Materiales Medición Índice de Saponificación.

###### Materiales:

- Matraces Erlenmeyer 250 ml.
- Pipeta aforada 25 ml.
- Pipeta aforada 10 ml.
- Propipeta.
- Gotario.
- Buretas 50 ml.
- Soporte universal.
- Bandejas de aluminio.

###### Equipos:

- Balanza analítica.
- Baño de ultrasonido.
- Placa calefactora.

###### Reactivos:

- KOH 0.5 M.
- HCl 0.5 M.
- Fenolftaleína 1% p/v en etanol.

##### 4.4.2.2 Procedimiento Medición Índice de Saponificación.

La cuantificación se logra teniendo la muestra en una solución con exceso de KOH y titulando con la solución de HCl 0.5M en las muestras de cera fundidas en matraces con 25 [mL] de la solución de KOH 0.5M, calentada por una hora en baño maría y placa calefactora.

Las soluciones de KOH y HCl fueron generadas en laboratorio utilizando matraces aforados.

La masa de cera utilizada fue de 2 [g] por triplicado, por muestra, y todas las titulaciones se realizaron en caliente haciendo uso de baño maría en placa calefactora y bajo campana.

La fórmula del índice de saponificación es la siguiente:

*Ecuación 2: Fórmula de índice de saponificación. Adaptación propia.*

$$\text{Índice de Saponificación} = \frac{(V_{\text{Blanco}} - V_{\text{HCl}}) \cdot N_{\text{HCl}} \cdot PM_{\text{KOH}}}{m_{\text{Cera}}}$$

(Manrique, 2022)

, donde:

- $V_{\text{Blanco}}$ : Volumen de blanco.
- $V_{\text{HCl}}$ : Volumen de HCL titulado.
- $N_{\text{HCl}}$ : Normalidad de solución de HCL.
- $PM_{\text{KOH}}$ : Peso molecular de KOH.
- $m_{\text{Cera}}$ : Masa de muestra de cera.

#### 4.4.3 Cálculo de Índice de Esterificación.

El índice de esterificación se puede calcular como la diferencia entre los últimos dos índices, llegando a un número que engloba a ambos para así facilitar la comparación entre muestras usándolo como criterio general, y que, además, como índice, proporciona la cantidad de KOH necesaria para saponificar solo los enlaces éster de una muestra.

La fórmula del índice de esterificación usada fue la siguiente:

*Ecuación 3: Fórmula de índice de esterificación. Adaptación propia.*

$$IE = IS - IA$$

, donde:

- IE: Índice de Esterificación.
- IS: Índice de Saponificación.
- IA: Índice de Acidez.

(Alajtal, et al., 2018)

#### 4.4.4 Medición de Punto de Fusión.

El punto de fusión corresponde a la temperatura a la cual una muestra sólida pasa a estado sólido.

##### 4.4.4.1 Materiales Medición Punto de Fusión.

Materiales:

- Tubos de ensayo de 3-5 [mL].
- Capilares de vidrio.
- Bandejas de aluminio.

Equipos:

- Melting Point Apparatus SMP3 de Stuart Scientific.
- Placa calefactora.

#### *4.4.4.2 Procedimiento Medición Punto de Fusión.*

La cuantificación se logra mediante el equipo mencionado en la lista de materiales, el cual tiene ranuras para tres capilares de vidrio los cuales se llenaron preliminarmente con cera fundida en baño maría con tubos de ensayo pequeños, haciendo uso de las diferencias de presión y capilaridad para movilizar la cera. Antes de insertar las muestras en el equipo se sellaron los capilares bajo mechero.

La medición se realiza mediante observación visual, donde se puede ver el momento exacto en el que la cera pasa a estado líquido.

### **4.5 Medición de Compuestos Orgánicos.**

Adicionalmente al trabajo realizado durante el periodo de experimentación también se consiguieron resultados de análisis en un instrumento de medición por FT-IR de las ceras trabajadas realizada por la Sra. María Elena Ortiz, Jefe de Laboratorio en el Departamento de Química de la presente casa de estudio.

El equipo utilizado fue FTIR Thermoscientific, modelo Nicolet 6.700, y los espectros se consiguieron al fundir la cera y aplicarla como una película sobre placas de KBr.

## **5. Resultados y Discusión.**

A continuación, se presentarán los resultados conseguidos siguiendo las metodologías anteriormente planteadas.

### **5.1 Resultados de Remoción de Pesticidas.**

Los resultados principales son aquellos relacionados a la limpieza de pesticidas dopados en la cera y cómo estos variaron una vez esta fue pasada por las limpiezas.

#### **5.1.1 Pesticidas en Cera Control.**

La Cera Control corresponde a la cera dopada con pesticidas, pero no pasada por ninguna de las dos limpiezas.

La siguiente tabla corresponde a las concentraciones de pesticidas reconocidos en la cera control:

Tabla 6: Concentración de contaminantes en cera control. Elaboración propia.

| Contaminantes     | Concentración en M1 [mg/kg] | Concentración en M2 [mg/kg] | Concentración en M3 [mg/kg] | Promedio Concentraciones [mg/kg] |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| Fluvalinato       | 0,228                       | 0,195                       | 0,181                       | 0,201                            |
| Coumafós          | 0,390                       | 0,416                       | 0,423                       | 0,410                            |
| Amitraz           | 0,126                       | 0,153                       | 0,109                       | 0,129                            |
| Imidacloprid      | 0,046                       | 0,048                       | 0,044                       | 0,046                            |
| Pentaclorazinoles | 0,018                       | 0,012                       | 0,011                       | 0,014                            |
| Clorpirifós       | 0,018                       | 0,016                       | 0,017                       | 0,017                            |
| Cipermetrina      | 0,034                       | 0,025                       | 0,024                       | 0,028                            |
| Fenhexamida       | 0,022                       | 0,021                       | 0,020                       | 0,021                            |
| Propiconazol      | 0,259                       | 0,238                       | 0,229                       | 0,242                            |
| Tebuconazol       | 0,122                       | 0,114                       | 0,107                       | 0,114                            |
| Triflumizol       | -                           | 0,014                       | 0,013                       | 0,014                            |

### 5.1.2 Pesticidas en Cera posterior a Primera Limpieza.

La siguiente tabla corresponde a las concentraciones de pesticidas reconocidos en la cera posterior a la primera limpieza.

Tabla 7: Concentración de contaminantes en cera limpiada una vez. Elaboración propia.

| Contaminantes     | Concentración en M1 [mg/kg] | Concentración en M2 [mg/kg] | Concentración en M3 [mg/kg] | Promedio Concentraciones [mg/kg] |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| Fluvalinato       | 0,109                       | 0,087                       | 0,118                       | 0,105                            |
| Coumafós          | 0,155                       | 0,157                       | 0,153                       | 0,155                            |
| Amitraz           | 0,031                       | 0,031                       | 0,033                       | 0,032                            |
| Imidacloprid      | -                           | -                           | -                           | n.d                              |
| Pentaclorazinoles | -                           | -                           | 0,010                       | 0,010                            |
| Clorpirifós       | 0,013                       | 0,012                       | 0,011                       | 0,012                            |
| Cipermetrina      | 0,017                       | 0,016                       | 0,022                       | 0,018                            |
| Fenhexamida       | -                           | -                           | -                           | n.d                              |
| Propiconazol      | 0,095                       | 0,101                       | 0,096                       | 0,097                            |
| Tebuconazol       | 0,040                       | 0,042                       | 0,037                       | 0,040                            |
| Triflumizol       | 0,010                       | -                           | 0,010                       | 0,010                            |

### 5.1.3 Pesticidas en Cera posterior a Segunda Limpieza.

La siguiente tabla corresponde a las concentraciones de pesticidas reconocidos en la cera posterior a la segunda limpieza:

Tabla 8: Concentración de contaminantes en cera limpiada dos veces. Elaboración propia.

| Contaminantes    | Concentración en M1 [mg/kg] | Concentración en M2 [mg/kg] | Concentración en M3 [mg/kg] | Promedio Concentraciones [mg/kg] |
|------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| Fluvalinato      | 0,134                       | 0,152                       | 0,156                       | 0,147                            |
| Coumafós         | 0,062                       | 0,075                       | 0,081                       | 0,073                            |
| Amitraz          | 0,021                       | 0,019                       | 0,027                       | 0,022                            |
| Imidacloprid     | -                           | -                           | -                           | n.d                              |
| Pentaclorazínole | 0,011                       | 0,013                       | 0,016                       | 0,013                            |
| Clorpirifós      | 0,010                       | 0,011                       | 0,011                       | 0,011                            |
| Cipermetrina     | 0,030                       | 0,033                       | 0,033                       | 0,032                            |
| Fenhexamida      | -                           | -                           | -                           | n.d                              |
| Propiconazol     | 0,052                       | 0,046                       | 0,050                       | 0,049                            |
| Tebuconazol      | 0,018                       | 0,018                       | 0,018                       | 0,018                            |
| Triflumizol      | -                           | -                           | -                           | n.d                              |

#### 5.1.4 Resultados de Porcentajes de Remoción.

Utilizando los resultados presentados en las últimas tres tablas, se confecciona la siguiente tabla que contiene los porcentajes de remoción de ambas limpiezas, donde la remoción de la primera limpieza se tomó en consideración con la cera control, y la remoción de la segunda limpieza, que se hizo en línea después de la primera, se tomó en consideración con la cera posterior a la primera limpieza:

Tabla 9: Resumen de porcentajes de remoción de proceso de limpieza. Elaboración propia.

| Contaminantes    | Concentración Control [mg/kg] | Concentración L1 [mg/kg] | Concentración L2 [mg/kg] | Porcentaje de Remoción L1/Control | Porcentaje de Remoción L2/L1 |
|------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| Fluvalinato      | 0,201±0,024                   | 0,105±0,016              | 0,147±0,012              | 47,8                              | -40,0                        |
| Coumafós         | 0,410±0,017                   | 0,155±0,002              | 0,073±0,010              | 62,2                              | 52,9                         |
| Amitraz          | 0,129±0,022                   | 0,032±0,001              | 0,022±0,004              | 75,2                              | 31,3                         |
| Imidacloprid     | 0,046±0,002                   | <0,010                   | <0,010                   | >78,3                             | n.d                          |
| Pentaclorazínole | 0,014±0,004                   | 0,010±0,000              | 0,013±0,003              | 28,6                              | -30,0                        |
| Clorpirifós      | 0,017±0,001                   | 0,012±0,001              | 0,011±0,001              | 29,4                              | 8,3                          |
| Cipermetrina     | 0,028±0,006                   | 0,018±0,003              | 0,032±0,002              | 35,7                              | -77,8                        |
| Fenhexamida      | 0,021±0,001                   | <0,010                   | <0,010                   | >52,4                             | n.d                          |
| Propiconazol     | 0,242±0,015                   | 0,097±0,003              | 0,049±0,003              | 59,9                              | 49,5                         |
| Tebuconazol      | 0,114±0,008                   | 0,040±0,003              | 0,018±0,000              | 64,9                              | 55,0                         |
| Triflumizol      | 0,014±0,001                   | 0,010±0,000              | <0,010                   | 28,6                              | n.d                          |

, donde:

- L1 = Limpieza 1.
- L2 = Limpieza 2.

## 5.2 Resultados Índices de Calidad de Cera.

A continuación, se presentan los resultados relacionados a los índices de calidad de cera conseguidos mediante la experimentación descrita en la metodología.

### 5.2.1 Resultados Índices de Acidez.

La siguiente tabla muestra los resultados conseguidos durante el procedimiento experimental del índice de acidez:

Tabla 10: Datos de titulación de índice de acidez. Elaboración propia.

| Cera           | KOH 0,1M<br>[mL] | KOH 0,1M<br>[mL] | IA         |
|----------------|------------------|------------------|------------|
| Control Blanco | 0,1              | 0,05             | 18,03±1,46 |
| Control        | 0,15±0,05        | 3,21±0,26        |            |
| L1 Blanco      | 0,3              | 0,3              | 18,07±0,40 |
| L1             | 0,2±0,00         | 3,22±0,07        |            |
| L2 Blanco      | 0,1              | 0,1              | 16,50±0,24 |
| L2             | 0,17±0,08        | 2,94±0,04        |            |
| EST Blanco     | 0,3              | 0,3              | 16,91±0,65 |
| EST            | 0,2±0,00         | 3,01±0,12        |            |

, donde:

- X Blanco: titulación sin muestra de cera.
- $X_{i,j}$ : titulación de muestra número j.
- EST,j: titulación de muestra esterilizada.

### 5.2.2 Resultados Índices de Saponificación.

La siguiente tabla muestra los resultados conseguidos durante el procedimiento experimental del índice de saponificación:

Tabla 11: Datos de titulación de índice de saponificación. Elaboración propia.

| Cera         | HCl 0,5M<br>[mL] | IS         |
|--------------|------------------|------------|
| C Blanco     | 19,9             | 94,90±0,81 |
| C1           | 13,1±0,06        |            |
| L1 Blanco    | 20,25            | 90,46±5,06 |
| L1           | 13,8±0,36        |            |
| L2 Blanco    | 19,6             | 75,74±2,43 |
| L2           | 14,2±0,17        |            |
| EST Blanco * | 19,6             | 79,94±4,86 |
| EST          | 13,9±0,35        |            |

\* Considerar que para la titulación del blanco de cera esterilizada, cuyo valor debería ser similar a los otros blancos, hubo un error humano de proporción de la solución de

KOH en exceso que causó que llegara a ser originalmente 25,9 [mL] de KOH 0.5M, por lo que se consideró muy errónea y se reemplazó por el valor de titulación del blanco correspondiente a la cera posterior a la segunda limpieza. Sin esta corrección el valor de los índices de saponificación se duplica, lo cual sería muy poco representativo y mayormente negativo para el análisis posterior.

#### 5.2.4 Resultados Puntos de Fusión.

La siguiente tabla incluye los valores medidos de puntos de fusión de las ceras analizadas:

*Tabla 12: Datos de medición de punto de fusión. Elaboración propia.*

| Cera                | T° Fusión [°C] |
|---------------------|----------------|
| <b>Control</b>      | 64,6±0,35      |
| <b>Limpieza 1</b>   | 65,8±0,00      |
| <b>Limpieza 2</b>   | 64,8±0,00      |
| <b>Esterilizada</b> | 65,8±0,00      |

Se considera posible que dado a que la cera fue fundida para ser insertada en los capilares que posteriormente serían utilizados para medir en el equipo, es posible que la rapidez de la fusión de la muestra haya sido afectada, acelerando el proceso, generando así resultados que casi no tuvieron desviaciones.

#### 5.2.5 Resumen de Índices de Calidad.

Utilizando los resultados de las últimas tres tablas y aplicando las Ecuaciones 1-3, se presenta la siguiente tabla de resumen con todos los índices de calidad conseguidos para las ceras evaluadas:

*Tabla 13: Resumen de resultados de índices de calidad de cera. Elaboración propia.*

| Cera                | IA         | IS         | IE         | PF [°C]   |
|---------------------|------------|------------|------------|-----------|
| <b>Control</b>      | 18,03±1,46 | 94,90±0,81 | 76,87±1,67 | 64,6±0,35 |
| <b>Limpieza 1</b>   | 18,07±0,40 | 90,46±5,06 | 72,39±5,07 | 65,8±0,00 |
| <b>Limpieza 2</b>   | 16,50±0,24 | 75,74±2,43 | 59,14±2,44 | 64,8±0,00 |
| <b>Esterilizada</b> | 16,91±0,65 | 79,94±4,86 | 63,03±4,90 | 65,8±0,00 |

### 5.3 Espectros de Infrarrojo.

Los espectros conseguidos detallan información sobre los compuestos orgánicos presentes en la cera trabajada, y se pueden encontrar en el Anexo 1, mientras que la tabla con los modos vibracionales correspondientes a distintos grupos funcionales en cera de abejas se puede encontrar en el Anexo 2.

Las Figuras 2, 3, 5 y 7 encontradas en el primer anexo muestran los espectros de las ceras C, ES, L1 y L2, es decir, control, esterilizada, limpiada una vez y limpiada dos veces, respectivamente.

Haciendo uso de la Figura 9 encontrada en el segundo anexo, se pueden reconocer en todos los espectros mencionados los siguientes grupos funcionales y modos vibracionales:

- CH<sub>2</sub> (de tensión asimétrica): ~2916 [cm<sup>-1</sup>] y ~2848 [cm<sup>-1</sup>].
- Ésteres (sección C=O): ~1736 [cm<sup>-1</sup>].
- CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub> (de deformación): ~1472 [cm<sup>-1</sup>] y ~1462 [cm<sup>-1</sup>].
- Ésteres (sección C-O): ~1171 [cm<sup>-1</sup>].
- CH<sub>2</sub> (fuera de plano): ~730 [cm<sup>-1</sup>] y ~720 [cm<sup>-1</sup>].

Todos de los cuales corresponden a grupos funcionales comunes de la cera de abejas.

## 5.4 Discusión.

### 5.4.1 Diferencias entre dopaje y cera control.

Como se puede observar en la Tabla 5 y la Tabla 6, y considerando que la equivalencia entre [mg/kg] y [ppb] es un factor de mil, se puede confirmar que existe una diferencia entre los valores teóricos de dopaje de ciertos agroquímicos y los valores medidos en laboratorio de estos mismos. La siguiente tabla resume este fenómeno:

*Tabla 14: Comparación de partes por billón teóricos y reales de contaminantes en cera control. Elaboración propia.*

| Compuesto               | Ppb teóricos | Ppb reales |
|-------------------------|--------------|------------|
| <b>Fluvalinato</b>      | 195          | 201        |
| <b>Coumafós</b>         | 100          | 410        |
| <b>Amitraz</b>          | 155          | 129        |
| <b>Imidacloprid</b>     | 135          | 46         |
| <b>Pentaclorazinole</b> | -            | 14         |
| <b>Clorpirifós</b>      | -            | 17         |
| <b>Cipermetrina</b>     | -            | 28         |
| <b>Fenhexamida</b>      | -            | 21         |
| <b>Propiconazol</b>     | 405          | 242        |
| <b>Tebuconazol</b>      | 110          | 114        |
| <b>Triflumizol</b>      | 120          | 14         |

Observando la Tabla 14, se puede ver que los valores reales de partes por billón de cuatro de los siete agroquímicos que se usaron para dopar la cera control tienen desviaciones importantes en relación a los valores teóricos basados en su concentración inicial de la solución de dopaje.

En el caso del compuesto Coumafós, esta desviación corresponde a un incremento, hecho que se puede atribuir con gran certeza a que la cera utilizada originalmente contenía una alta concentración de este compuesto, aproximadamente tres veces mayor a la dopada.

Sin embargo, para el caso de los compuestos Imidacloprid, Propiconazol y Triflumizol, hubo una disminución importante de su concentración con relación a lo esperado.

La extensión de este trabajo solo alcanza al primero de estos tres compuestos, el cual tuvo una disminución de aproximadamente dos tercios de concentración. Luego, si se observa la Tabla 7 y la Tabla 8, se puede ver que posterior a las dos limpiezas la concentración de este compuesto cae por debajo del límite de detección del método. Esto puede apuntar a que, de alguna forma, hubo una pérdida de este contaminante durante el proceso de dopaje o que la primera muestra (cera control) fue realizada en condiciones insuficientemente representativas, sea por falta de potencia o tiempo de agitación, y que además la concentración del contaminante cayó por debajo del límite de detección al ser removido.

#### 5.4.2 Calidad de la cera limpiada.

Si se considera la información dentro de la décima edición de la *European Pharmacopoeia* como estándares para los índices de calidad de cera, cuyos valores relevantes se resumen en la Tabla 15, y se comparan con los valores típicos de los cuatro índices de calidad de cera conseguidos en la Tabla 13, es posible hacer una conclusión preliminar en cuanto a la calidad de la cera conseguida después de cada limpieza y posterior esterilización.

Tabla 15: Estándares de índices de calidad de cera (Council of Europe, 2019). Adaptación propia.

| Índice                   | Rango de valores |
|--------------------------|------------------|
| Índice de Acidez         | 17-22            |
| Índice de Saponificación | 87-102           |
| Índice de Esterificación | 70-80            |

Además, se reconoce por varios estudios que la temperatura típica de fusión de la cera de abejas se mantiene entre los 61°C y 66°C (Crane, 2009).

La siguiente tabla resume cualitativamente la calidad de cera obtenida en cada etapa al comparar sus valores con la Tabla 15:

Tabla 16: Resumen de cumplimiento de estándares de calidad de cera obtenidos durante el proceso de limpieza.  
Elaboración propia.

| Cera                | Cumple<br>IA | Cumple<br>IS | Cumple IE | Cumple<br>PF |
|---------------------|--------------|--------------|-----------|--------------|
| <b>Control</b>      | Sí           | Sí           | Sí        | Sí           |
| <b>Limpieza 1</b>   | Sí           | Sí           | Sí        | Sí           |
| <b>Limpieza 2</b>   | No           | No           | No        | Sí           |
| <b>Esterilizada</b> | En parte     | No           | No        | Sí           |

, donde:

- Sí: Cumple siempre dentro del rango de valores.
- En parte: Cumple en parte del rango de valores.
- No: No cumple.

Luego, para las muestras cuyos índices caen por debajo de los estándares estipulados, sus falencias se pueden expresar porcentualmente como se muestra a continuación:

Tabla 17: Porcentajes de insuficiencia ante estándar de índices de muestras que no cumplen. Elaboración propia.

| Cera                | % por debajo<br>de IA | % por debajo<br>de IS | % por debajo<br>de IE |
|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>Limpieza 2</b>   | 1,5-4,4%              | 10,1-15,7%            | 12-19%                |
| <b>Esterilizada</b> | -3,3-4,4%             | 2,5-13,7%             | 3-17%                 |

Con todo lo anterior, se puede decir que la calidad de las ceras tratadas con el proceso utilizado en el equipo semiindustrial en general no cumple con los índices de calidad esperados por el consejo europeo, siempre y cuando se realice más de una limpieza, con excepción del punto de fusión que siempre se encuentra dentro del rango típico.

Sin embargo, para el caso de la realización de una sola limpieza, los índices de calidad de cera sí se encuentran en el rango aceptable estipulados por el consejo europeo.

Cabe mencionar también que, para el caso del índice de acidez, la esterilización de la cera parece haber en parte revertido el proceso de pérdida de esta característica intrínseca de la cera, insinuando cierta utilidad de este proceso para corregir este fenómeno, permitiendo que en 43% del rango del resultado (donde el índice es mayor a 17), el IA cae dentro del estándar europeo. Este resultado podría ser aún más efectivo en caso de solo haber realizado una limpieza posterior puesto que es más probable que la solución hidroalcohólica sea la responsable de la pérdida de características intrínsecas a que lo sea las altas temperaturas.

#### 5.4.3 Comparación con memorias anteriores.

La siguiente tabla organiza las remociones encontradas de entre todas las mezclas utilizadas dentro del grupo de memorias relacionadas al proyecto de limpieza de

ceras del laboratorio Bee Lab, y se comparan con las del presente trabajo (para una limpieza):

Tabla 18: Tabla comparativa de remociones de contaminantes en estudio. Adaptación propia.

| Método                                              | Remoción<br>Fluvalinato<br>[%] | Remoción<br>Coumafós<br>[%] | Remoción<br>Amitraz<br>[%] | Remoción<br>Imidacloprid<br>[%] | Memoria       |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------------|---------------|
| <b>Propanol-Agua 50% (v/v)<br/>en Cleanwax</b>      | <b>47,8</b>                    | <b>62,2</b>                 | <b>75,2</b>                | <b>&gt;78,3</b>                 | <b>Actual</b> |
| Etanol-Agua 50% (v/v)                               | 4                              | 11                          | n.d                        | 95                              | (A)           |
| Propanol-Agua 50% (v/v)                             | 28                             | 38                          | n.d                        | 96                              | (A)           |
| Butanol-Agua 50% (v/v)                              | 3                              | 44                          | n.d                        | 89                              | (A)           |
| Etanol-Agua 75% (v/v)                               | n.d                            | 40                          | 81                         | 86                              | (B)           |
| Etanol (50%) + Ácido<br>Oxálico 0.25% p/v (50%)     | n.d                            | 11                          | 77                         | 88                              | (B)           |
| Agua + Ác. Ox. (máximo<br>de un período de 2 horas) | 31,3                           | 29,4                        | 58,3                       | 93,8                            | (C)           |

, donde:

(A): (Osses, 2024)

(B): (Quilodrán, 2022)

(C): (Lillo, 2022)

Observando la Tabla 18, se puede ver que los resultados conseguidos son 16.5% y 18.2% superiores que el resto para el caso de Fluvalinato y Coumafós, respectivamente, 5.8% inferiores para el caso de Amitraz (superados por la mezcla de 75% etanol-agua a escala de laboratorio de Macarena Quilodrán) y no determinables para el caso de Imidacloprid debido al límite de detección del método, pero a lo máximo 17.7% por debajo de los resultados de Francisco Osses usando la misma mezcla que fue utilizada en el presente estudio.

#### 5.4.4 Cantidad óptima de limpiezas de cera.

Considerando los datos de la Tabla 9 que resume los porcentajes de remoción de agroquímicos conseguidos durante el proceso de limpieza de cera, se puede decir que:

- Para el caso de los compuestos *Amitraz* y *Coumafós*, sí conviene hacer una segunda limpieza.
- Para el compuesto *Imidacloprid*, el método utilizado no permite saber si conviene hacer una segunda limpieza, pero incluso una sola limpieza viene con un alto porcentaje de remoción.
- Para el compuesto *Fluvalinato*, la segunda limpieza parece no ser consistente, por lo que se considera que tan solo con una limpieza ha de valer.

También, si se hace cuenta de los resultados de la Tabla 16, se puede observar que a partir de la segunda limpieza los valores de índice de acidez, índice de saponificación e índice de esterificación caen por debajo de los estándares europeos.

Luego, se reconoce que la cantidad de solvente necesario y la posterior necesidad de hacerse cargo de los residuos respectivos aumenta al doble con dos limpiezas sin traer consigo resultados particularmente mejores.

Por todo lo anterior, se recomienda realizar solamente una limpieza y una esterilización en línea.

## Conclusión.

La limpieza de 20 kilogramos de cera de abejas haciendo uso del equipo semiindustrial Cleanwax con el método de extracción de solventes hidroalcohólico compuesto por 40 litros de agua y 40 litros de isopropanol genera, con solo una limpieza, índices de remoción de 47.8%, 62.2%, 75.2%, y al menos 78.3% para Fluvalinato, Amitraz, Coumafós e Imidacloprid, concluyendo en una clara eficacia en la realización del proceso de limpieza de cera a esta escala.

En cambio, los índices de calidad de la cera conseguidos para las cuatro ceras analizadas demuestran que las características intrínsecas de la cera van perdiéndose después de la primera limpieza, cayendo entre 12% y 19% por debajo del límite inferior del índice de esterificación para la segunda limpieza. Sin embargo, se puede concluir también que la esterilización que demostró indicios de poder revertir estas pérdidas, dado que la cera esterilizada estuvo entre solo un 3% y 17% por debajo del límite inferior para el mismo índice, y cuyo índice de acidez llegó a cumplir el índice de acidez para hasta 43% del rango del resultado, siendo el único índice que cumplió parcialmente el estándar posterior a la primera limpieza.

Finalmente, el equipo semiindustrial de limpieza y esterilización de cera de abejas Cleanwax, cuando trabajado con una carga de 20 [kg] de cera y una solución hidroalcohólica de 80 [L] por limpieza, permite purificar y esterilizar la cera sin perjudicar su calidad posterior a la primera limpieza y permitiendo pérdidas limitadas de esta (entre 1 y 19%) posterior a la segunda limpieza en línea, por lo que se propone como una alternativa viable para la apicultura sostenible a esperas de validar en un entorno real con ceras reales.

## Recomendaciones.

Se recomienda realizarle pruebas adicionales a la cera para confirmar cambios en otras características físicas de esta, como son su contenido de agua, densidad y viscosidad, además de, eventualmente, comprobar si colonias reales de abejas

aceptan la cera en su colmena, correspondiente al objetivo final de la limpieza de ceras.

También, como fue ya mencionado, se propone evaluar la capacidad del proceso de esterilización de revertir la pérdida de algunas de las propiedades intrínsecas de la cera que pueden haber sido afectadas durante las limpiezas.

Finalmente, se sugiere repetir los pasos seguidos en el método utilizado para evaluar su reproducibilidad y eventual validación.

## Referencias

- Abou-Shaara, H., Adgaba, N., & Al-Ghamdi, A. (2021). Current knowledge about behaviors of honey bee queens with highlighting of the importance future studies. *Journal of Basic and Applied Zoology*.
- Agilent. (2019). *Fluvalinate Safety Data Sheet*.
- Ahmed, S. (2023). Anthropogenic Threats to Honeybee Ecology: A Review. *Journal of Advanced Research in Agriculture Science & Technology*.
- Alajtal, A., Sherami, F., & Mohamed, E. (2018). *Acid, Peroxide, Ester and Saponification Values for Some Vegetable Oils Before and After Frying*. Chemistry.
- Anderson, K., Carroll, M., Sheehan, T., Mott, B., Maes, P., & Corby-Harris, V. (2014). Hive-stored pollen of honey bees: many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. *Molecular Ecology*.
- Bäckmo, H. (9 de Mayo de 2023). *Uninvited Guest: The Death's Head Hawk Moth*. Obtenido de Hanna's Bees: <https://hannasbees.ie/deaths-head-hawk-moth/>
- Bee Culture. (1 de Noviembre de 2022). *Bee-Eaters*. Obtenido de Bee Culture: <https://beeculture.com/bee-eaters/>
- BeeAware. (01 de Septiembre de 2025). *Small hive beetle*. Obtenido de BeeAware: <https://beeaware.org.au/archive-pest/small-hive-beetle>
- BeeLAB. (2025). *CLEANWAX: Innovador prototipo purificador de cera de abejas integrado a un método de limpieza de contaminantes químicos, físicos y microbiológicos para una apicultura sostenible*. Universidad Técnica Federico Santa María.
- Benito-Murcia, M., Bartolomé, C., Maside, X., Bernal, J., Bernal, J.-L., del Norzal, M., . . . Higes, M. (2021). Residual Tau-Fluvalinate in Honey Bee Colonies Is Coupled with Evidence for Selection for Varroa destructor Resistance to Pyrethroids. *Insects*.
- Benito-Murcia, M., Botías, C., Martín-Hernández, R., Higes, M., Soler, F., Pérez-López, M., . . . Martínez-Morcillo, S. (2024). Biomarker responses and lethal dietary doses of tau-fluvalinate and coumaphos in honey bees: Implications for chronic acaricide toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*.
- Bonvehi, J., & Orantes-Bermejo, F. (2016). Discoloration and Adsorption of Acaricides from Beeswax. *Journal of Food Process Engineering*.
- Calatayud-Vernich, P., VanEngelsdorp, D., & Picó, Y. (2019). Beeswax cleaning by solvent extraction of pesticides. *MethodsX*.

- Coallier, N., Perez, L., Franco, M., Cuellar, Y., & Vadnais, J. (2025). Poor air quality raises mortality in honey bees, a concern for all pollinators. *Communications Earth & Environment*.
- Council of Europe. (2019). *European Pharmacopoeia 10th Edition*. Strasbourg.
- Crall, J. D., & Raine, N. E. (2023). *Advances in Insect Physiology*.
- Crane, E. (2009). *Encyclopedia of Insects (Second Edition)*.
- D'Ascenzi, C. (2019). Good farming practices in apiculture. *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties*.
- El-Din, M., Farrag, A., Wu, L., Huang, Y., & Wang, K. (2025). Health benefits of honey: A critical review on the homology of medicine and food in traditional and modern contexts. *JOURNAL OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE*.
- Elena, M. (2025). *Informe de Ensayo N° QUI-127-25*. Valparaíso: Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Casa Central.
- Elias, S. A. (2022). *Honeybee Crisis in North America*.
- Elumalai, P., Gao, X., Parthipan, P., Luo, J., & Cui, J. (2025). Agrochemical pollution: A serious threat to environmental health. *Current Opinion in Environmental Science & Health*.
- Ferenczi, A., Szűcs, I., & Gáthy, A. (2023). Evaluation of the Pollination Ecosystem Service of the Honey Bee (*Apis mellifera*) Based on a Beekeeping Model in Hungary. *Sustainability*.
- Fernandes, K., Frost, E., Remnant, E., Schell, K., Cokcetin, N., & Carter, D. (2022). The role of honey in the ecology of the hive: Nutrition, detoxification, longevity, and protection against hive pathogens. *Frontiers in Nutrition*.
- Flores, J., Luna, A., Fernández-Alba, A., & Hernando, M. (2023). Acceptance by Honey Bees of Wax Decontaminated through an Extraction Process with Methanol. *Insects*.
- Fortune Business Insights. (2025). *Apiculture Market Size, Share & Industry Analysis*.
- Fratini, F., Cilia, G., Turchi, B., & Felicioli, A. (2016). Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.
- Fünfhaus, A., Ebeling, J., & Genersch, E. (2018). Bacterial pathogens of bees. *Current Opinion in Insect Science*.

- Ghouizi, A., Bakour, M., Laaroussi, H., Ousaaïd, D. M., Hano, C., & Lyoussi, B. (2023). Bee Pollen as Functional Food: Insights into Its Composition and Therapeutic Properties. *Antioxidants*.
- Ilyasov, R., Lim, S., Lee, M.-L., Kwon, H.-W., & Nikolenko, A. (2021). Effects of Miticides Amitraz and Fluvalinate on Reproduction and Productivity of Honey Bee *Apis Mellifera*. *Uludag Bee Journal*.
- Intertek. (25 de Agosto de 2025). *Agrochemicals & Pesticides*. Obtenido de Intertek: <https://www.intertek.com/agrochemicals-pesticides/>
- Ivanova, M., Hanganu, A., Dumitriu, R., Tociu, M., Ivanov, G., Stavarache, C., . . . Chira, N.-A. (2022). *Saponification Value of Fats and Oils as Determined from 1H-NMR Data: The Case of Dairy Fats*. *Foods*.
- Johnson, B. (2009). Division of labor in honeybees: form, function, and proximate mechanisms. *Behavioral Ecology and Sociobiology*.
- Kast, C., Droz, B., & Kilchenmann, V. (2023). Toxicity of Coumaphos Residues in Beeswax Foundation to the Honey Bee Brood. *Environmental Toxicology and Chemistry*.
- Katumo, D., Liang, H., Ochola, A., Lv, M., Wang, Q.-F., & Yang, C.-F. (2022). Pollinator diversity benefits natural and agricultural ecosystems, environmental health, and human welfare. *Plant Diversity*.
- Khalifa, S., Elshafiey, E., Shetaia, A., El-Wahed, A., Algethami, A., Musharaaf, S., . . . El-Seedi, H. (2021). Overview of Bee Pollination and Its Economic Value for Crop Production. *Insects*.
- Kushwaha, D., Sai Teja, K., Kumar, N., Aman, A., Kumar, A., Jaiswal, S., . . . Khan, A. (2023). Diseases and Pests Harmful to Honeybees (*Apis* spp.) and Their Management Tactics: A Review. *International Journal of Environment and Climate Change*.
- Le Conte, Y., & Navajas, M. (2008). Climate change: Impact on honey bee populations and diseases. *Revue Scientifique et Technique-Office Internatinoal des epizooties*.
- Ledjanac, S., Hoxha, F., Jasnić, N., Tasić, A., Jovanović, M., Blagojević, S., . . . Tosti, T. (2024). The Influence of the Chemical Composition of Beeswax Foundation Sheets on Their Acceptability by the Bee's Colony. *Molecules*.
- Lillo, J. (2022). *Revisión, validación y puesta en servicio de sistema integrado de remoción de contaminantes en cera de abeja a escala semiindustrial*. Universidad Técnica Federico Santa María.

- Luna, A., Alonso, R., Cutillas, V., Ferrer, C., Gómez-Ramos, M., Dolores, H., . . . Fernández-Alba, A. (2021). Removal of pesticide residues from beeswax using a methanol extraction-based procedure: A pilot-scale study. *Environmental Technology & Innovation*.
- Manrique, G. (2022). *Caracterización de Grasas y Aceites (Apuntes de Cátedra)*. Licenciatura en Tecnología de los Alimentos.
- Marcelino, J., Braese, C., Christmon, K., Evans, J., Gilligan, T., Giray, T., . . . Ellis, J. (2022). The Movement of Western Honey Bees (*Apis mellifera* L.) Among U.S. States and Territories: History, Benefits, Risks, and Mitigation Strategies. *Biogeography and Macroecology*.
- Moore, J., Vitz, E., Shorb, J., Prat-Resina, X., Wendorff, T., & Hahn, A. (2008). *ChemPRIME*.
- National Center for Biotechnology Information. (15 de Septiembre de 2025). *PubChem Compound Summary for Amitraz*. Obtenido de PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Amitraz>
- National Center for Biotechnology Information. (15 de Septiembre de 2025). *PubChem Compound Summary for CID 2871, Coumaphos*. Obtenido de PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Coumaphos>
- National Center for Biotechnology Information. (15 de Septiembre de 2025). *PubChem Compound Summary for CID 50516, Fluvalinate*. Obtenido de PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fluvalinate>
- National Center for Biotechnology Information. (15 de Septiembre de 2025). *PubChem Compound Summary for CID 86287518, Imidacloprid*. Obtenido de PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Imidacloprid>
- Noël, A., Le Conte, Y., & Mondet, F. (2020). Varroa destructor: how does it harm *Apis mellifera* honey bees and what can be done about it? *Emerging Topics in Life Sciences*.
- Nozal, M., Imaz, E., Bernal, J. L., Nieto, J., Higes, M., & Bernal, J. (2021). An Optimized Extraction Procedure for Determining Acaricide Residues in Foundation Sheets of Beeswax by Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Agronomy*.
- Oršolić, N., & Jembrek, M. (2024). Royal Jelly: Biological Action and Health Benefits. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Osses, F. (2024). *Evaluación de la eficiencia de remoción de pesticidas en ceras de abeja utilizando métodos de purificación con soluciones hidroalcohólicas y*

*posterior caracterización físico/química*. Valparaíso: Universidad Técnica Federico Santa María.

Paleolog, J., Wilde, J., Gancarz, M., Wiącek, D., Nawrocka, A., & Strachecka, A. (2023). Imidacloprid Pesticide Causes Unexpectedly Severe Bioelement Deficiencies and Imbalance in Honey Bees Even at Sublethal Doses. *Animals*.

Papa, G., Maier, R., Durazzo, A., Lucarini, M., Karabagias, I., Plutino, M., . . . Negri, I. (2022). The Honey Bee *Apis mellifera*: An Insect at the Interface between Human and Ecosystem Health. *Biology*.

Quilodrán, M. (2022). *Evaluación de la eficiencia de remoción de pesticidas utilizando 2 nuevos métodos de purificación, con posterior caracterización físico/química y pruebas de campo para las ceras tratadas*. Universidad Técnica Federico Santa María.

Remolina, S., & Hughes, K. (2008). Evolution and mechanisms of long life and high fertility in queen honey bees. *Geroscience*.

Rinkevich, F. (2020). Detection of amitraz resistance and reduced treatment efficacy in the Varroa Mite, *Varroa destructor*, within commercial beekeeping operations. *PLOS One*.

Rueppell, O., Fondrk, M., & Page, R. (2008). Biodemographic analysis of male honey bee mortality. *Aging Cell*.

SAG. (2025). *Listado de plaguicidas autorizados, prohibidos, restringidos y cancelados*. Ministerio de Agricultura.

Salonen, A., & Reiser, D. (2023). Climate Change. *Encyclopedia of Sustainable Management*.

Schilcher, F., & Scheiner, R. (2023). New insight into molecular mechanisms underlying division of labor in honeybees. *Current Opinion in Insect Science*.

Schwartz, K., Minor, H., Magro, C., McConell, J., Capani, J., Griffin, J., & Doebel, H. (2021). The neonicotinoid imidacloprid alone alters the cognitive behavior in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*.

SEM. (2000). *Servicio Educativo Móvil*.

Špaldoňová, A., Havelcová, M., Lapčák, L., Machovič, V., & Titěra, D. (2020). Analysis of beeswax adulteration with paraffin. *Journal of Apicultural Research*.

St Clair, A. L., Zhang, G., Dolezal, A. G., O'Neal, M. E., & Toth, A. L. (2020). Diversified Farming in a Monoculture Landscape: Effects on Honey Bee Health and Wild Bee Communities. *Environmental Entomology*.

- Starr, C. (2021). *Encyclopedia of Social Insects*. Springer Nature.
- Subbiah, M., & Mahadevan, V. (1960). *Vespa cincta* Fabr.-a predator of the hive bees and its control. *Indian Journal of Veterinary Science*.
- The Bee Conservancy. (31 de 08 de 2025). *Always Bee Learning*. Obtenido de the bee conservancy: <https://thebeeconservancy.org/education/>
- Ullah, A., Aldakheel, F., Anjum, S., Raza, G., & Khan, S. G. (2023). Pharmacological properties and therapeutic potential of honey bee venom. *Saudi Pharmaceutical Journal*.
- UNE. (22 de Agosto de 2024). *UNE-EN 15662:2019*. Obtenido de UNE Normalización Española: <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma?c=N0061576>
- United Nations. (2021). *Good beekeeping practices for sustainable apiculture*. Roma.
- Van Herzele, C., Coppens, S., Vereecke, N., Theuns, S., de Graaf, D. C., & Nauwynck, H. (2024). New insights into honey bee viral and bacterial seasonal infection patterns using third-generation nanopore sequencing on honey bee haemolymph. *Veterinary Research*.
- Wagh, V. (2013). Propolis: A Wonder Bees Product and Its Pharmacological Potentials. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*.
- Wu, X., Liao, C., He, X., Zhang, L., Yan, W., & Zeng, Z. (2022). Sublethal fluvalinate negatively affect the development and flight capacity of honeybee (*Apis mellifera* L.) workers. *Environmental Research*.
- Yadav, A., Hazarika, S., & Subramanian, P. (2023). The Fascinating Life of Bees. *Recent Trends in Entomology*.
- Zhao, H., Mashilingi, S., Liu, Y., & An, J. (2021). Factors Influencing the Reproductive Ability of Male Bees: Current Knowledge and Further Directions. *Insects*.
- Zucca, P., Granato, A., Mutinelli, F., Schiavon, E., Bordin, F., Dimech, M., . . . Spanjol, K. (2023). The oriental hornet (*Vespa orientalis*) as a potential vector of honey bee's pathogens and a threat for public health in North-East Italy. *Veterinary Medicine and Science*.
- Zulkiflee, N., Taha, H., & Usman, A. (2022). Propolis: Its Role and Efficacy in Human Health and Diseases. *Molecules*.

## Anexos.

### Anexo 1: Informe de Ensayo N° QUI-127-25 (Espectro Infrarrojo Ceras Trabajadas).



#### INFORME DE ENSAYO N° QUI-127-25

Fecha emisión:  
15.09.2025

| Información del cliente |                                                                   |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Nombre de la empresa    | Universidad Técnica Federico Santa María. Centro de Biotecnología |
| Solicitante             | Karen Yañez                                                       |
| Dirección               | Casa Central-Valparaíso                                           |

| Información del análisis y muestra |                                                                                                                                                                                   |                       |                      |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| Análisis solicitado                | Espectros de Infrarrojo                                                                                                                                                           |                       |                      |
| Tipo de muestra                    | Muestras de cera                                                                                                                                                                  |                       |                      |
| Identificación muestra             | Control                                                                                                                                                                           | CI 329                |                      |
|                                    | Cera E5                                                                                                                                                                           | CI 330                |                      |
|                                    | Cera L1                                                                                                                                                                           | CI 331                |                      |
|                                    | Cera L2                                                                                                                                                                           | CI 332                |                      |
| Fecha de recepción                 | 21 de agosto de 2025                                                                                                                                                              | Fecha Inicio Análisis | 21 de agosto de 2025 |
| Método utilizado                   | Los espectros se obtienen desde Film de cada muestra, formados por fusión, sobre placas de KBr.<br>Medición por Transmisión en equipo FTIR Thermoscientific, modelo Nicolet 6.700 |                       |                      |
| Responsable del muestreo           | Karen Yañez                                                                                                                                                                       |                       |                      |



Responsable: Jefe de Laboratorio

Fecha de edición: junio de 2020

v03

Av. España 1680, Valparaíso

servicios.analiticos@usm.cl

www.labqi.cl

32 2 654219

QUI-127-25

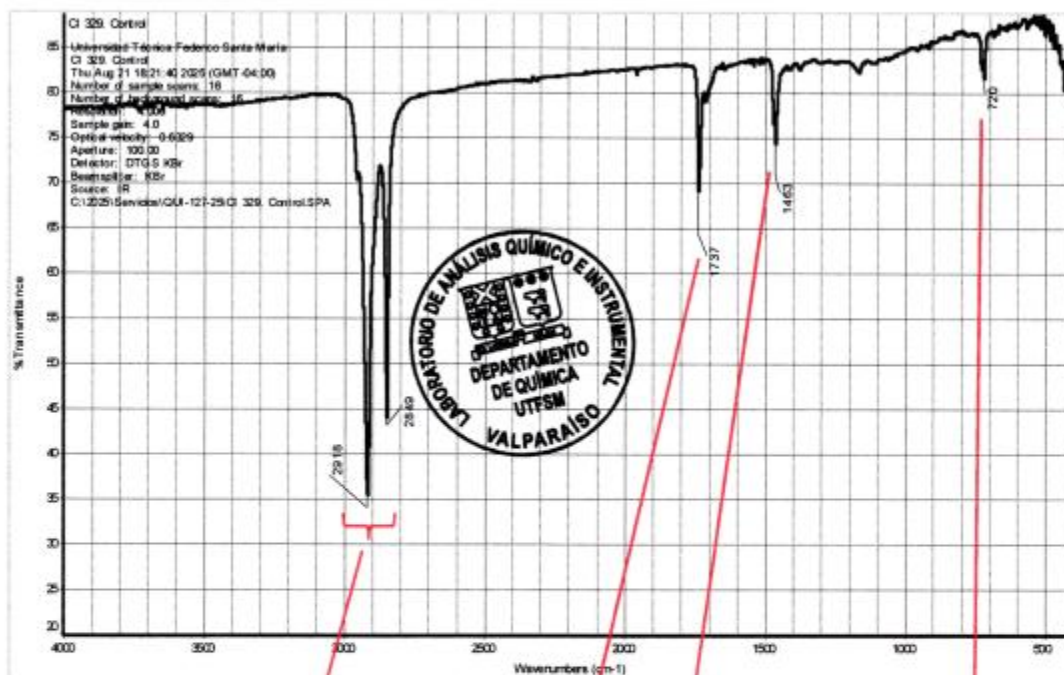
Los resultados entregados en este informe solo se refieren a los ítemes ensayados.  
Este informe no debe ser reproducido parcial o totalmente sin la aprobación escrita de este Laboratorio.

Página 1 de 8

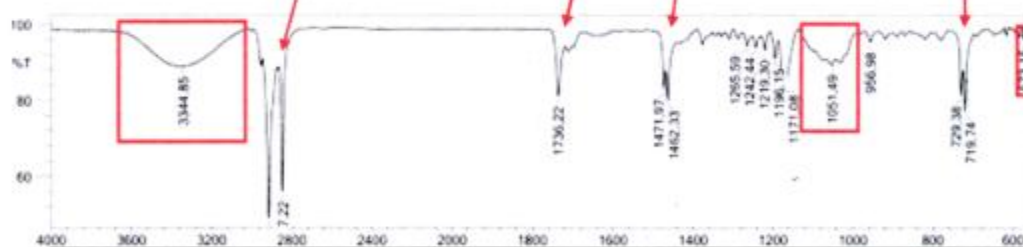
Figura 1: Primera página de Informe QUI-127-25 (Elena, 2025).

## RESULTADOS

CI 329 Cera Control, en placa de KBr



### • 8.2.4.1) Cera control



Comparación del espectro de infrarrojo de la cera control, con el espectro de IR mostrado en la memoria de Francisco Osses "Evaluación de la eficiencia de remoción de pesticidas en ceras de abeja utilizando métodos de purificación con soluciones hidroalcohólicas y posterior caracterización físico/química" figura 8.2.4.1)

Responsable: Jefe de Laboratorio

Fecha de edición: junio de 2020

v03

Av. España 1680, Valparaíso

servicios.analiticos@usm.cl

www.labqi.cl

32 2 654219

QUI-127-25

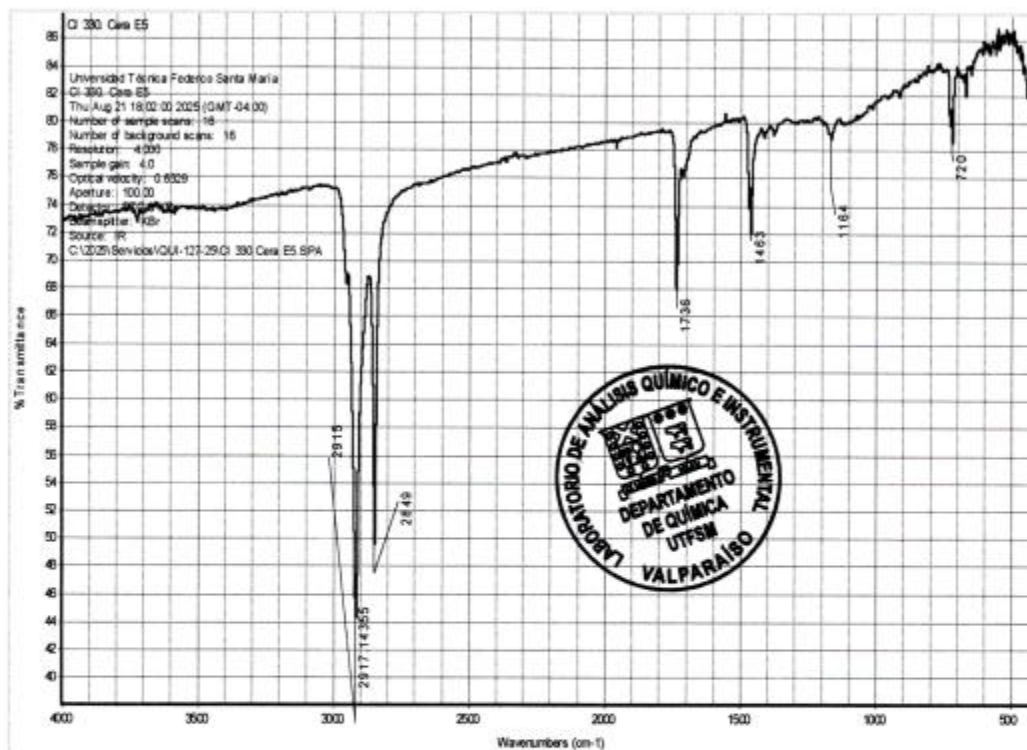
Los resultados entregados en este informe solo se refieren a los ítemes ensayados.

Este informe no debe ser reproducido parcial o totalmente sin la aprobación escrita de este Laboratorio.

Página 2 de 8

Figura 2: Segunda página de Informe QUI-127-25 (Elena, 2025).

**CI 330 Cera ES, en placa de KBr**



*[Handwritten signature]*

Responsable: Jefe de Laboratorio

Fecha de edición: junio de 2020

v03

Av. España 1680, Valparaíso

servicios.analiticos@usm.cl

www.labqi.cl

32 2 654219

QUI-127-25

Los resultados entregados en este informe solo se refieren a los ítemes ensayados.

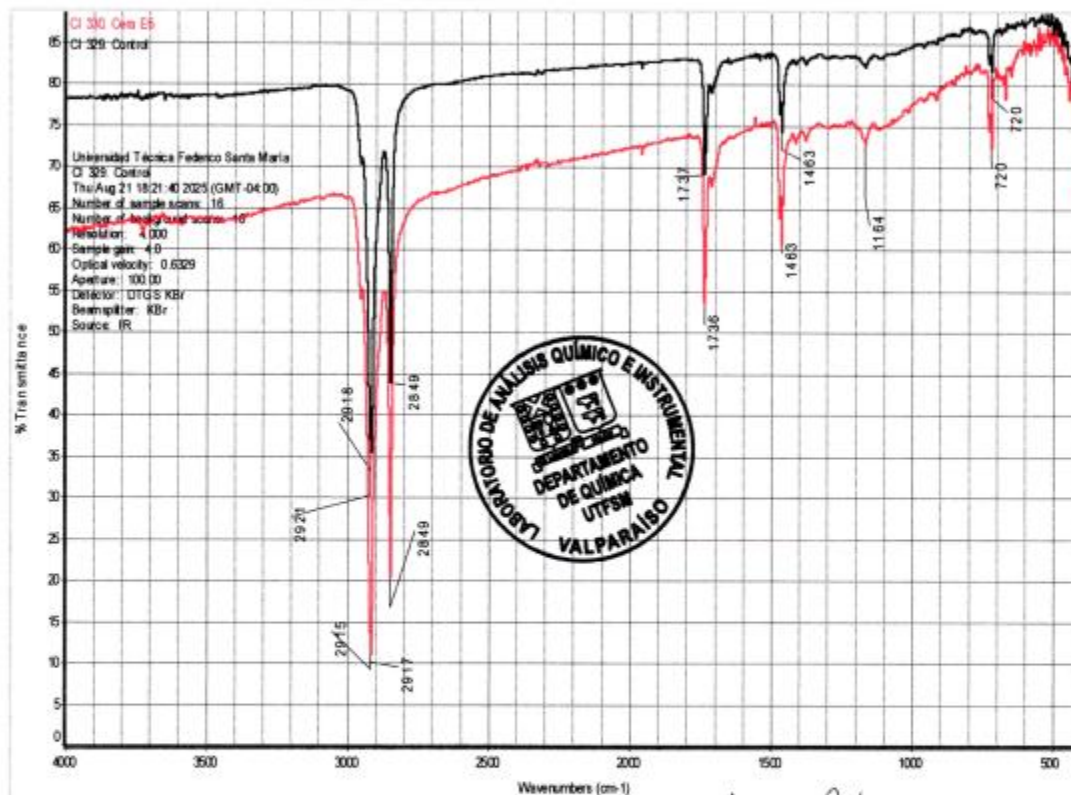
Este informe no debe ser reproducido parcial o totalmente sin la aprobación escrita de este Laboratorio.

Página 3 de 8

Figura 3: Tercera página de Informe QUI-127-25 (Elena, 2025).

Comparación del espectro de IR de la cera control con el espectro de IR de la cera ES

Se observan pequeñas diferencias entre los 2 espectros, en las zonas de  $3.200 - 3.500 \text{ cm}^{-1}$  y  $1.000 - 1.300 \text{ cm}^{-1}$



*Handwritten signature*

Responsable: Jefe de Laboratorio

Fecha de edición: junio de 2020

v03

Av. España 1680, Valparaíso

servicios.analiticos@usm.cl

www.labqi.cl

32 2 654219

QUI-127-25

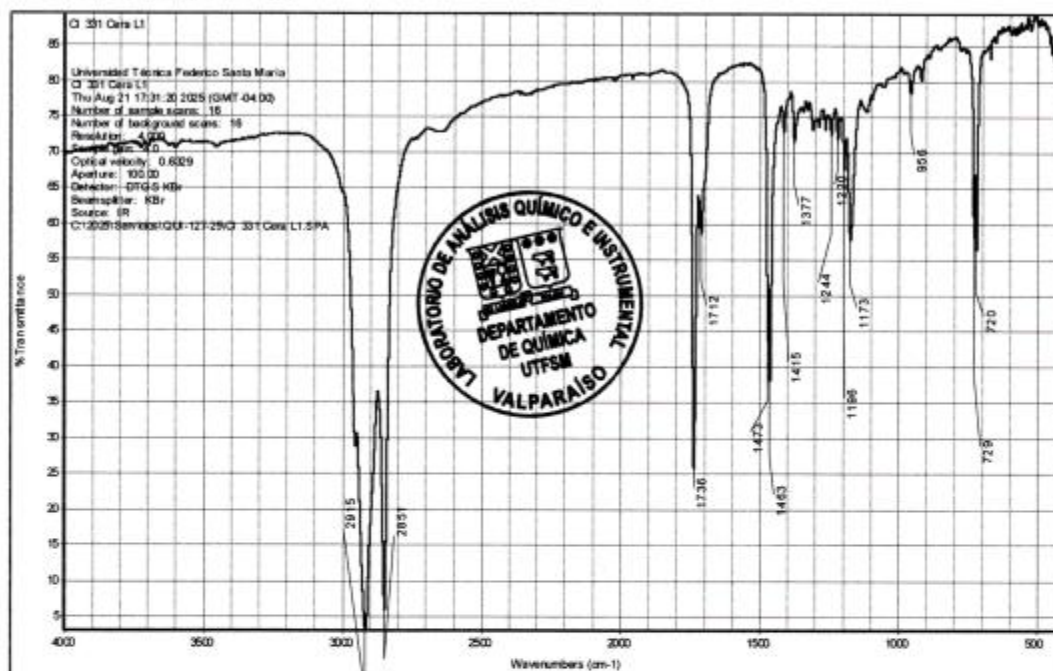
Los resultados entregados en este Informe solo se refieren a los ítemes ensayados.

Este informe no debe ser reproducido parcial o totalmente sin la aprobación escrita de este Laboratorio.

Página 4 de 8

Figura 4: Cuarta página de Informe QUI-127-25 (Elena, 2025).

**CI 331 Cera L1, en placa de KBr**



*[Handwritten signature]*

Responsable: Jefe de Laboratorio

Fecha de edición: junio de 2020

v03

Av. España 1680, Valparaíso

servicios.analiticos@usm.cl

www.labqi.cl

32 2 654219

QUI-127-25

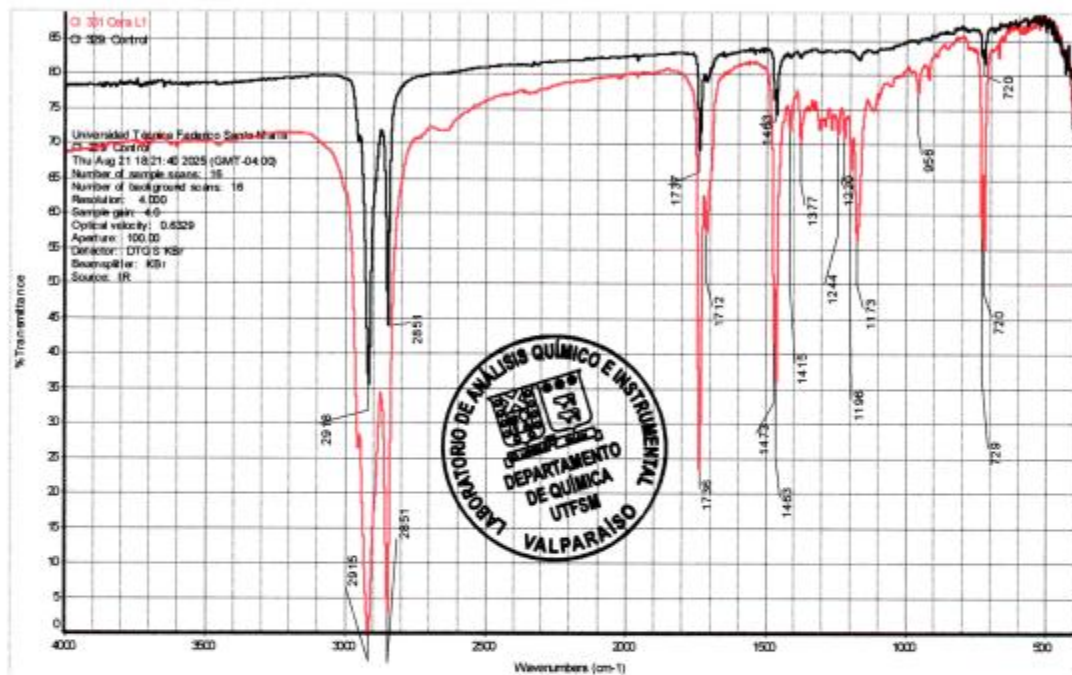
Los resultados entregados en este Informe solo se refieren a los ítemes ensayados.  
 Este Informe no debe ser reproducido parcial o totalmente sin la aprobación escrita de este Laboratorio.

Página 5 de 8

Figura 5: Quinta página de Informe QUI-127-25 (Elena, 2025).

Comparación del espectro de IR de la cera control con el espectro de IR de la cera L1

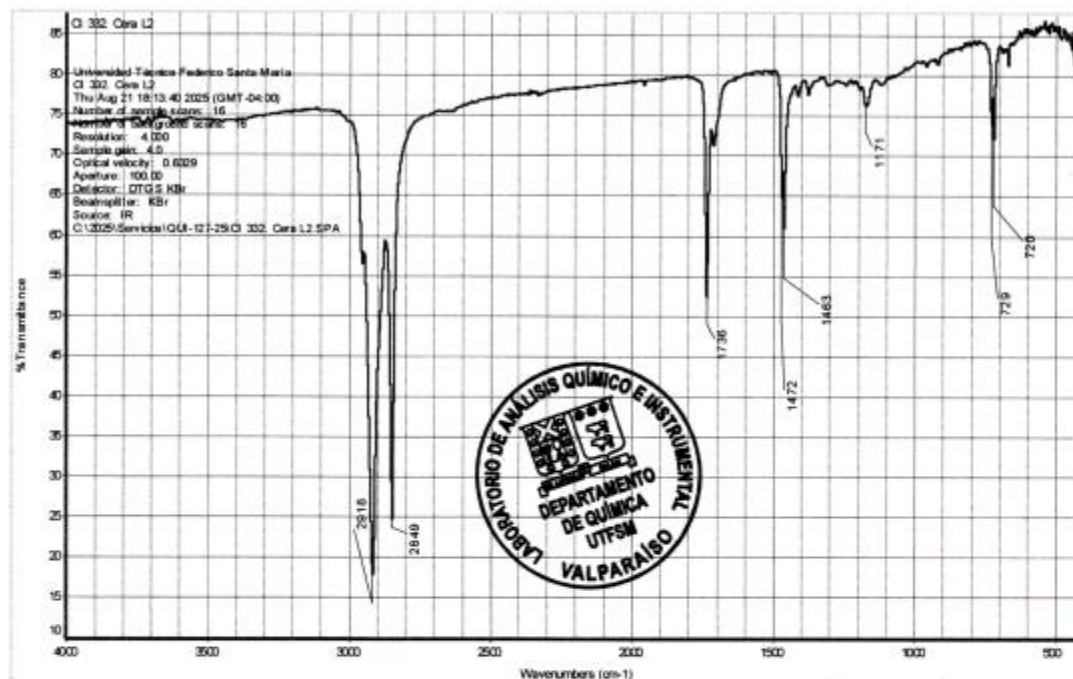
En esta comparación se observan diferencias significativas entre 800 y 1.400  $\text{cm}^{-1}$ .



*[Handwritten signature]*

Figura 6: Sexta página de Informe QUI-127-25 (Elena, 2025).

CI 332 Cera L2, en placa de KBr

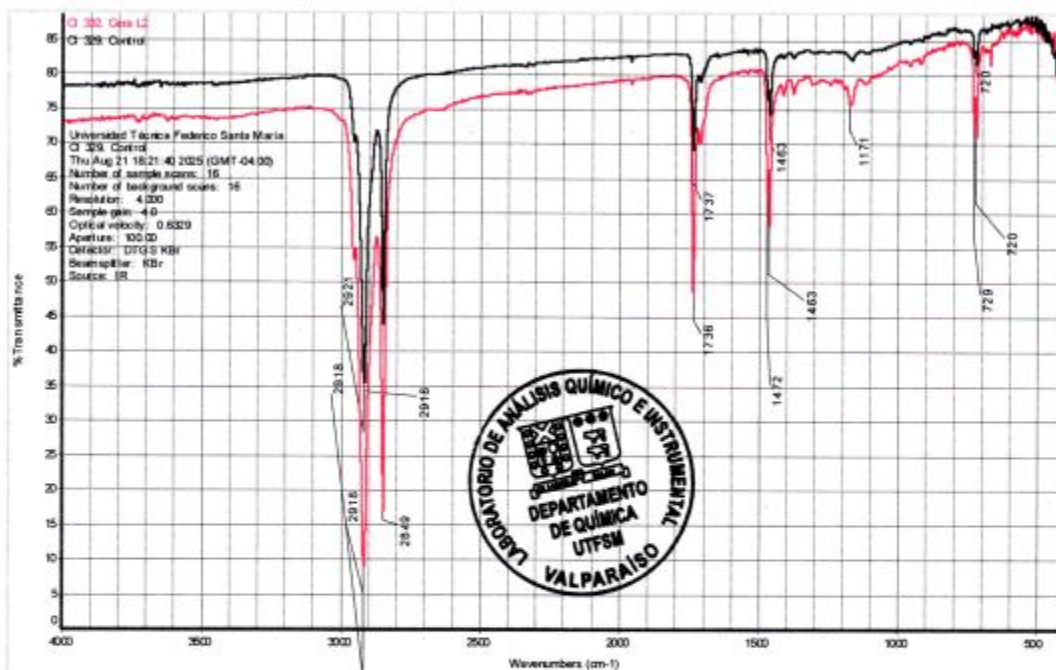


*[Handwritten signature]*

Figura 7: Séptima página de Informe QUI-127-25 (Elena, 2025).

Comparación del espectro de IR de la cera control con el espectro de IR de la cera L2

Se observan pequeñas diferencias entre los 2 espectros, en la zona de  $1.000 - 1.300 \text{ cm}^{-1}$



  
 María Elena Ortiz  
 Jefe de Laboratorio

Responsable: Jefe de Laboratorio

Fecha de edición: junio de 2020

v03

Av. España 1680, Valparaíso

servicios.analiticos@usm.cl

www.labqi.cl

32 2 654219

QUI-127-25

Los resultados entregados en este Informe solo se refieren a los ítemes ensayados.

Este Informe no debe ser reproducido parcial o totalmente sin la aprobación escrita de este Laboratorio.

Página 8 de 8

Figura 8: Octava página de Informe QUI-127-25 (Elena, 2025).

## Anexo 2: Asignación de modos vibracionales en cera de abeja y parafina para métodos FT-IR y AT-R.

| Band position in FTIR-ATR spectrum<br>(cm <sup>-1</sup> ) |                        | Band position in Raman spectrum<br>(cm <sup>-1</sup> ) |            | Assignment                                                         |
|-----------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------|------------|--------------------------------------------------------------------|
| beeswax                                                   | paraffin               | beeswax                                                | paraffin   |                                                                    |
| 2956                                                      | 2958                   |                                                        |            | $\nu^{as}(\text{CH}_3)$                                            |
| 2916                                                      | 2916                   | 2881                                                   | 2881       | $\nu^{as}(\text{CH}_2)$                                            |
| 2871                                                      | 2872                   | 2932                                                   | 2932       | $\nu^s(\text{CH}_3)$                                               |
| 2848                                                      | 2848                   | 2846                                                   | 2847       | $\nu^s(\text{CH}_2)$                                               |
| 1736                                                      |                        | 1735                                                   |            | $\nu(\text{C}=\text{O})$ esters                                    |
| 1724                                                      |                        |                                                        |            | $\nu(\text{C}=\text{O})$                                           |
|                                                           |                        |                                                        |            | hydroxyl-esters                                                    |
| 1711, 1697                                                | 1473, 1462, 1452       |                                                        |            | $\nu(\text{C}=\text{O})$ COOH                                      |
|                                                           |                        | 1655                                                   |            | $\nu(\text{C}=\text{C})$ olefinic                                  |
| 1472, 1462                                                |                        | 1462, 1440                                             | 1463, 1441 | $\delta(\text{CH}_2, \text{CH}_3)$                                 |
| 1414, 1397                                                |                        | 1419                                                   | 1419       | $\delta(\text{CH}_2)$ adjacent to the COOH                         |
| 1357, 1376                                                | 1377, 1368             | 1371                                                   | 1370       | $\delta(\text{CH}_3)$                                              |
| 1345, 1329, 1309, 1288, 1266, 1244, 1220, 1196            |                        | 1296                                                   | 1296       | $\delta(\text{CH}_2)$                                              |
| 1171                                                      |                        |                                                        |            | wagging + twisting, $\nu(\text{C}-\text{O})$ at COOH               |
|                                                           |                        | 1172                                                   | 1172       | $\nu(\text{C}-\text{O})$ esters                                    |
| 1125                                                      | 1126, 1106, 1045, 1009 |                                                        |            | $\rho(\text{CH}_2)$                                                |
| 1098, 1114                                                |                        | 1131, 1099                                             | 1134, 1111 | $\nu(\text{C}-\text{O})$ alcohols                                  |
|                                                           |                        |                                                        |            | $\nu(\text{C}-\text{O})$ alcohols, esters $\nu(\text{C}-\text{C})$ |
| 1051                                                      |                        | 1063                                                   | 1063       | $\nu(\text{C}-\text{O})$                                           |
| 1029, 1014                                                |                        |                                                        |            | alcohols $\nu(\text{C}-\text{C})$                                  |
| 956                                                       | 959, 889               |                                                        |            | $\nu(\text{C}-\text{O})$ alcohols                                  |
| 916                                                       |                        | 920                                                    |            | $\gamma(\text{OH})$ acids                                          |
|                                                           |                        | 891                                                    | 891        | $\rho(\text{CH}_3)$                                                |
| 730, 720                                                  | 730, 719               |                                                        |            | $\gamma(\text{CH}_2)$                                              |
| 683                                                       |                        |                                                        |            | $\delta(\text{COO})$ acids                                         |
| 550                                                       |                        |                                                        |            | $\omega(\text{COO})$ acids                                         |

$\nu$  - stretching,  $\delta$  - deformation,  $\gamma$  - out-of-plane,  $\rho$  - rocking,  $\omega$  - wagging, as - asymmetric, s - symmetric.

Figura 9: Tabla de asignación de modos vibracionales de cera de abejas y parafina para métodos FT-IR y AT-R (Špaldoňová, et al., 2020). Insertado directamente desde fuente.