



**CARACTERIZACIÓN DE CERAS DE SIETE ESPECIES DE
ABEJAS NATIVAS DE COLOMBIA, POR APLICACIÓN DE
ANÁLISIS MULTIVARIADO AL COMPORTAMIENTO
TÉRMICO, CRISTALINIDAD Y COMPOSICIÓN QUÍMICA**

Fernando Pinzón Parada

**Universidad de Pamplona
Facultad de Ciencias Básicas
Departamento de Química
Pamplona, Colombia
2018**

**CARACTERIZACIÓN DE CERAS DE SIETE ESPECIES DE
ABEJAS NATIVAS DE COLOMBIA, POR APLICACIÓN DE
ANÁLISIS MULTIVARIADO AL COMPORTAMIENTO
TÉRMICO, CRISTALINIDAD Y COMPOSICIÓN QUÍMICA**

Fernando Pinzón Parada

Tesis presentada como requisito para obtener el título de:
Magíster en Química

Director:
Dra. Diana Alexandra Torres Sánchez

Grupo de Investigación Biocalorimetría

Universidad de Pamplona
Facultad de Ciencias Básica
Departamento de Química
Pamplona, Colombia
2018

DEDICATORIA

A mí querida madre Blanca Doris Parada Por su apoyo y respaldo incondicional.

*Y, ser esa madre ejemplar que pocos tienen;
de gran ejemplo de superación personal, por su sabiduría, valentía y coraje con el que ha
afrentado todas sus dificultades a lo largo de su vida.*

*Solo espero no defraudarle y serle de gran orgullo, y le pido a Dios que me la cuide por
muchos años más llenos de amor, felicidad, y paz, acompañados siempre de muchos éxitos.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios primeramente por permitirme alcanzar este logro más en mi vida y guiarme en los momentos necesarios eligiendo de manera oportuna la mejor opción, espero que me permita llegar aún mucho más lejos y alcanzar mis metas propuestas en esta vida.

A mi esposa Diana Carolina Barón, por su apoyo y motivación para seguir adelante en nuestro camino por la vida.

A la señora Blanca Doris Parada, mi querida madre y a mis hermanos por su apoyo moral, motivación y abnegación. Espero ser buen ejemplo y en un futuro próximo poderles colaborar en sus proyectos de vida por su gran aporte y apoyo durante este proceso de periodo académico.

A mi directora de este trabajo, Dra. Diana Alexandra Torres Sánchez por su inmensa colaboración y permitirme trabajar con ella. De igual manera a su esposo Wolfgang Hoffmann quien fue de gran apoyo en la etapa de muestreo y clasificación de las especies.

A mis compañeros del programa de Maestría en Química por su compañerismo y amistad que siempre he apreciado y valorado muchísimo. Yaneth, muchas gracias por destacarse como excelente amiga y compañera incondicional de trabajo y estudio.

RESUMEN

Se realizó la caracterización de ceras pertenecientes a siete especies de abejas nativas de Colombia, que permitió mediante análisis termogravimétrico (TGA) simultáneo con calorimetría diferencial de barrido (DSC), calorimetría de combustión, espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS) y difracción de rayos X (XRD); hallar las temperaturas de fusión y calores de fusión en un proceso cíclico de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento; determinar la variación de masa en función de la temperatura, establecer la cinética y determinar los parámetros cinéticos de la degradación térmica, calcular el calor de combustión, obtener espectros infrarrojo de referencia, determinar los principales componentes y la fracción de estos, obtener el porcentaje de cristalinidad de muestras de cera de potes de alimento, celdas de cría e involucro para las especies: *Melipona favosa favosa*, *Melipona fuscipes*, *Melipona compressipes*, *Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera*, *Trigona (Tetragosnisca) angustula*, *Bombus (Fervidobombus) atratus* y *Nanotrigona sp.*, también, se analizó la cera de *Apis mellifera* (africanizada) y se tomó como muestra de referencia, ya que, de esta se encuentra información en la literatura.

Las diferencias significativas en cada análisis se determinaron por aplicación de análisis de varianza ANOVA a un nivel de significancia de 0,05 y las similitudes se corroboraron con Análisis de Componentes Principales y Análisis Clúster.

Se encontraron diferencias significativas en todos los análisis entre las muestras que pertenecen a diferentes tribus, aunque las más notorias entre las muestras de *Bombus atratus* con la de *Apis mellifera* (africanizada) y entre estas con las muestras pertenecientes a la tribu Meliponini. Con los análisis no se establece un patrón ordenado en las muestras que pertenecen a una misma especie o género si no que, estas se alternan en diferente orden dependiendo del análisis realizado. Los valores de temperatura de fusión, calor de fusión, calor de combustión y parámetros de Arrhenius son mayores en la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) y menor en las muestras de *Bombus atratus* y las demás muestras tienen valores intermedios entre estas dos especies sin presentar diferencias marcadas entre ellas. La cinética del proceso de pirólisis es de primer orden y se rige por la ecuación de Arrhenius presentando un incremento en la energía de activación de 38,38 kJ/mol desde la cera de *Bombus atratus* hasta la de *Apis mellifera* (africanizada).

ABSTRACT

The characterization of waxes belonging to seven native species of Colombian bees was determined, using thermogravimetric analysis (TGA) simultaneous with differential scanning calorimetry (DSC), combustion calorimetry, infrared spectroscopy with Fourier transform (FT-IR), gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and X-ray diffraction (XRD) to find melting temperatures and fusion heats in a cyclic heating process, cooling and overheating; to determine the variation of mass according to the temperature, to establish the kinetics and to determine the kinetic parameters of the thermal degradation, to calculate the combustion heat, to obtain reference infrared spectra, to determine the main components and their fraction, to obtain the percentage of crystallinity of waxes used by bees to build food storage pots, brood cells and the involucre. The wax was collected from the species: *Melipona favosa favosa*, *Melipona fuscipes*, *Melipona compressipes*, *Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera*, *Trigona (Tetragosnisca) angustula*, *Bombus (Fervidobombus) atratus* and *Nanotrigona* sp. In addition the wax of *Apis mellifera* (Africanized) was analyzed and it was taken as a reference sample, since more information is found in the literature.

The significant differences in each analysis were determined by application of ANOVA variance analysis at a significance level of 0.05 and similarities were corroborated using major component analysis and cluster analysis.

Significant differences were found in all analyses between the samples belonging to different tribes, highlighting the differences between the samples of *Bombus atratus* and that of *Apis* Africanized, the analyses do not establish an ordered pattern in the samples belonging to the same species or genus but these alternate in different order depending on the analysis performed. The values of melting temperature, melting heat, combustion heat and Arrhenius parameters are higher in the sample of *Apis* Africanized and lower in the samples of *Bombus atratus* and the other samples tend to have intermediate values between these two species without presenting remarkable differences among them. The kinetic of the pyrolysis process is of first order and is governed by the equation of Arrhenius presenting an increase in the activation energy of 38.38 kJ/mol from the wax of *Bombus atratus* to the one of *Apis mellifera* (Africanized).

CONTENIDO

Agradecimientos.....	12
Resumen.....	13
Abstract.....	14
Contenido.....	15
Lista de tablas.....	17
Lista de figuras.....	19
Lista de símbolos y abreviaturas.....	22
Lista de ecuaciones.....	23
1. Introducción.....	24
2. Marco Referencial.....	26
2.1 las abejas.....	26
2.1.1 la cera de abejas.....	27
2.1.2 Análisis de la cera de abejas.....	27
2.2 cromatografía de gases (GC).....	29
2.3 Espectrometría de masas (MS).....	29
2.4 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).....	29
2.5 Difracción de rayos X (X-RD).....	30
2.6 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	31
2.7 Análisis termogravimétrico (tGA).....	32
2.8 Análisis infrarrojo.....	33
3. Metodología.....	34
3.1 Muestreo.....	34
3.2 Caracterización mediante cromatografía de gases espectrometría de masas.....	35
3.2.1 Preparación de las muestras.....	35
3.2.2 Análisis GC-MS.....	35
3.3 Análisis infrarrojo.....	35
3.3.1 Preparación de las muestras.....	35
3.3.2 Obtención de los espectros FT-IR.....	35
3.4 Caracterización térmica de la cera de abejas.....	36
3.4.1 Análisis TGA-DSC.....	36
3.4.2 Determinación de los valores de los parámetros cinéticos y funciones termodinámicas.....	36
3.4.3 Determinación de entalpía de combustión.....	38
3.5 Determinación del porcentaje de cristalinidad.....	40

3.6 Análisis estadístico.....	40
3.6.1 Análisis de componentes principales de los espectros IR	40
3.6.2 Análisis de varianza ANOVA.....	40
3.6.3 Análisis clúster	40
4. Resultados y análisis.....	41
4.1 Análisis GC-MS	41
4.2 Análisis infrarrojo	74
4.3 Análisis térmico	83
4.3.1 Proceso de fusión	83
4.3.2 Calor específico	97
4.3.3 Proceso de pirólisis	101
4.3.4 Calor de combustión	111
4.4 Análisis de difracción de rayos X.....	113
4.5 Análisis general.....	117
5. Conclusiones.....	119
6. Recomendaciones.....	120
7. Bibliografía	121
8 Anexos	128

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Lugares de muestreo.	34
Tabla 2. Composición de la cera de <i>Apis mellifera</i> (africanizada).	42
Tabla 3. Resumen de la composición de cera de <i>Apis mellifera</i> (africanizada).	43
Tabla 4. Composición de la cera de <i>Melipona compressipes</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	45
Tabla 5. Resumen de la composición de la cera de <i>Melipona Compressipes</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	46
Tabla 6. Composición de la cera de <i>Melipona favosa favosa</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	49
Tabla 7. Resumen de la composición de la cera de <i>Melipona favosa favosa</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	50
Tabla 8. Composición de la cera de <i>Melipona fuscipes</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	52
Tabla 9. Resumen de la composición de la cera de <i>Melipona fuscipes</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	54
Tabla 10. Composición de la cera de <i>Trigona (Tetragonisca) angustula</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; I: muestra de involucro.	56
Tabla 11. Resumen de la composición de la cera de <i>Trigona (Tetragonisca) angustula</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; I: muestra de involucro.	57
Tabla 12. Composición de la cera de <i>Trigona (Frieseomlitta) nigra paupera</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	60
Tabla 13. Resumen de la composición de la cera de <i>Trigona (Frieseomlitta) nigra paupera</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	61
Tabla 14. Composición de la cera de <i>Nanotrigona</i> sp.. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	63
Tabla 15. Resumen de la composición de la cera de <i>Nanotrigona</i> sp.. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	64
Tabla 16. Composición de la cera de <i>Bombus atratus</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	67
Tabla 17. Resumen de la composición de la cera de <i>Bombus atratus</i> . A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.	68
Tabla 18. Bandas características de las muestras de cera y las vibraciones de los enlaces asociados a estas.	75
Tabla 19. Temperatura promedio del punto de inflexión del intervalo de fusión en los procesos de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	84
Tabla 20. Entalpía de fusión promedio en los procesos de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	91
Tabla 21. Valores de c_p de las muestras de cera. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	98
Tabla 22. Parámetros cinéticos del proceso de pirólisis. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro; E_a : energía de activación; A: factor pre-exponencial de Arrhenius; T_i : temperatura inicial (K); T_f : temperatura final (K); ΔT : intervalo de temperatura del proceso de pirólisis (K).	103

Tabla 23. Valores promedio de la constante cinética del proceso de pirólisis. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	103
Tabla 24. Variación de las funciones termodinámicas en el proceso de pirólisis. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	107
Tabla 25. Datos promedios y desviación estándar de los calores de combustión.....	112
Tabla 26. Porcentaje de cristalinidad de las muestras de cera	113

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema y puntos esenciales de un difractor de rayos X. (F) fuente de rayos X, (S) soporte de muestra y (G) es el detector. Fuente: WASEDA, Yoshio., SHINODA, Kozo. and MATSUBARA, Eiichiro. X-Ray Diffraction Crystallography. Berlín: Springer-Verlag Heidelberg, 2011. 108 p. ISBN 978-3-642-16634-1.	31
Figura 2. Esquema de una celda de un equipo de DSC. FUENTE: SKOOG, Douglas; HOLLER, James y NIEMÁN Timothy. (2001) Principios de Análisis Instrumental. Quinta ed. Mc Graw Hill – Madrid. 872 p. ISBN 84-481-2775-7.	32
Figura 3. Esquema de una termobalanza. Dónde: A, brazo; B, copa y soporte de la muestra; C, contrapeso; D, lámpara y fotodiodos; E, bobina; F, imán; G, control del amplificador; H, calculador de la tara; I, amplificador; J, registro. FUENTE: SKOOG, Douglas; HOLLER, James y NIEMÁN Timothy. (2001) Principios de Análisis Instrumental. Quinta ed. Mc Graw Hill – Madrid. 865 p. ISBN 84-481-2775-7.....	32
Figura 4. Esquema de un espectrofotómetro de infrarrojo. FUENTE: SKOOG, Douglas; HOLLER, James y NIEMÁN Timothy. (2001) Principios de Análisis Instrumental. Quinta ed. Mc Graw Hill – Madrid. 424 p. ISBN 84-481-2775-7.	33
Figura 5. (A) nido de <i>Melipona favosa favosa</i> , (B) nido de <i>Trigona (friesiomelitta) nigra paupera</i> , (C) nido de <i>Bombus atratus</i> y (C) panel de <i>Apis mellifera</i> (africanizada).	34
Figura 6. A) bomba de combustión (microcalorímetro) Phillipson. B) extrapolación del termograma de combustión por el método Challoner.	39
Figura 7. Cromatograma GC-MS de la cera de <i>Apis mellifera</i> (africanizada)	42
Figura 8. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de <i>Melipona compressipes</i> . Alimento, cría e involucro respectivamente.....	44
Figura 9. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de <i>Melipona compressipes</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro	47
Figura 10. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de <i>Melipona favosa favosa</i> . Alimento, cría e involucro respectivamente.	48
Figura 11. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de <i>Melipona favosa favosa</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	51
Figura 12. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de <i>Melipona fuscipes</i> . Alimento, cría e involucro respectivamente.....	52
Figura 13. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de <i>Melipona fuscipes</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	54
Figura 14. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de <i>Trigona (Tetragonisca) angustula</i> . Alimento e involucro respectivamente.	55
Figura 15. a) Variación en la fracción de los tipos de compuestos y b) variación en la longitud de las cadenas carbonadas. En las muestras de <i>Trigona angustula</i> . A: muestra de alimento; I: muestra de involucro.	58
Figura 16. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de <i>Trigona (Friesiomelitta) nigra paupera</i> . Alimento, cría e involucro respectivamente.	59
Figura 17. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de <i>Trigona (Tetragonisca) nigra paupera</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	61
Figura 18. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de <i>Nanotrigona</i> sp. Alimento, cría e involucro respectivamente.....	62
Figura 19. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de <i>Nanotrigona</i> sp.. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	65

Figura 20. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de <i>Bombus atratus</i> . Alimento, cría e involucro respectivamente.....	66
Figura 21. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de <i>Bombus atratus</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	68
Figura 22. Porcentaje de los principales tipos de compuestos que conforman las muestras de cera. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	70
Figura 23. Composición química de las muestras de ceras. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro. La intensidad del contorno es proporcional a la fracción en la composición (cantidad) de cada compuesto versus la muestra.	72
Figura 24. Clúster de la composición de las muestras de cera analizadas mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	73
Figura 25. Espectros FT-IR general de las muestras analizadas. Se muestran las bandas características de las muestras de cera y las vibraciones de los enlaces asociados a estas.	74
Figura 26. Espectro FT-IR de cera de <i>Apis mellifera</i> (africanizada).....	76
Figura 27. Espectros FT-IR de ceras de <i>Trigona (Tetragosnisca) angustula</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	77
Figura 28. Espectros FT-IR de ceras de <i>Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	78
Figura 29. Espectros de ceras de <i>Melipona compressipes</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro	78
Figura 30. Espectros de las ceras de <i>Melipona fuscipes</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	79
Figura 31. Espectros FT-IR de las ceras de <i>Melipona favosa favosa</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro	79
Figura 32. Espectros FT-IR de las ceras de <i>Nanotrigona</i> sp.. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro; E: muestra de entrada.	81
Figura 33. Espectros FT-IR de las ceras de <i>Bombus (Fervidobombus) atratus</i> . A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	81
Figura 34. Gráfico biplot del análisis de componentes principales de los espectros IR. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	82
Figura 35. Proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento las muestras para cada una de las especies analizadas.	85
Figura 36. Temperatura de inflexión promedio del intervalo de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	86
Figura 37. Temperatura inicial y final en el proceso de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	87
Figura 38. Termograma de los procesos de fusión y solidificación de una muestra de alimento de <i>Melipona compressipes</i>	88
Figura 39. Pérdida de masa durante el proceso de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	89
Figura 40. Calor de fusión promedio. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	92
Figura 41. (A) Calor de fusión, (B) temperatura de fusión, (C) temperatura del pico máximo de fusión y (D) intervalo de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	93
Figura 42. Distribución normal y diagrama de cajas y bigotes de los valores del calor de fusión en el proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro. Cada color representa una muestra diferente.....	94
Figura 43. Test <i>post-hoc</i> de Bonferroni aplicado a las muestras de alimento en el proceso de calentamiento. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	95

Figura 44. Relación lineal entre el calor de fusión y temperatura de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.....	96
Figura 45. Valores promedio del calor específico. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	99
Figura 46. Calor específico en función de la temperatura.	100
Figura 47. Pérdida de masa en el proceso de fusión y Cp vs muestra. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	100
Figura 48. Variación de los parámetros de Arrhenius vs muestra. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	102
Figura 49. Representación del ajuste del proceso de pirólisis por el modelo KAS.	102
Figura 50. Ajuste lineal del factor pre-exponencial y la energía de activación.	105
Figura 51. Parámetros de Arrhenius vs porcentaje de hidrocarburos.	106
Figura 52. Variación de las funciones termodinámicas y temperatura de inflexión.	108
Figura 53. Ajuste lineal de las funciones termodinámicas	109
Figura 54. Variación de entropía en el proceso de pirólisis vs intervalo de temperatura.	110
Figura 55. Ajuste lineal entre el calor de fusión (calentamiento), temperatura de inflexión en el proceso de fusión (calentamiento), energía de activación y factor pre-exponencial con respecto a la temperatura de inflexión del proceso de pirólisis.	110
Figura 56. Calor de combustión vs muestras. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	112
Figura 57. Porcentaje de cristalinidad. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	114
Figura 58. Difractograma de rayos X de la muestra de <i>Apis mellifera</i> (africanizada).....	114
Figura 59. Transiciones polimórficas en la muestra de <i>Apis mellifera</i> (africanizada) y <i>Nanotrigona</i> sp.	115
Figura 60. Transiciones polimórficas de las muestras de <i>Melipona compressipes</i> , <i>Melipona fuscipes</i> y <i>Melipona favosa favosa</i>	116
Figura 61. Transiciones polimórficas de las muestras de <i>Trigona angustula</i> , <i>Trigona nigra paupera</i> y <i>Bombus atratus</i>	117
Figura 62. Clúster de los datos de los análisis térmicos y GC-MS. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.	118

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

$\Delta_{fusión}H$: Entalpía de fusión

A: factor pre-exponencial de Arrhenius

A: Muestra de alimento

C: muestra de cría

c_p : calor específico

E_a : energía de activación

F: factor de calibración

GC: cromatografía de gases

GC-MS: cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

I: muestra de involucro

IR-FT: espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

m_{cap} : masa de la cápsula de gelatina

m_m : masa de la muestra

MS: espectrometría de masas

Pa: Pascales

Q_{cap} : calor de combustión de la cápsula

Q_m : calor de combustión de la muestra

Q_{total} : calor de combustión total

X-RD: difracción de rayos X

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Ecuación de Arrhenius.	36
Ecuación 2. Ecuación de Arrhenius modificada por Shadangi y Mohanty.	37
Ecuación 3. Fracción de conversión.	37
Ecuación 4. Ecuación de Arrhenius modificada por Shadangi y Mohanty en función de la conversión.	37
Ecuación 5. Ecuación de Arrhenius modificada por Shadangi y Mohanty en función de la conversión para n=1.	37
Ecuación 6. Forma lineal de la ecuación de Arrhenius modificada por Shadangi y Mohanty para n=1.	37
Ecuación 7. Cálculo del cambio de entalpía del proceso de pirólisis a partir de la energía de activación y la temperatura de inflexión del proceso.	38
Ecuación 8. Cálculo del cambio de entropía en el proceso de pirólisis a partir del factor de frecuencia y la temperatura de inflexión de este proceso.	38
Ecuación 9. Cálculo del cambio en la energía libre de Gibbs para el proceso de pirólisis.	38
Ecuación 10. Calor total del proceso de combustión.	39
Ecuación 11. Calor de combustión de la muestra.	39
Ecuación 12. Porcentaje de cristalinidad.	40
Ecuación 13. Cálculo del calor específico a partir de las señales TGA-DSC.	97
Ecuación 14. Porcentaje de cristalinidad a partir de la relación de las entalpías de fusión y el porcentaje de cristalinidad de referencia (100% para la muestra de <i>Apis mellifera</i>).	113

1. INTRODUCCIÓN

Colombia es uno de los países con mayor diversidad biológica, ya que con sólo el 0,7% de la superficie continental posee cerca del 10% de la diversidad biológica mundial. Esta biodiversidad ha sido utilizada por comunidades tradicionales y es base directa e indirecta de numerosas actividades productivas, por lo cual juega un papel estratégico en el desarrollo nacional, y en las oportunidades futuras de desarrollo sostenible.

La importancia de la biodiversidad, así como la adopción de medidas para su conservación, uso sostenible y distribución de beneficios que se deriven de su utilización, se consignan en la Convención sobre Diversidad Biológica, ratificada por Colombia mediante la Ley 165 de 1994. La Política Nacional de Biodiversidad establece un marco general y de largo plazo para orientar las estrategias nacionales sobre este tema. Esta política, se fundamenta en tres estrategias: conservación, conocimiento y uso sostenible de la biodiversidad.

La caracterización de la biodiversidad se originó hace cerca de dos siglos con el trabajo de Alexander Von Humboldt y la Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada. Esta tradición ha continuado y se refleja en las colecciones de las principales Universidades del país. A pesar de estos importantes esfuerzos, el conocimiento científico de nuestra diversidad biológica sigue siendo deficiente a causa del reto que presenta la mega biodiversidad colombiana.

El desconocimiento del potencial estratégico de la biodiversidad se ve reflejado principalmente en los efectos que las políticas intersectoriales tienen sobre esta (Por ejemplo, la Política de Reforma Agraria de 1961). Este desconocimiento es una de las principales causas en las deficiencias del conocimiento científico y aplicado sobre conservación y uso sostenible de la biodiversidad, al igual que el poco desarrollo tecnológico del país[1].

Son más que justificadas las razones por las cuales se debe realizar investigación desde un ámbito científico, que aporte un conocimiento no solo desde el punto de vista general sino también a nivel genético, estructural y molecular de nuestra biodiversidad para contribuir en la consecución de información científica a nivel nacional e internacional que favorezca un desarrollo económico sostenible y amigable con nuestro entorno, para dar provecho a la gran riqueza que tiene Colombia. Idea que es compartida por el secretario general de la ONU Ban Ki-Moon quien también ha señalado que el mundo debe impulsar un crecimiento económico más verde e inclusivo y también ha declarado que “el cambio climático ha ocurrido debido al comportamiento humano. Por lo tanto, debe ser natural que nosotros, los seres humanos, atendamos el tema y puede no ser demasiado tarde si tomamos acciones decisivas hoy mismo”[2].

Colombia, alberga un gran número de especies de abejas de la subfamilia *Apinae* (abeja melífera, abejorros, abejas sin aguijón, abejas de las orquídeas), debido a esto, nuestro país puede ser potencialmente importante en producción y utilización de materiales biológicos

como la cera de abejas, miel, propóleos y polen que son fabricados o recolectados por estos insectos y que cada día adquieren mayor importancia en mercados nacionales e internacionales. El uso de especies autóctonas en este tipo de actividades permite la conservación de las especies utilizadas y su entorno ecológico por lo que no es necesario alterar su ecosistema. Además, evita la introducción de especies foráneas e invasoras como la especie *Apis mellifera* (africanizada) que afecta directamente la estabilidad de la diversidad biológica, mediante la competencia y desplazamiento de especies nativas que puede poner en peligro la viabilidad de las poblaciones o incluso llevar a su extinción.

Si bien nuestros antepasados han empleado los productos de estos insectos, en la actualidad cabe realizar las siguientes preguntas: ¿conocemos los usos adecuados que debemos dar a estos productos?, ¿Conocemos las principales características y propiedades de cada uno de ellos?, ¿Cómo podemos obtener más información acerca de estos productos? El producto mayoritario y del cual se tiene mayor interés es la miel, sin embargo, también se puede sacar provecho de la cera que cada día tiene mayor demanda a nivel internacional para diversos usos; aunque para ello se hace necesario conocer sus principales características que distingan una muestra de otra y que den su valor agregado de acuerdo con las propiedades para un uso en particular. Estas particularidades solo se obtienen haciendo la caracterización de estas mediante técnicas instrumentales modernas que permitan determinar su composición química, propiedades térmicas, cristalinidad, comportamiento térmico, etc.

La mayoría de la información que se encuentra de estudios realizados de los productos de las abejas en el mundo, hasta el momento, se han hecho principalmente para *Apis mellifera*. No existen registros completos de la fauna de abejas nativas de Colombia y mucho de su biología y ecología son desconocidas. Esta falta de información, políticas de protección, pérdida del hábitat y de sitios de nidificación de las abejas nativas de nuestro país podría ocasionar que muchas estén en peligro y que se requieran medidas urgentes que ayuden a protegerlas[3].

Este proyecto, hace parte del grupo de investigación Biocalorimetría, que ha venido trabajando en la caracterización química y determinación del contenido energético de los materiales de construcción de los nidos de algunos insectos sociales (principalmente abejas sin aguijón) y monitoreando actividades termorreguladoras, que han permitido conocer estrategias de comportamiento de cada especie y el efecto de factores externos en el equilibrio en cada una de ellas.

El principal objetivo de este proyecto fue realizar por primera vez la caracterización de ceras de diferentes especies de abejas nativas de Colombia, pertenecientes a las tribus Bombini y Meliponini; material que es utilizado en la construcción de potes de almacenamiento de alimento, celdas de cría e involucro. Para ello, se empleó cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier, difracción de rayos X, calorimetría diferencial de barrido, análisis termogravimétrico y calorimetría de combustión.

Los resultados obtenidos en esta investigación proveerán información acerca de la composición de este tipo de material que servirá para conocer los mecanismos utilizados por

estos insectos y ayudará en el establecimiento de estrategias de conservación de los mismos. Adicionalmente, la información obtenida podrá utilizarse para analizar y comparar las ventajas y desventajas en cada tipo de muestra en posibles usos comerciales que estas puedan tener en los mercados de “productos verdes” que cada día toman mayor interés en el mundo y en los cuales tenemos nuevas oportunidades tal como lo ratifican los tratados de libre comercio pactados con algunos países[4].

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 LAS ABEJAS

De las 950.000 especies de insectos descritas hasta el momento, aproximadamente 25.000 son abejas[3]. Tradicionalmente, las abejas han sido clasificadas en once familias dentro de la superfamilia *Apoidea*[5],[6]: *Colletidae*, *Stenotritidae*, *Halictidae*, *Andrenidae*, *Oxaeidae*, *Ctenoplectridae*, *Melittidae*, *Fidelidae*, *Megachilidae*, *Anthophoridae* y *Apidae*, con aproximadamente 4.000 géneros y entre 25.000 a 30.000 especies en todo el mundo[7],[8].

En Colombia, se han identificado aproximadamente 600 especies de abejas agrupadas en 21 géneros y 4 tribus: Euglossini, Bombini, Meliponini y Apini[9]. De éstas, 240 son sociales, cuya característica distintiva es poseer en las tibias posteriores una estructura especializada para recoger polen, conocida como corbícula. Adicionalmente, las obreras jóvenes desarrollan unas glándulas especiales de producción de cera que se encuentran en su abdomen y son más eficientes en la producción de cera desde el día 10 hasta el 16 día de vida. A partir del día 18 y hasta el final de su vida la producción de cera va declinando constantemente[10].

Las estructuras más importantes en las cuales se requiere la utilización de cera (en algunas publicaciones se utiliza la palabra cerumen, debido a que la cera de abejas sin aguijón está mezclada con resinas y otros materiales) incluyen el área de la cría que forma la base termal del nido y está protegida por el involucro que además de permitir que el calor sea conservado allí, es también una barrera hecha de cera en forma de envolturas o capas que cubre la zona de cría (por lo general 2 a 5 en número). En torno a la cría también construyen un laberinto y los pasillos por donde las abejas pueden circular. Dependiendo del clima donde se encuentre la especie, el involucro puede tener un tamaño diferente, es decir, si el lugar es demasiado cálido el involucro será más grande que en un lugar más fresco. El involucro es además muy importante en la prevención de que intrusos o enemigos tengan acceso directo a la cría protegiéndola particularmente de algunos parásitos como fóridos, otras especies de moscas, hormigas, polillas de cera o la especie *Lestrimellita* que roba los recursos alimenticios[11].

Los potes de almacenamiento son estructuras ovoides de cera en las cuales se almacena el

polen y la miel por separado, con excepción de los potes de reserva de *Lestrimellita*, que por ser una abeja cleptobiótica (roba los recursos de otras abejas sociales), almacena el polen mezclado con la miel. En las especies de la tribu Meliponini es difícil diferenciar entre potes que contienen polen y miel, pues ambos son de dimensiones similares[12]. Además, cabe resaltar, que las ceras están fuertemente involucradas en la comunicación química entre las abejas[13].

2.1.1 LA CERA DE ABEJAS

La cera de abejas es una sustancia sólida a temperatura ambiente, compleja por su cantidad y diversidad de componentes que consisten principalmente de hidrocarburos parafínicos, alcoholes grasos, ácidos grasos, ácidos de ésteres grasos y diésteres[14]; por lo tanto, su aspecto y propiedades dependen tanto de su origen taxonómico y ecológico como del uso que las abejas le den en la colmena[15]. La composición química de la cera varía dependiendo de la especie de las abejas, edad de la cera, condiciones climáticas, y de su uso dentro del nido[16].

La cera, al ser sometida a temperaturas ligeramente superiores, se convierte en un líquido de baja viscosidad. La mayoría de los componentes de la cera son materiales saturados y estos dan lugar a su estabilidad química y a características de impermeabilización[17]. La cera juega un papel importante en el ciclo biológico de la colmena, ya que protege las crías durante su etapa de desarrollo; sirve como intermediario en la comunicación, es utilizada para almacenar alimentos y tiene características termorreguladoras importantes[18].

Debido a su composición y propiedades mecánicas, la cera ha sido y sigue siendo utilizada en muchos sectores económicos, entre los cuales se destacan: orfebrería, decoración de telas, adhesivos, material para relleno, lubricantes, cosméticos, farmacia, fabricación de velas y para muchos otros propósitos. Por lo tanto, se requiere con frecuencia la caracterización detallada de las ceras[19].

Mezclas de resinas con ceras y otros ingredientes secretos fueron y siguen siendo usados en la fabricación de algunos instrumentos de cuerda como violines (Stradivarius) y violoncelos[20]. En los últimos años, se han reconocido sus cualidades como un material seguro de origen natural en algunos países de Europa y Japón. Debido a ello, se están realizando investigaciones en la caracterización y propiedades de este material biológico con miras a nuevas posibilidades de su uso y su comercialización en diferentes industrias[21].

2.1.2 ANÁLISIS DE LA CERA DE ABEJAS

Se ha realizado investigaciones en análisis térmico de ceras para *Apis mellifera*. Utermark y Schicke[22] y Tulloch[23] reportaron temperaturas de fusión de ceras de *A. mellifera* de entre 61 y 63 °C. Timbers et al[24], utilizando métodos de análisis térmico examinó ceras de *A. mellifera* encontrando temperaturas de fusión de 68 °C. Southwick[25] determinó la conductividad térmica de cera de *A. Mellifera* cuyo valor fue de $3,610 \times 10^{-3} \text{ cal}^*(\text{cm} \cdot ^\circ\text{C})^{-1}$.

Tulloch[26] es uno de los pioneros en el análisis químico de la cera de *Apis mellifera*, reportando entre los principales componentes de esta, hidrocarburos (C23-C33), alcoholes (C24-34), ácidos (C16-C32) hidroxiácidos (C16-C28) y dioles (C24-C32); estudios subsecuentes realizados por Aichholz y Lorbeer en 1999[27], y en 2000[28] han complementado el trabajo realizado por Tulloch. En 1986 Hepburn[29] publicó un libro en donde realizó un compendio de las investigaciones llevadas a cabo hasta ese momento acerca de la cera de la especie *Apis mellifera*. Morgan y colaboradores[30] trabajaron en la determinación de algunas propiedades físicas y mecánicas en cera de *A. mellifera*. Buchwald y colaboradores[18] encontraron que la cera producida por diferentes subfamilias del género *Apis* posee diferentes propiedades mecánicas y además estas diferencias están relacionadas con la biología de cada uno de los nidos. Blomquist y colaboradores[31] analizaron la composición química de la cera de *Trigona (Trigonisca) buyssoni (Fabricius)* y *Trigona (Trigonisca) atomaria (Ducke)*. Milborrow y colaboradores[32] analizaron la composición de cera de la especie *Trigona australis (Smith)*; mientras que Koedam y colaboradores[33], examinaron la producción de cera de reinas vírgenes de *Melipona bicolor (Lepelletier)*.

En la actualidad, la mayoría de los trabajos reportados se centran en la calidad de la cera y en desarrollar métodos para su determinación. Como ejemplo de ello, Ulla Knuutinen y Anna Norman emplearon análisis de espectroscopia infrarroja como herramienta para la identificación y determinación de diferencias químicas entre ceras de abeja, parafina, cera carnauba y mezclas entre estas; también determinaron temperaturas de fusión de ceras de abeja, cera carnauba, parafina, mezclas de cera carnauba con parafina y cera de abejas[17]. Por otro lado, Miguel Maia y colaboradores[14] trabajaron en la autenticación de la cera de *Apis mellifera* empleando cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas y análisis quimiométrico.

Se han realizado estudios de la cera de abejas mezclada con otras sustancias, como el reportado por Gaillard y colaboradores[34], quienes analizaron mezclas de cera de *Apis mellifera* con colofonia en diferentes relaciones, determinando el comportamiento térmico mediante DSC junto con X-RD y microscopía electrónica polarizada para determinar el perfil cristalográfico en cada una de las muestras.

Para las muestra de ceras provenientes de abejas nativas de Colombia, hasta el momento solo se conocen dos trabajos, el primero realizado por Eli Yojana Tovar Mattos quien determinó los calores de combustión para *Melipona favosa favosa*, *Melipona fuscipes*, *Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera*, *Trigona (Tetragosnisca) angustula*, *Bombus (Fervidobombus) atratus*, *Bombus (Fervidobombus) pullatus*[35], y el segundo realizado por Pinzón y colaboradores titulado Thermoanalytical and infrared spectroscopic investigations on wax samples of native Colombian bees living in different altitudes, en el cual se realizó análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR); que permitieron determinar la temperatura de fusión, calor de fusión, intervalo de fusión, pérdida de peso en función de la temperatura, encontrando diferencias significativas entre muestras de diferentes tribus Apini, Meliponini y Bombini [36]. Este trabajo a la fecha es el único publicado para Colombia.

2.2 CROMATOGRAFÍA DE GASES (GC)

En la cromatografía de gases (GC) la muestra se inyecta y se volatiliza en la cabeza de una columna cromatográfica y la elución se produce por el flujo de una fase móvil de un gas inerte. A diferencia de la mayoría de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC). La cromatografía gas-líquido tiene gran aplicación en todos los campos de la ciencia y su denominación se abrevia normalmente como cromatografía de gases (GC), a pesar de que este hecho deja a un lado la cromatografía gas-sólido como si no se tratase de un tipo de cromatografía.

La cromatografía gas-líquido se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte. El concepto de cromatografía gas-líquido fue enunciado por primera vez, en 1941, por Martin y Synge, quienes también fueron responsables de la cromatografía de reparto líquido-líquido, tuvo que pasar sin embargo, más de una década antes de que la importancia de la cromatografía gas-líquido se demostrara experimentalmente. Tres años más tarde, en 1955, apareció en el mercado el primer aparato comercial para cromatografía gas-líquido. Desde entonces, las aplicaciones de esta técnica han crecido de una forma bastante rápida[37].

2.3 ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MS)

De todas las herramientas analíticas que dispone el científico, la espectrometría de masas es quizás la de mayor aplicación, en el sentido de que esta técnica es capaz de proporcionar información acerca de: (1) composición elemental de las muestras, (2) estructura de las moléculas inorgánicas, orgánicas y biológicas; (3) composición cualitativa y cuantitativa de mezclas complejas; (4) estructura y composición de superficies sólidas; y (5) relaciones isotópicas de átomos en las muestras[38].

Un espectrómetro de masas es un instrumento que mide la relación masa carga (m/z) de iones en estado gaseoso y provee una medida de la abundancia de cada especie de ion. La calibración se realiza con iones de relación masa/carga conocida. Todos los espectrómetros de masas realizan la separación de iones en estado gaseoso a una presión baja por interacción de un campo magnético o eléctrico sobre las partículas cargadas.

2.4 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-MS)

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas es una combinación sinérgica de dos poderosas técnicas analíticas. Mediante la cromatografía de gases se pueden separar los componentes de una mezcla y con la espectrometría de masas se obtiene información que

ayuda en la identificación y determinación de la estructura química de cada componente de la muestra[39].

Dada la amplia aplicación de la combinación de estas técnicas, actualmente se cuenta con bibliotecas de bases de datos de espectros de masa de una gran cantidad de compuestos conocidos. Las bases de datos permiten identificar los analitos individualmente al comparar el espectro obtenido, con el de referencia; de no encontrarse el espectro del analito en la base de datos, se puede generar una ruta de fragmentación a partir de la relación m/z de los iones generados y de esta forma esclarecer la estructura del analito[40]. Estas bondades, permiten realizar análisis tanto cualitativo como cuantitativo de muestras complejas en las que se encuentran gran cantidad de componentes[41].

2.5 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (X-RD)

La difracción de rayos X es el fenómeno físico a través del cual se manifiesta la interacción fundamental de los rayos X con la materia ordenada. Al igual que otros tipos de radiación electromagnética, la interacción entre el vector eléctrico de la radiación X y los electrones de la materia que atraviesa da lugar a una dispersión. Cuando los rayos X son dispersados por el entorno ordenado de un cristal, tienen lugar interferencias entre los rayos dispersados, ya que las distancias entre los centros de dispersión son del mismo orden de magnitud que la longitud de onda de la radiación; el resultado que se tiene entonces es la difracción[42].

Un difractómetro, (**Figura 1**) es un instrumento de precisión con dos ejes de rotación independientes; estos ejes son llamados ω y 2θ . Mediante este instrumento, se puede obtener los datos de intensidad de los rayos X difractados en función del ángulo, de modo que se satisfaga la ley de Bragg bajo las condiciones de rayos X a una longitud de onda conocida. La ley de Bragg establece que cuando un haz de rayos X interactúa con la superficie de un cristal formando cierto ángulo θ , parte del haz se dispersa por la capa de átomos de la superficie del material. El restante del haz pasa a la segunda capa de átomos donde una fracción es dispersada nuevamente y la que queda pasa a la tercera capa[43].

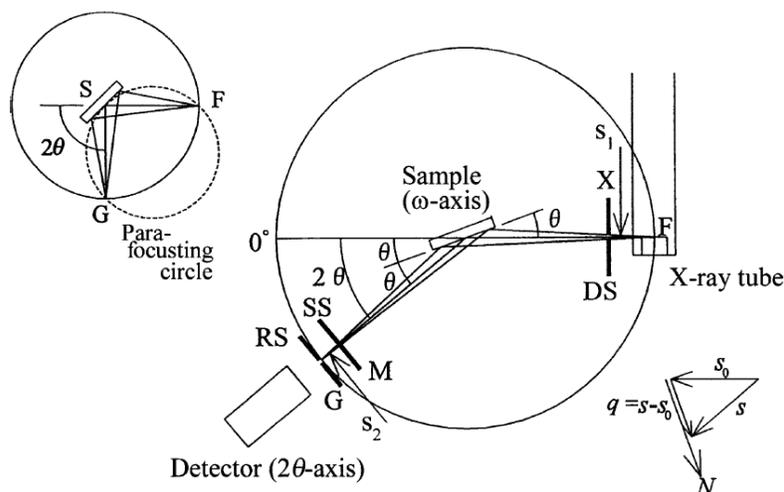


Figura 1. Esquema y puntos esenciales de un difractómetro de rayos X. (F) fuente de rayos X, (S) soporte de muestra y (G) es el detector. Fuente: WASEDA, Yoshio., SHINODA, Kozo. and MATSUBARA, Eiichiro. X-Ray Diffraction Crystallography. Berlín: Springer-Verlag Heidelberg, 2011. 108 p. ISBN 978-3-642-16634-1.

2.6 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido, DSC, es una técnica de análisis térmico que permite la caracterización cuantitativa del calor asociado a un proceso, como en el caso de la fusión. La fusión representa una fase de transición primaria en los materiales cristalinos debido a la absorción de energía térmica, para materiales poliméricos que normalmente se funden en un intervalo de temperatura. Esta técnica permite la determinación de la gama de temperaturas durante la cual se produce la fusión, así como la cantidad de energía asociada con la transición de fusión, es decir, el calor de la fusión[44]. En la **Figura 2** se muestra el esquema de una celda típica de un calorímetro DSC.

Las propiedades térmicas se definen como la respuesta de una sustancia ante un cambio de temperatura, y la calorimetría diferencial de barrido permite medir el cambio de calor asociado a esta respuesta, es por ello que esta técnica se ha empleado para determinar ciertas propiedades térmicas en diferentes trabajos como: la determinación de propiedades térmicas de las estructuras de carbón modificadas por gas inerte helio realizado por P. Starzewski y W. Zielenkiewicz[45], propiedades térmicas de polímeros reportadas por Bernhard Wunderlich y más precisamente en el análisis de ceras de *Apis mellifera* se encuentra el realizado por Buchwald y colaboradores quienes determinaron las propiedades térmicas referentes al proceso de fusión de las muestras de cera[46].

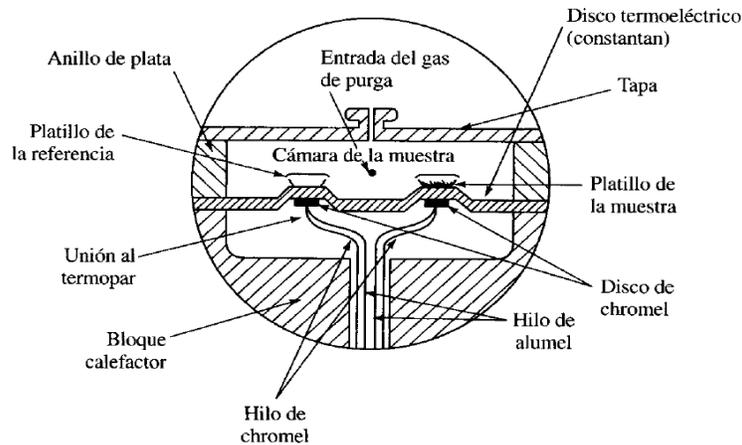


Figura 2. Esquema de una celda de un equipo de DSC. FUENTE: SKOOG, Douglas; HOLLER, James y NIEMÁN Timothy. (2001) Principios de Análisis Instrumental. Quinta ed. Mc Graw Hill – Madrid. 872 p. ISBN 84-481-2775-7.

2.7 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

En un análisis termogravimétrico se registra de manera continua, el cambio en la masa de una muestra en atmósfera controlada, o bien en función de la temperatura, o en función del tiempo. En el primer caso, (experimento dinámico) la temperatura de la muestra va aumentando de manera controlada (normalmente de forma lineal con el tiempo), y en el segundo (experimento isoterma), la temperatura se mantiene constante durante todo el experimento. La representación de la masa o del porcentaje de masa en función del tiempo o de la temperatura, se denomina termograma o curva de descomposición térmica. Los termogramas permiten analizar de manera cualitativa y cuantitativa el analito cuando ya se conoce el proceso de descomposición de este, permitiendo comparar las temperaturas a las cuales se da cada etapa del proceso y la masa que se pierde respectivamente; que debe ser equivalente estequiométricamente a la cantidad de analito presente en la muestra. En la **Figura 3** se muestra el esquema de una termobalanza.

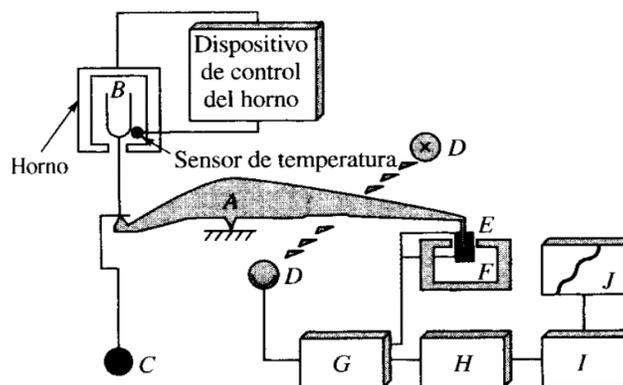


Figura 3. Esquema de una termobalanza. Dónde: A, brazo; B, copa y soporte de la muestra; C, contrapeso; D, lámpara y fotodiodos; E, bobina; F, imán; G, control del amplificador; H, calculador de la tara; I, registro. FUENTE: SKOOG, Douglas; HOLLER, James y NIEMÁN Timothy. (2001) Principios de Análisis Instrumental. Quinta ed. Mc Graw Hill – Madrid. 865 p. ISBN 84-481-2775-7.

2.8 ANÁLISIS INFRARROJO

Los espectros de absorción, emisión y reflexión en el infrarrojo, de especies moleculares, se pueden explicar asumiendo que todos son el resultado de los distintos cambios energéticos producidos en las transiciones de las moléculas de unos estados de energías vibracionales y rotacionales a otros.

La espectroscopia infrarroja se utiliza para analizar las características vibracionales de las moléculas, estructuras cristalinas y cristales, utilizando para ello diferentes tipos de muestra y diferentes instrumentaciones. Los espectros contienen numerosas bandas características en el intervalo del espectro infrarrojo; siendo éstas significativamente más estrechas en los espectros de los gases. Se pueden asociar bandas individuales con grupos funcionales específicos, tales como el grupo carbonilo o cloro orgánico. Al igual que en todas las espectroscopías, las energías a las cuales aparecen las bandas dependen de las propiedades de las moléculas, mientras que se pueden utilizar las magnitudes de las bandas individuales para determinar las concentraciones.

Los espectros son a menudo complicados, y rara vez se puede asignar cada banda de una molécula a grupos específicos. Únicamente en las moléculas más simples se pueden asignar todas las bandas con movimientos atómicos específicos. Sin embargo, un conocimiento incompleto de los espectros no disminuye su utilidad para realizar análisis cuantitativos y cualitativos[47]. En la **Figura 4** se muestra el esquema de un espectrofotómetro infrarrojo.

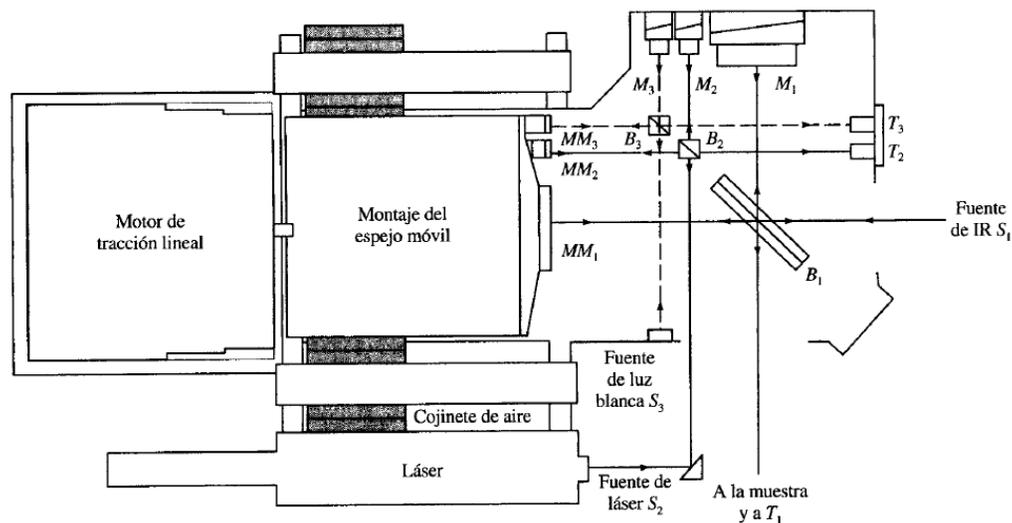


Figura 4. Esquema de un espectrofotómetro de infrarrojo. FUENTE: SKOOG, Douglas; HOLLER, James y NIEMÁN Timothy. (2001) Principios de Análisis Instrumental. Quinta ed. Mc Graw Hill – Madrid. 424 p. ISBN 84-481-2775-7.

3. METODOLOGÍA

3.1 MUESTREO

Las muestras fueron recolectadas en el departamento de Norte de Santander, Colombia, directamente de nidos de abejas que habitan a una altura entre 300 y 2.400 msnm. Los sitios de muestreo se muestran en la **Tabla 1**. Se tomaron muestras de tres partes diferentes del nido: involucro, celdas de alimento y celdas de cría (**Figura 5**) de: *Melipona compressipes*, *Melipona fuscipes*, *Melipona favosa favosa*, *Trigona (Tetragonisca) angustula*, *Trigona Tetragonisca (Frieseomelitta) Nigra paupera*, *Bombus atratus*, *Nanotrigona* sp. y una muestra de *Apis mellifera* (africanizada) como material de referencia. Las ceras fueron empacadas en bolsas Ziploc® y almacenadas a una temperatura de -18 °C hasta su análisis.

Tabla 1. Lugares de muestreo.

Lugar	Carmen de Tonchalá	Los Patios	Pamplonita	Pamplona
	<i>Melipona favosa favosa</i>	<i>Melipona compressipes</i>	<i>Melipona fuscipes</i>	<i>Bombus atratus</i>
Muestra	<i>Trigona Tetragonisca (Frieseomelitta) Nigra paupera</i> , <i>Apis mellifera</i> (africanizada)	<i>Trigona (Tetragonisca) angustula</i> ,	<i>Nanotrigona</i> sp.	

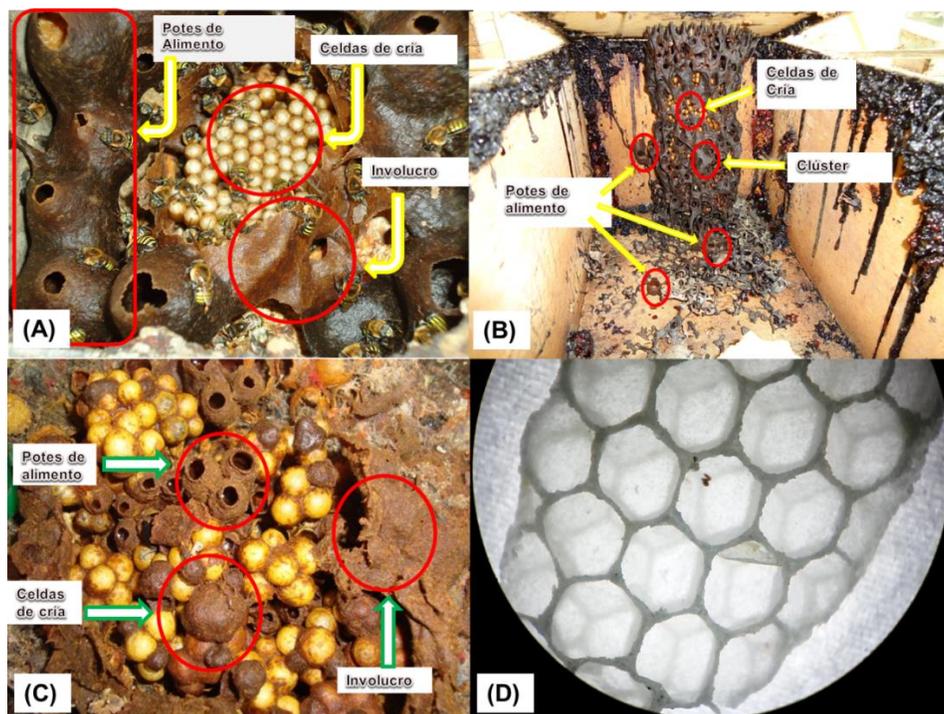


Figura 5. (A) nido de *Melipona favosa favosa*, (B) nido de *Trigona (frieseomelitta) nigra paupera*, (C) nido de *Bombus atratus* y (D) panel de *Apis mellifera* (africanizada).

3.2 CARACTERIZACIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES ESPECTROMETRÍA DE MASAS

3.2.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

A 5 mg de la muestra de cera se le adicionó 5 mL de diclorometano y se sometió a sonicación durante 5 min, luego se extrajo 100 μL de esta solución y se evaporó el solvente mediante flujo de gas nitrógeno, seguidamente se le agregó 50 μL de BSTFA (*N,O*-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) con 1% de trimetilclorosilano para la derivatización de los ésteres y éteres presentes en la muestra; luego se sometió a calentamiento durante 30 min a 60 °C. Posteriormente se evaporó el exceso de reactivo y se agregó 50 mL de diclorometano.

3.2.2 ANÁLISIS GC-MS

Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases Trace 1310 acoplado a un detector selectivo de masas ISQ LT (ambos de Thermo Scientific) equipados con una columna no polar ZB-10 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm , Zebron, Phenomenex). Se inyectó 2 μL de la muestra (preparada según el procedimiento descrito anteriormente) en modo Split 1:30 a una temperatura del puerto de 250°C. El programa de temperatura en el horno de la columna fue de 70 °C durante 2 minutos, seguido por el aumento hasta 320 °C a una rampa de 20 °C/min; la temperatura final se mantuvo durante 15 min. Se utilizó helio como gas de arrastre a un flujo de 1,2 mL/min. Los compuestos fueron identificados basados en sus espectros de masa con sus idénticos en la biblioteca de la NIST y por comparación con estándares auténticos.

3.3 ANÁLISIS INFRARROJO

3.3.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Cada una de las muestras sin tratamiento previo, se mezclaron con KBr en una relación aproximada de 1 mg de muestra por cada 300 mg de KBr. La mezcla se pulverizó y homogeneizó simultáneamente en un mortero de ágata, posteriormente se prepararon pastillas de la mezcla utilizando una prensa manual.

3.3.2 OBTENCIÓN DE LOS ESPECTROS FT-IR

Se empleó un equipo FT-IR SHIMADZU Prestige-21, y se obtuvo el espectro tomando lectura en el intervalo de número de onda desde 400 a 4000 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y un total de 40 *scan*.

3.4 CARACTERIZACIÓN TÉRMICA DE LA CERA DE ABEJAS

3.4.1 ANÁLISIS TGA-DSC

Las muestras no tuvieron tratamiento previo, solamente un mezclado mecánico con ayuda de una micro espátula para homogeneizar la muestra, de tal manera que la fracción empleada en el análisis fuese representativa.

Los análisis se realizaron por triplicado en la mayoría de las muestras, se utilizó un analizador térmico TA Instruments SDT Q-600 en atmósfera de nitrógeno a un flujo de 100 mL/min, previo limpiamiento del horno con aire sintético y calibración de temperatura, señales TGA y DSC con zinc estándar, masas de referencia y zafiro respectivamente (se empleó una cápsula de alúmina como material de referencia para la señal DSC). Las muestras individuales de cera comprendidas entre 10 a 20 mg, se colocaron en cápsulas de alúmina y a excepción de las muestras pertenecientes a *Bombus atratus* que presenta pérdida de masa a menor temperatura que las demás muestras, se aplicó el siguiente programa de temperatura:

- Rampa de calentamiento, desde temperatura ambiente hasta 110 °C a 1 °C/min.
- Enfriamiento hasta 35 °C.
- Rampa de calentamiento, desde 35 °C hasta 110 °C a 2 °C/min
- Rampa de calentamiento, desde 110 °C hasta 510 °C a 10 °C/min.
- Rampa de calentamiento, desde 510 °C hasta 910 °C a 15 °C/min.

El programa de temperatura aplicado a las muestras pertenecientes a *Bombus atratus*, fue el siguiente:

- Rampa de calentamiento, desde temperatura ambiente hasta 65 °C a 1 °C/min.
- Enfriamiento hasta 28 °C.
- Rampa de calentamiento, desde 28 °C hasta 65 °C a 2 °C/min
- Rampa de calentamiento, desde 65 °C hasta 510 °C a 10 °C/min.
- Rampa de calentamiento, desde 510 °C hasta 910 °C a 15 °C/min.

3.4.2 DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS Y FUNCIONES TERMODINÁMICAS

3.4.2.1 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS CINÉTICO DE ARRHENIUS

Los parámetros cinéticos de Arrhenius, se determinaron mediante una expresión del modelo KAS que es de los más empleados en el análisis de la cinética de pirólisis[48]. Este modelo parte de la ecuación de Arrhenius (**Ecuación 1**):

$$K = Ae^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)}$$

Ecuación 1. Ecuación de Arrhenius.

Dónde: K , A , E_a , R y T es la constante de velocidad, el factor pre-exponencial, la energía de activación, la constante de los gases ideales y la temperatura absoluta respectivamente. De acuerdo con Shadangi y Mohanty, la ecuación 1 puede expresarse de la forma:

$$\frac{dX}{dt} = Ae^{-(E_a/RT)}f(X)$$

Ecuación 2. Ecuación de Arrhenius modificada por Shadangi y Mohanty.

Donde, X es la conversión, $\frac{dX}{dt}$ es la conversión con respecto al tiempo y $f(X)$ es la función en relación con la fracción de conversión. Considerando cierta cantidad de muestra W_o al inicio del proceso y cierta cantidad de muestra W_f al final del proceso, la conversión se puede calcular con la siguiente expresión:

$$X = \frac{W_o - W}{W_o - W_f}$$

Ecuación 3. Fracción de conversión.

Aquí, W_o es la masa de la muestra al inicio del proceso, W_f la masa de la muestra al final del proceso y W la masa de la muestra correspondiente a un tiempo t y temperatura T del proceso.

$f(X)$ depende del mecanismo de reacción de la pirólisis, para una reacción simple se puede escribir de la forma $f(X) = (1 - X)^n$, donde n es el orden de reacción. Durante el análisis, la velocidad de calentamiento puede expresarse como dT/dt y para este trabajo se denotó como V . Con lo anterior, y teniendo en cuenta que $\frac{dX}{dt} = \left(\frac{dX}{dT}\right)\left(\frac{dT}{dt}\right) = \left(\frac{dX}{dT}\right)V$, la ecuación 2 puede expresarse de la siguiente forma:

$$\frac{dX}{dT} = \frac{A}{V}e^{-(E_a/RT)}(1 - X)^n$$

Ecuación 4. Ecuación de Arrhenius modificada por Shadangi y Mohanty en función de la conversión.

Dado que la mayoría de procesos de pirolisis de biomasa son de primer orden[49], Al reordenar e integrar la ecuación 4 para $n = 1$, se obtiene:

$$-\ln(1 - X) = \left(\frac{AE_aT^2}{VR}\right)e^{-(E_a/RT)}$$

Ecuación 5. Ecuación de Arrhenius modificada por Shadangi y Mohanty en función de la conversión para $n=1$.

Al aplicar logaritmo natural a ambos lados de la ecuación 5 y reordenar términos se obtiene una función lineal de la forma $y = mx + b$.

$$\ln(-\ln(1 - X)) = \left(\frac{AE_aT^2}{VR}\right) - \frac{E_a}{RT}$$

Ecuación 6. Forma lineal de la ecuación de Arrhenius modificada por Shadangi y Mohanty para $n=1$.

La **Ecuación 6** se utilizó para determinar los parámetros cinéticos de Arrhenius al graficar $\ln(-\ln(1 - X))$ Vs T y realizando el ajuste con el programa OriginPro 2017 con el algoritmo de iteración Lavenberg Marquardt, a un total de 400 iteraciones y una tolerancia de 1×10^{-9} .

3.4.2.2 DETERMINACIÓN DE LAS FUNCIONES TERMODINÁMICAS

Para calcular el cambio de entalpía ($\Delta_{Rxn}H$) del proceso de pirólisis se empleó la siguiente ecuación:

$$\Delta_{Rxn}H = E_a - RT_s$$

Ecuación 7. Cálculo del cambio de entalpía del proceso de pirólisis a partir de la energía de activación y la temperatura de inflexión del proceso.

E_a es la energía de activación, R es la constante de los gases y T_s es la temperatura de inflexión del proceso de pirólisis.

El valor del cambio de entropía ($\Delta_{Rxn}S$) del proceso de pirólisis se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta_{Rxn}S = R \ln \left(\frac{Ah}{K_B T_s} \right)$$

Ecuación 8. Cálculo del cambio de entropía en el proceso de pirólisis a partir del factor de frecuencia y la temperatura de inflexión de este proceso.

R es la constante de los gases ideales, A es el factor de frecuencia del proceso de pirólisis, h es la constante de Planck, K_B es la constante de Boltzmann y T_s es la temperatura de inflexión del proceso de pirólisis.

Teniendo los valores del cambio de entalpía y cambio de entropía, el valor del cambio en la energía libre de Gibbs ($\Delta_{Rxn}G$) para el proceso de pirólisis se calculó de la siguiente manera:

$$\Delta_{Rxn}G = \Delta_{Rxn}H - T_s \Delta_{Rxn}S$$

Ecuación 9. Cálculo del cambio en la energía libre de Gibbs para el proceso de pirólisis.

Las ecuaciones 7, 8 y 9 han sido bien aplicadas para calcular los valores del cambio de las funciones termodinámicas en el proceso de pirólisis[50].

3.4.3 DETERMINACIÓN DE ENTALPÍA DE COMBUSTIÓN

Los análisis se realizaron por triplicado, en atmósfera de oxígeno a una presión de 2,5 MPa, a temperatura ambiente en un microcalorímetro Phillipson modificado (**Figura 6 A**). La ignición se realizó mediante descarga eléctrica de un capacitor de 5000 μ F con un fusible de alambre de níquel de 0,1 mm de diámetro. La cantidad de muestra utilizada fue entre 10 y 15 mg, las cuales se depositaron en cápsulas de gelatina con una masa de entre 10 a 16 mg.

Para la deducción del calor de combustión, se empleó el método de Challoner[51], en este se realiza una extrapolación del termograma del proceso, al graficar temperatura vs tiempo o voltaje vs tiempo. Este método consiste en igualar las áreas pre y post ignición y la altura de la línea entre el máximo y mínimo de las áreas (Δh) se toma como la variación de temperatura (ΔT) o voltaje (ΔV) según sea el caso, que, al multiplicarlo por el factor de calibración de la bomba, se obtiene el calor de combustión del ensayo respectivo, para este caso como se muestra en la Figura 6 B; se graficó voltaje vs tiempo.

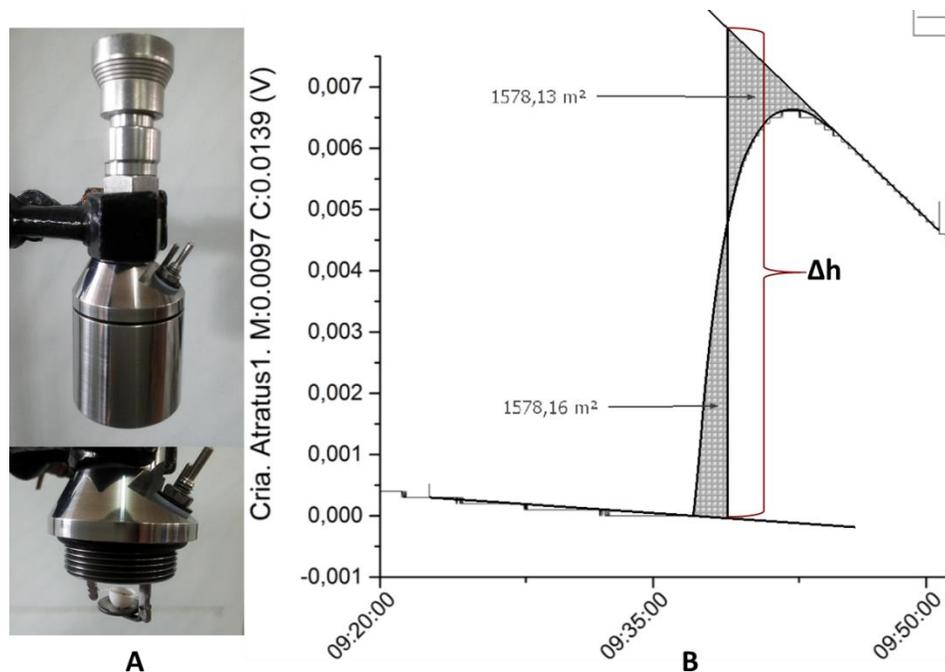


Figura 6. A) bomba de combustión (microcalorímetro) Phillipson. B) extrapolación del termograma de combustión por el método Challoner.

El calor de combustión total en una prueba (Q_{total}), es determinado por la siguiente expresión:

$$Q_{total} = F * \Delta h$$

Ecuación 10. Calor total del proceso de combustión.

Dónde: F es el factor de calibración dado en J/V y Δh es la variación de voltaje debido a la respuesta del sensor de temperatura (Celda Peltier). Por ende, el calor de combustión de la muestra (Q_m) se determina de la siguiente manera:

$$Q_m = \left(\frac{Q_{total} - \frac{Q_{cap}}{m_{cap}}}{m_m} \right)$$

Ecuación 11. Calor de combustión de la muestra.

Dónde: m_m es la masa de la muestra, Q_{cap} y m_{cap} es el calor de combustión y masa de la cápsula respectivamente.

La calibración se realizó empleando ácido benzoico como referencia del calor de combustión (26,435 KJ/g)[52]. Se utilizó cantidades de ácido benzoico de entre 10 y 15 mg en cápsulas de gelatina con las especificaciones mencionadas anteriormente, realizando un total de seis ensayos. El factor de calibración de la bomba de combustión y el calor de combustión de la cápsula de gelatina se determinaron simultáneamente mediante sistemas de ecuaciones. El valor obtenido de F es 54,65 kJ/V y de Q_{cap} 16,97 kJ/g.

3.5 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE CRISTALINIDAD

En la determinación del porcentaje de cristalinidad se empleó un difractómetro de rayos X Bruker D8 Advance. Se utilizó alrededor de 0,5 g de muestra y la variación del ángulo 2θ fue de 2,5 a 70°.

El porcentaje de cristalinidad se calculó acorde al método empleado por Yves Gaillard y colaboradores[34], el cual utiliza la siguiente relación:

$$\%cristalinidad = \left(\frac{\sum_{cristalina} A}{\sum_{cristalina} A + \sum_{amorfa} A} \right) * 100$$

Ecuación 12. Porcentaje de cristalinidad.

Donde: $\sum_{cristalina} A$ corresponde a la suma de las áreas de los picos en la parte cristalina y $\sum_{amorfa} A$ corresponde a la suma de las áreas de los picos en la parte amorfa.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.6.1 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES DE LOS ESPECTROS IR

Se realizó Análisis de Componentes Principales a los espectros infrarrojo utilizando el paquete estadístico del programa Originpro 2017 versión evaluación se empleó el método de covarianza de matriz y un total de dos componentes principales.

3.6.2 ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA

Se realizó análisis de varianza ANOVA de un factor a los datos obtenidos del proceso de pirólisis, del calor específico de la temperatura de fusión y del calor de fusión al proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento a todas las muestras, al tipo de muestra (alimento, cría e involucro) y a las muestras de cada especie independientemente. Para ello se utilizó el paquete estadístico del programa Originpro 2017 versión evaluación, el análisis ANOVA se realizó a un nivel de significancia de 0,05, test de igual varianza de valor absoluto de Levene y test *post-hoc* de Bonferroni.

3.6.3 ANÁLISIS CLÚSTER

Se realizó un clúster jerárquico con todos los datos colectados, de los análisis térmicos entre los que se encuentran la temperatura y entalpía de los procesos de fusión, pirólisis (incluye los parámetros cinéticos) y calor específico, etc. Los datos de composición y cristalinidad no se incluyeron debido a la cantidad insuficiente de algunas muestras (*Bombus atratus*) para realizar todos los análisis. Para la elaboración del clúster se utilizó el paquete estadístico del programa Originpro 2017 versión evaluación. El gráfico del clúster se realizó por observaciones, empleando el método del vecino más cercano y distancia Euclidiana.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 ANÁLISIS GC-MS

Para el análisis GC-MS, de cada una de las muestras de cera de las diferentes especies, se muestra el cromatograma en el que se evidencian los tiempos de retención de los compuestos detectados, seguido de una tabla en la que se exponen estos compuestos según el orden consecutivo del tiempo de retención del cromatograma; y finalmente, una tabla que resume la composición de las muestras de la especie de acuerdo con el tipo de compuesto (función química). El peso molecular promedio para cada muestra se calculó haciendo la sumatoria del producto entre el peso molecular de cada compuesto y su fracción.

La composición de la cera de *Apis mellifera* (africanizada) consiste mayoritariamente de hidrocarburos alifáticos saturados, en los que se destacan: heptacosano, pentacosano, nanocosano, tricosano y hentriacontano con proporciones del 32,56%, 32,03%, 9,23%, 7,69% y 6,39 % respectivamente. Estos cinco compuestos representan el 87,9% del total de los 23 componentes detectados para esta cera (**Tabla 2**). Resaltando que el 64,59% de los componentes corresponde a heptacosano y pentacosano, por lo que es de esperar que las propiedades de esta muestra (cera) estén determinadas en gran medida por las de estos dos compuestos; de hecho, el peso molecular promedio para esta muestra es de 382,12 g/mol, valor que es cercano al del peso molecular del heptacosano (382 g/mol).

Los compuestos más livianos detectados en la muestra de cera de *Apis mellifera* (africanizada) son el ácido hexadecanoico y nonadecano. El primero es un ácido graso común en la mayoría de grasas[53], aceites[54], resinas[55], propóleo[56], cera vegetal y animal[57]; por lo que, es de esperarse que se encuentre presente en todas las ceras analizadas. El nonadecano, es un hidrocarburo acíclico con un peso molecular de 268 g/mol, que, de acuerdo con el método empleado, se encontró únicamente en la muestra de *Apis mellifera* (africanizada). Además del ácido hexadecanoico, también se detectó ácido tetracosanoico con un porcentaje de 0,65%; y se encuentra únicamente en la muestra de *Apis mellifera* (africanizada). En cuanto a ésteres se encontraron: octadecenoato de tetradecilo, oleato de icosilo y hexadecanoato de tetracosilo, estos Ésteres se hallaron únicamente en la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) (**Figura 7**).

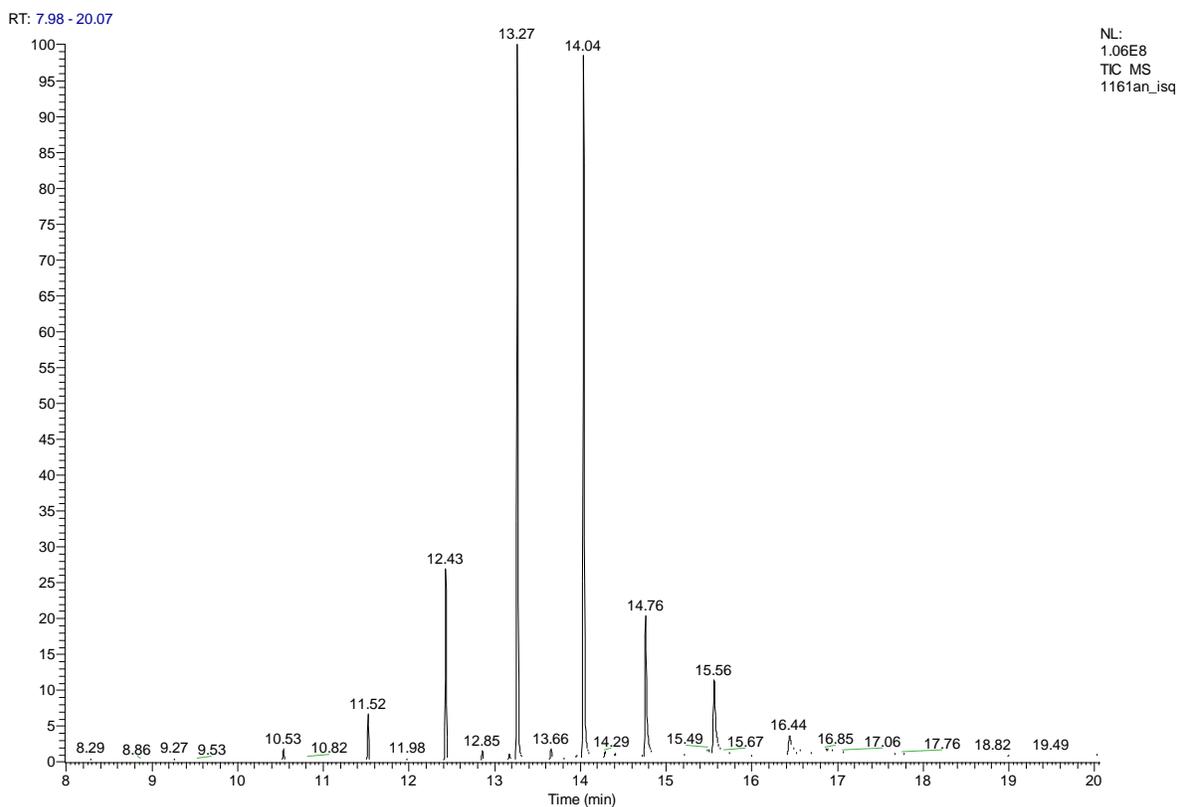


Figura 7. Cromatograma GC-MS de la cera de *Apis mellifera* (africanizada)

Tabla 2. Composición de la cera de *Apis mellifera* (africanizada).

Peso molecular	Compuesto	Tipo de compuesto	# de C	Porcentaje (%)
268	Nonadecano	Hidrocarburo	19	0,41
256	Ácido hexadecanoico	Ácido	16	0,19
296	Heneicosano	Hidrocarburo	21	1,78
310	Docosano	Hidrocarburo	22	0,04
324	Tricosano	Hidrocarburo	23	7,69
338	Ácido tetracosanoico	Ácido	24	0,38
350	Pentacoseno	Hidrocarburo	25	0,19
352	Pentacosano	Hidrocarburo	25	32,03
366	Hexacosano	Hidrocarburo	26	0,47
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	0,08
380	Heptacosano	Hidrocarburo	27	32,56
368	Ácido tetracosanoico	Ácido	24	0,27
394	Octacoseno	Hidrocarburo	28	0,13
406	Nonacoseno	Hidrocarburo	29	0,05
408	Nonacosano	Hidrocarburo	29	9,23
422	Tricontano	Hidrocarburo	30	0,08
434	Hentriaconteno	Hidrocarburo	31	0,48
436	Hentriacontano	Hidrocarburo	31	6,39

462	Tritriaconteno	Hidrocarburo	33	2,27
464	Tritriacontano	Hidrocarburo	33	0,27
478	Octadecenoato de tetradecilo	Éster	32	0,33
562	Oleate de icosilo	Éster	38	2,95
592	Hexadecanoato de tetracosilo	Éster	40	1,73

En relación con la **Tabla 3**, la cera de *Apis mellifera* (africanizada) está conformada en un 0,84% de ácidos, 94,15% de hidrocarburos y 5,01% de ésteres. De los ácidos, el 58,7% contiene entre 20 a 25 átomos de carbono (ácido tetracosanoico) y el restante, entre 15 a 20 átomos de carbono (ácido hexadecanoico). En los hidrocarburos, se destaca que el 79,06% contiene entre 25 a 30 átomos de carbono; 10,11% entre 20 a 25 átomos de carbono; 10,08% entre 30 a 35 átomos de carbono y 0,44% entre 15 a 20 átomos de carbono. En los ésteres, el octadecenoato de tetradecilo representa el 6,63% (30-35 átomos de Carbono), el Oleato de Icosilo el 58,84% (35-40 átomos de Carbono) y el hexadecanoato de tetracosilo el 34,53% (40-45 átomos de Carbono); estos, son hormonas empleadas por diferente clase de insectos y en el caso del octadecenoato de tetradecilo, se encuentra que es usado por las abejas para su comunicación[58].

Tabla 3. Resumen de la composición de cera de *Apis mellifera* (africanizada)

Tipo de compuesto/# C	Porcentaje (%)
Ácidos	0,84
15-20	0,19
20-25	0,65
Ésteres	5,01
30-35	0,33
35-40	2,95
40-45	1,73
Hidrocarburos	94,15
15-20	0,41
20-25	9,52
25-30	74,73
30-35	9,49

En la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) no se detectó la presencia de alcoholes, aldehídos y terpenos; compuestos que han sido reportados en este tipo de muestras por R. Buchwald y colaboradores[18], M. Maia y F. Nunes[14], A. Tulloch[23], R. Ailchhoz y E. Lorbeer[27][28], G. Blomquist y colaboradores[31], I. Bonaduce y M. Colombini[55], J. Bonvehi y F. Bermejo[59], M. Rogert y colaboradores[60], J. Jimenez y colaboradores[61][62], entre otros. Lo anterior puede deberse a que la muestra que se analizó es una muestra de cera “virgen” proveniente del inicio de la construcción del nido por parte de un enjambre de abejas, por lo que es posible que esta muestra esté conformada únicamente

por la cera secretada por las abejas sin combinación con otras sustancias (resinas, propóleo, etc.) con las que las abejas la suelen mezclar, al que, de manera convencional, también se le conoce como cera de abejas. Este último es el que se encuentra mayoritariamente en las colmenas desarrolladas y es el que se comercializa como cera de abejas.

En el trabajo realizado por M. Maia y F. Nunes[14], se reporta el análisis de muestras de ceras comerciales y “virgen”; no obstante, en la metodología aclaran que la muestra de cera que ellos analizaron como “virgen”, la tomaron directamente de una colmena con colaboración de un apicultor; no hacen énfasis en que sea cera secretada por las abejas cuando se emjambran. Los resultados de la presente investigación concuerdan con el trabajo “Synthesis and secretion of beeswax in honeybees” realizado por H. Hepburn y colaboradores[10] en el cual analizaron la cera secretada (extraída de las glándulas ceríferas) por las abejas de *Apis mellifera capensis*. Las similitudes se encuentran en la proporción de hidrocarburos en los que predominan los conformados por C25 y C27, disminución de la proporción de hidrocarburos de C33 y la baja proporción de ácidos grasos. Estas similitudes confirman que la cera de *Apis mellifera* (africanizada) analizada consiste en cera secretada por las abejas sin adición de otras sustancias.

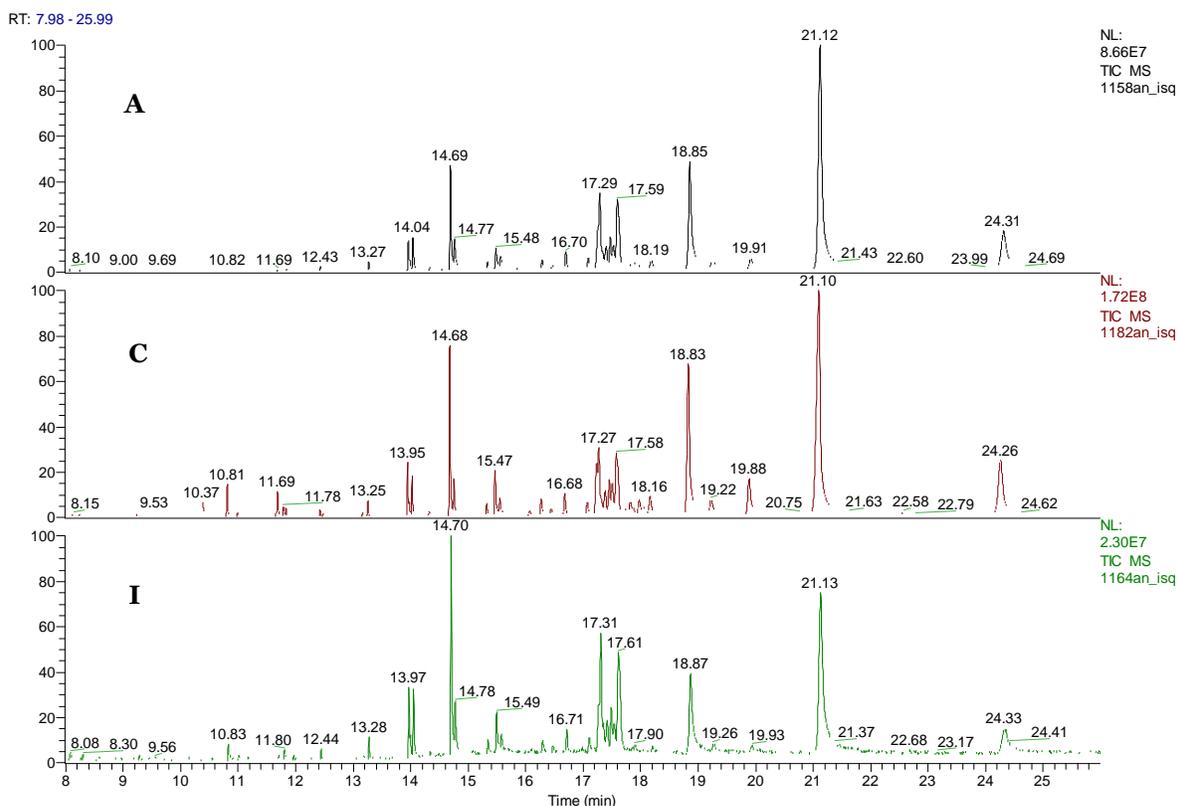


Figura 8. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de *Melipona compressipes*. Alimento, cría e involucro respectivamente.

La

Figura 8. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de *Melipona compressipes*. Alimento, cría e involucro respectivamente.

exhibe los cromatogramas para las muestras de cera de *Melipona compressipes*. En estos, se observa la presencia de tres compuestos mayoritarios que eluyen a 21,12, 14,7 y 18,87 min; estos corresponden a acetato de tetratriacontilo, nonacoseno y acetato de dotriacontilo. Como puede evidenciarse en la Tabla 4, el compuesto mayoritario en estas muestras es el acetato de tetratriacontilo seguido de nonacoseno y acetato de dotriacontilo con fracciones de 33,69%, 6,20% y 13,53% respectivamente, para la muestra de alimento. De igual manera, en la muestra de cría presentan fracciones de 28,30%, 6,56% y 14,17% correspondientemente; y del mismo modo, en la muestra de involucro presentan fracciones de 24,33%, 11,66 y 10,15 respectivamente. Estos compuestos en conjunto, corresponden en la muestra de alimento al 53,42% del total; en la de cría al 49,03% y en la de involucro al 46,14%.

La muestra de cera utilizada para el almacenamiento del alimento en cuanto a grupos funcionales está conformada de manera general (**Tabla 5**) por ésteres (57,71%), compuestos no identificados (18,08%), hidrocarburos (16,63%), terpenos (2,85%), esterol (1,99%), alcoholes (1,31%), aldehídos (1,11%), alcaloides (0,14%) y una fracción muy pequeña de ácidos (0,08%). La muestra de cera utilizada para la construcción de las celdas de cría está compuesta por ésteres (54,97%), hidrocarburos (17,87%), compuestos no identificados (12,32%), alcoholes (3,85%), terpenos (3,16%), ácidos (2,59%), esteroides (1,79%), azúcares (1,61%), aldehídos (1,50%) y alcaloides (0,34%). La muestra de cera utilizada para la construcción del involucro está conformada por: de ésteres (38,92%), hidrocarburos (27,04%), compuestos no identificados (24,82%), terpenos (3,23%), esteroides (2,63%), aldehídos (1,20%), ácidos (0,97%), alcaloides (0,63%) y alcoholes (0,57%).

Tabla 4. Composición de la cera de *Melipona compressipes*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Peso molecular	Compuesto	Tipo	# de C	A (%)	C (%)	I (%)
138	Tirosol	Alcohol	8	0,08	0,04	0,22
165	Hordenina	Alcaloide	10	0,14	0,34	0,63
186	Mannitol	Azúcar	6	0,00	1,61	0,00
256	Ácido hexadecanoico	Ácido	16	0,02	1,09	0,60
284	Hexadecanoato de etilo	Éster	17	0,02	0,10	0,06
282	Ácido octadecenoico	Ácido	18	0,06	1,12	0,06
284	Ácido octadecanoico	Ácido	18	0,00	0,38	0,31
310	Octadecenoato de tilo	Éster	19	0,04	0,25	0,01
312	Octadecanoate de etilo	Éster	19	0,00	0,02	0,05
324	Tricosano	Hidrocarburo	23	0,17	0,19	0,29
350	Pentacoseno	Hidrocarburo	25	0,04	0,09	0,05
352	Pentacosano	Hidrocarburo	25	0,41	0,52	0,82
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	1,33	1,82	3,02
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	0,68	0,52	0,93
380	Heptacosano	Hidrocarburo	27	1,91	1,52	3,03
394	Octacosano	Hidrocarburo	28	0,08	0,15	0,12
406	Nonacoseno	Hidrocarburo	29	6,20	6,56	11,66
408	Nonacosano	Hidrocarburo	29	2,12	1,54	3,14

408	Octacosanal	Aldehído	28	0,42	0,55	0,49
434	Hentriaconteno	Hidrocarburo	31	1,58	2,24	2,31
436	Hentricontano	Hidrocarburo	31	1,00	1,03	1,11
436	Triacontanal	Aldehído	30	0,69	0,96	0,71
462	Tritriaconeno	Hidrocarburo	33	0,12	0,35	0,22
426	Lanosterol	Terpeno	30	1,17	1,16	1,26
426	Amirina	Terpeno	30	0,79	0,72	0,85
478	Acetato de triacontilo	Éster	32	2,75	3,09	2,63
426	Amirina	Terpeno	30	6,93	4,54	9,50
424	Olean-12-en-3-ona	Terpeno	30	1,59	1,05	1,58
426	Coicloartenol	Esterol	30	1,99	1,79	2,63
426	Lanosterol	Terpeno	30	1,78	2,01	1,97
426	Amirina	Terpeno	30	8,77	6,01	12,88
468	Acetato de lupeol	Éster	32	0,69	1,48	0,14
508	Acetato de dotriacontilo	Éster	34	13,53	14,17	10,15
492	Tetratriacontanal	Hidrocarburo	34	1,00	1,35	0,33
494	Tetratriacontan-1-ol	Alcohol	34	1,23	3,82	0,35
536	Acetato de tetratriacontilo	Éster	36	33,69	28,30	24,33
564	Acetato de hexatriacontilo	Éster	38	6,98	7,56	1,55

Es importante resaltar que de la muestra de alimento de *Melipona compressipes* el 45,61% contiene entre 30 a 35 átomos de carbono, 40,67% entre 35 a 40 átomos de carbono, 13,19% entre 25 a 30 átomos de carbono 0,30% entre 20 a 25 átomos de carbono 0,14% entre 10 a 15 átomos de carbono 0,081% entre 5 a 10 átomos de carbono y una fracción del 0,017% entre 15 a 20 átomos de carbono. Las dos primeras proporciones corresponden principalmente a ésteres grasos. Estas proporciones de la muestra de alimento son similares en la muestra de cría, la diferencia más notoria se presenta en que disminuye en 4,81 unidades para un número de carbonos comprendidos entre C35 a C40.

Tabla 5. Resumen de la composición de la cera de *Melipona Compressipes*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Tipo de compuesto/#C	A (%)	C (%)	I (%)
Ácidos	0,08	2,59	0,97
15-20	0,02	1,09	0,60
20-25	0,06	1,50	0,37
Alcaloides	0,14	0,34	0,63
10-15	0,14	0,34	0,63
Alcoholes	1,31	3,85	0,57
30-35	1,23	3,82	0,35
5-10	0,08	0,04	0,22
Aldehídos	2,11	2,85	1,53
25-30	0,42	0,55	0,49

30-35	1,68	2,31	1,04
Azúcares	0,00	1,61	0,00
5-10	0,00	1,61	0,00
Ésteres	57,71	54,97	38,92
20-25	0,06	0,37	0,13
30-35	16,97	18,74	12,92
35-40	40,67	35,86	25,88
Hidrocarburos	15,64	16,52	26,70
20-25	0,17	0,19	0,29
25-30	12,77	12,72	22,77
30-35	2,70	3,61	3,64
Terpenos	23,02	17,27	30,67
30-35	23,02	17,27	30,67

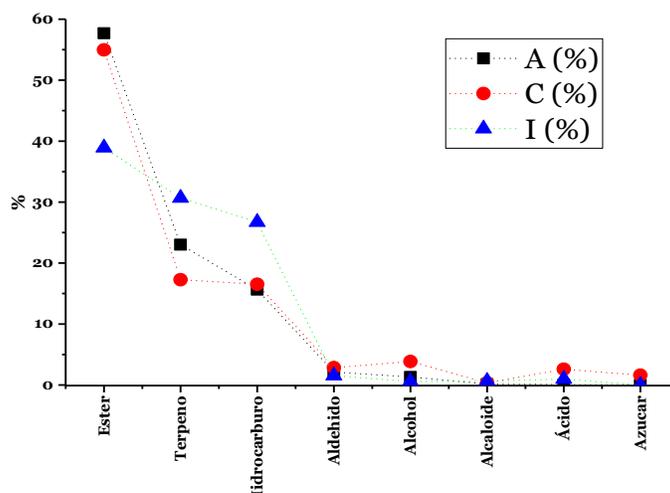


Figura 9. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de *Melipona compressipes*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro

Con las proporciones generales presentadas anteriormente y como puede apreciarse en la **Figura 9**, las muestras de *Melipona compressipes* presentan composición similar en cuanto a las fracciones de aldehídos, alcoholes, alcaloides (hordenina) y ácidos; y las fracciones de hidrocarburos, terpenos y ésteres cambia notoriamente, haciéndose más evidente en la muestra de involucro con respecto a las de alimento y cría. La variación más notable en la composición de la muestra de alimento con respecto a las otras dos es que esta es la única que contiene manitol, adicionalmente, la fracción de hidrocarburos y terpenos es mayor y disminuye la de los ésteres.

Al igual que en el tipo de compuestos, en cuanto al número de carbonos la muestra de involucro es la que difiere notablemente de las otras debido a que aumenta en aproximadamente 3 unidades la fracción de compuestos comprendidos entre 30 a 35 átomos de carbono, disminuye en aproximadamente 10 unidades la fracción de compuestos comprendidos entre 35 a 40 átomos de carbono y aumenta en aproximadamente 10 unidades la fracción de los compuestos comprendidos entre 25 a 30 átomos de carbono.

Adicionalmente, en las muestras de *Melipona compressipes* cabe resaltar que de los hidrocarburos en la muestra de alimento el 63,59% son insaturados y el 36,41% son saturados, en la muestra de cría el 70,03% son insaturados y el 29,97% son saturados; en la muestra de involucro el 68,11% son insaturados y los restantes son saturados. De manera análoga, las diferencias entre la muestra de involucro con respecto a las muestras de alimento y cría también se reflejan en el peso molecular así: 454,27 g/mol (involucro), 482,45 g/mol (alimento) y 471,87 g/mol (cría), dando un peso molecular promedio de la cera de *Melipona compressipes* de $469,53 \pm 14,23$ g/mol. En consecuencia, puede esperarse que las propiedades y/o comportamiento de la muestra de involucro sean diferentes a las de alimento y cría.

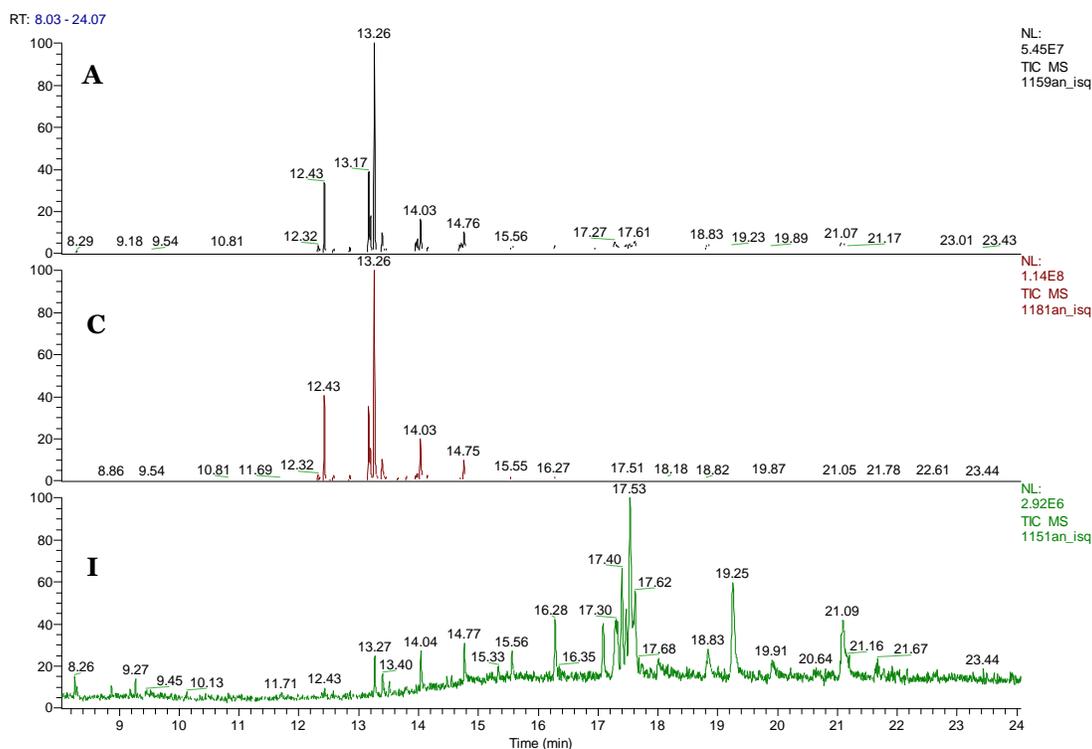


Figura 10. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de *Melipona favosa favosa*. Alimento, cría e involucro respectivamente.

En la **Figura 10**, se muestran los cromatogramas de las ceras de *M. favosa* en los cuales se observan diferencias en cuanto a la composición de la cera de involucro con respecto de la de cría y alimento. Adicionalmente el componente mayoritario presente en la muestra de involucro es el dotriacontano, que se encuentra en baja proporción en las otras dos muestras.

Tabla 6. Composición de la cera de *Melipona favosa favosa*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Peso molecular	Compuesto	Tipo	# de C	A (%)	C (%)	I (%)
256	Ácido hexadecanoico	Ácido	16	0,12	0,20	0,71
282	Ácido octadecenoico	Ácido	18	0,07	0,24	0,00
310	9-octadecenoato de etilo	Éster	20	0,00	0,20	0,00
310	Docosano	Hidrocarburo	22	0,07	0,05	0,44
322	Tricoseno	Hidrocarburo	23	0,74	0,87	0,00
322	Tricoseno	Hidrocarburo	23	0,29	0,44	0,00
324	Tricosano	Hidrocarburo	23	9,91	13,58	0,43
329*	Hidrocarburos ramificados	Hidrocarburo			1,06	0,00
338	Tetracosano	Hidrocarburo	24	0,64	0,72	0,00
350	Pentacoseno	Hidrocarburo	25	12,35	11,97	0,00
350	Pentacoseno	Hidrocarburo	25	5,53	5,97	0,00
352	Pentacosano	Hidrocarburo	25	31,70	36,56	1,85
357*	Hidrocarburos ramificados	Hidrocarburo		0,00	5,14	0,94
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	1,32	0,76	0,00
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	2,25	1,40	0,00
380	Heptacosano	Hidrocarburo	28	5,80	9,33	1,75
385*	Hidrocarburos ramificados	Hidrocarburo		0,00	1,03	0,00
406	Nonacoseno	Hidrocarburo	29	0,92	0,15	0,00
406	Nonacoseno	Hidrocarburo	29	1,32	0,51	0,00
408	Nonacosano	Hidrocarburo	29	3,95	4,80	2,54
412*	Hidrocarburos ramificados	Hidrocarburo		0,00	0,69	0,00
408	octacosanal	Aldehído	28	0,16	0,17	0,24
436	Hentriacontano	Hidrocarburo	31	0,97	0,97	1,01
436	Triacontanal	Aldehído	30	0,47	0,49	4,31
426	Amirina	Otro	30	0,26	0,21	4,76
426	Amirina	Otro	30	3,11	0,41	9,66
424	Olean-12-en-3-ona	Otro	30	0,78	0,36	9,78
426	Cicloartenol	Terpeno	30	0,80	0,10	4,17
464	Dotriacontanal	Aldehído	32	1,19	0,56	20,05
426	Amirin	Otro	30	2,84	0,56	11,73
508	Acetato de dotriacontilo	Éster	34	2,23	0,12	1,35
492	Tetratriacontanal	Aldehído	34	0,64	0,10	16,25

* Valor calculado mediante interpolación de los hidrocarburos ramificados que no fueron identificados con la base de datos del equipo.

536	Acetato de tetratriacontilo	Éster	35	4,00	0,26	8,04
------------	-----------------------------	-------	----	------	------	------

Tabla 7. Resumen de la composición de la cera de *Melipona favosa favosa*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Tipo de compuesto/# C	A (%)	C (%)	I (%)
Ácidos	0,19	0,44	0,71
15-20	0,12	0,20	0,71
20-25	0,07	0,24	0,00
Aldehídos	2,45	1,33	40,85
25-30	0,16	0,17	0,24
30-35	2,29	1,16	40,61
Ésteres	6,23	0,57	9,39
15-20	0,00	0,20	0,00
30-35	2,23	0,12	1,35
35-40	4,00	0,26	8,04
Hidrocarburos	83,33	96,01	8,95
20-25	11,65	15,66	0,87
25-30	65,14	71,45	6,14
30-35	0,97	0,97	1,01
(en blanco)	5,57	7,93	0,94
Terpenos	7,80	1,65	40,10
30-35	7,80	1,65	40,10

De acuerdo con la

Tabla 7, La composición de la muestra de alimento consiste principalmente de hidrocarburos (83,33%), terpenos (7,80%) y ésteres (6,23%). La muestra de cría tiene el mayor contenido de hidrocarburos (96,01%) y por lo tanto menor cantidad de los demás compuestos. En términos generales, la composición de estas dos muestras puede considerarse similar ya que tienen los mismos tipos de compuestos en fracciones similares. En la muestra de involucro se detectó la amirina como componente mayoritario; compuesto que tiene aplicaciones como analgésico y antipirético[63], adicionalmente, contiene 8,95% de hidrocarburos, 40,85% de aldehídos, 40,10% de terpenos y 9,39% de ésteres. En la muestra de alimento el 70,34% de los hidrocarburos son saturados y 29,66% insaturados, en la muestra de cría el 77,01% son saturados y el 22,99% insaturados, para la muestra de involucro todos los hidrocarburos son saturados.

El número de carbonos de los compuestos que constituyen cada una de las muestras, son similares en las muestras de alimento y cría. La muestra de involucro es la que difiere notablemente de las otras debido a que aumenta en un factor de cerca de 4 unidades la fracción de compuestos comprendidos entre 30 a 35 átomos de carbono, disminuye en un factor de 7 la fracción de compuestos comprendidos entre 35 a 40 átomos de carbono y disminuye en 10 unidades de la fracción de los compuestos comprendidos entre 25 a 30 átomos de carbono, estas variaciones con respecto a la muestra de alimento y cría.

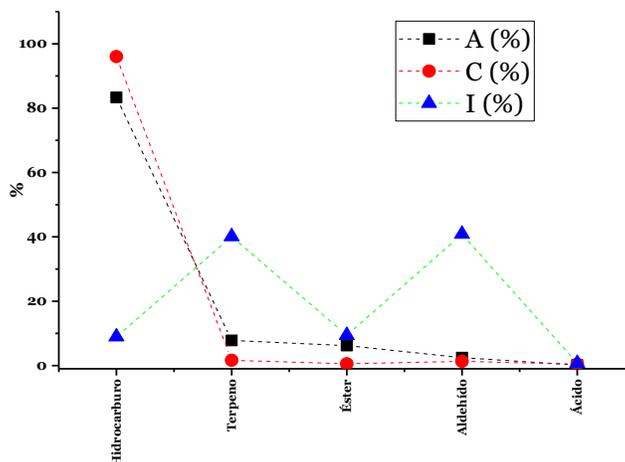


Figura 11. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de *Melipona favosa favosa*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

En la **Figura 11** se puede apreciar la variación en los tipos de compuestos que conforman cada una de las ceras, en esta se observa que las fracciones en los tipos de compuestos para las muestras de alimento y cría tienen proporciones similares, y la de involucro cambia con respecto a las anteriores, en la medida que aumenta la proporción de aldehídos y terpenos y disminuye considerablemente la fracción de hidrocarburos. Por otro lado, los tipos de compuestos en los que se presentan fracciones semejantes en las tres muestras son en ácidos y ésteres. Al igual que en las muestras de *Melipona compressipes*, las diferencias de la muestra de involucro, con respecto a las muestras de alimento y cría, también se ven reflejadas en el peso molecular promedio, dado que el peso molecular promedio de la muestra de involucro es el que más difiere entre las tres, pues estas tienen un peso molecular promedio de 449,14 g/mol, 374,92 g/mol y 357,82 g/mol para involucro, alimento y cría, respectivamente, dando un peso molecular promedio de la cera de *Melipona favosa favosa* de $393,96 \pm 48,55$ g/mol. Evidentemente, el peso molecular promedio de la muestra de involucro difiere en alrededor de 100 unidades (diferencia del 14,01%)* de la de alimento y cría. Por lo anterior, es de esperarse que las propiedades y/o comportamiento de la muestra de involucro sean notablemente diferentes a las de alimento y cría y estas diferencias pueden ser más evidentes que en las de las muestras de *Melipona compressipes*.

En los cromatogramas de las tres muestras de *Melipona fuscipes* (**Figura 12**) se aprecia que tienen una composición similar tanto en fracción, como en tipos de compuestos; puesto que, estos presentan los mismos picos en los mismos tiempos de retención y mantienen las intensidades de estos semejantes para las tres muestras. En las tres muestras, el compuesto mayoritario es el acetato de triacontilo con fracción de 35,03%, 42,60% y 28,15% en las muestras de alimento, cría e involucro respectivamente, seguido de pentacosano que representa el 22,78% (alimento), 18,90% (cría) y 23,03% (involucro).

* %diferencia = $\frac{|\text{valor} - \text{promedio}|}{\text{Promedio}} * 100$

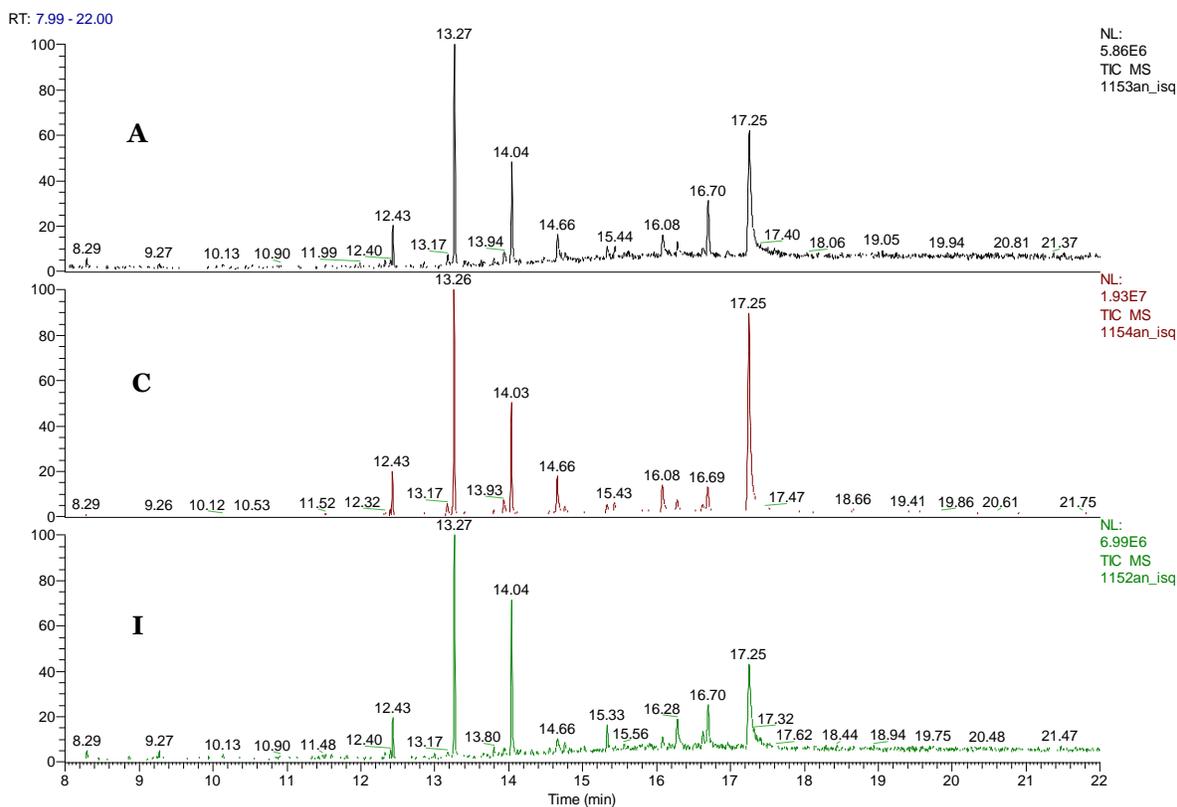


Figura 12. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de *Melipona fuscipes*. Alimento, cría e involucro respectivamente.

Tabla 8. Composición de la cera de *Melipona fuscipes*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Peso molecula r	Compuesto	Tipo	# de C	A (%)	C (%)	I (%)
322	Tricoseno	Hidrocarburo	23	0,79	0,37	0,68
322	Tricoseno	Hidrocarburo	23	1,11	0,71	0,89
324	Tricosano	Hidrocarburo	23	3,68	3,57	3,81
338	Tetracosano	Hidrocarburo	24	0,59	0,11	0,55
350	Pentacoseno	Hidrocarburo	25	0,80	1,40	1,21
352	Pentacosano	Hidrocarburo	25	22,78	18,90	23,03
357*	Hidrocarburos ramificados	Hidrocarburo		0,00	0,19	0,51
366	Hexacosano	Hidrocarburo	26	0,98	0,14	0,51

* Valor calculado mediante interpolación de los hidrocarburos ramificados que no fueron identificados con la base de datos del equipo.

352	Tetracosanal	Aldehído	24	0,66	0,32	0,62
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	1,68	2,17	0,29
380	Heptacosano	Hidrocarburo	27	12,08	10,48	18,76
406	Nonacoseno	Hidrocarburo	29	3,48	5,26	2,18
408	Nonacosano	Hidrocarburo	29	0,22	0,59	0,91
408	Octacosanal	Aldehído	28	0,76	0,86	2,80
410	Octacosan-1-ol	Alcohol	28	0,84	1,28	0,00
452	Acetato de octacosilo	Éster	30	3,22	4,79	1,04
436	Triacotanal	Aldehído	30	1,20	1,55	5,54
420	Triacoteno	Hidrocarburo	30	0,51	1,07	1,90
426	Lanosterol	Terpeno	30	9,09	3,62	6,61
420	Acetato de triacotilo	Éster	32	35,03	42,60	28,15

Los resultados de la **Tabla 8**, corroboran que la composición en las tres muestras de *Melipona fuscipes* es similar, a excepción del tipo de hidrocarburos ramificados que no pudo ser identificado mediante el método empleado y que no se encuentra presente en la muestra de alimento. Las tres muestras están conformadas por los mismos compuestos en fracciones similares dado que las fracciones de los compuestos que las conforman presentan la misma tendencia en los tres casos, al igual que los tipos de compuestos (**Figura 13**); en consecuencia, la longitud promedio de las cadenas carbonadas en las tres muestras es también similar. Como se evidencia en la **Tabla 9**, estas muestras de alimento, cría e involucro están conformadas principalmente por hidrocarburos: 49,21%, 44,97% y 55,24%, ésteres: 38,25%, 47,39% y 29,20%; terpenos: 9,09%, 3,62% y 6,61%; aldehídos: 2,62%, 2,74% y 8,96% y alcoholes: 0,84%, 1,28% y 0,00% respectivamente.

La fracción de hidrocarburos saturados es mayor que la de hidrocarburos insaturados en las tres muestras. En la muestra de alimento el 17,03% son insaturados y el 82,97% saturados; en la muestra de cría, el 24,44% son insaturados y el 75,56% saturados y en la muestra de involucro, el 12,96% son insaturados y el 87,04% saturados. El peso molecular promedio es 392,31 g/mol, 397,03 g/mol y 390,06 g/mol en las muestras de alimento, cría e involucro respectivamente; por lo tanto, el peso molecular promedio para la cera de *Melipona fuscipes* es de $393,14 \pm 3,56$ g/mol. De las muestras analizadas, estas presentan el peso molecular promedio más similar entre muestras de la misma especie.

Las muestras de cera de *Melipona fuscipes* son de las de menor complejidad en cuanto a su composición, debido a que, presentan menor cantidad de componentes y tipos de componentes, por lo que son bastante similares. Lo anterior se evidencia en la **Figura 13**, en la que se observa que las variaciones que se presentan entre las muestras de cera de *Melipona fuscipes* son mayoritariamente en las fracciones de ésteres e hidrocarburos, por lo tanto, es

de esperar que las propiedades y/o comportamiento de las muestras de cera de diferentes partes del nido de *Melipona fuscipes* sean semejantes.

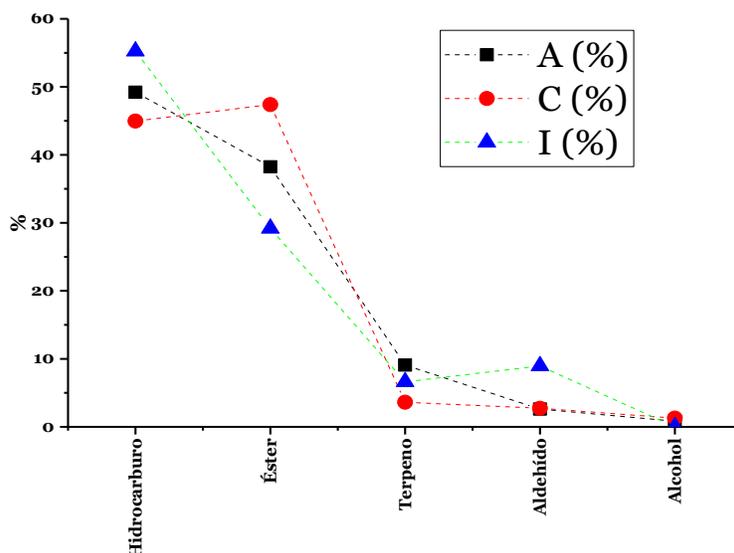


Figura 13. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de *Melipona fuscipes*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Tabla 9. Resumen de la composición de la cera de *Melipona fuscipes*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Tipo de compuesto/# C	A (%)	C (%)	I (%)
Alcoholes	0,84	1,28	0,00
25-30	0,84	1,28	0,00
Aldehídos	2,62	2,74	8,96
20-25	0,66	0,32	0,62
25-30	0,76	0,86	2,80
30-35	1,20	1,55	5,54
Ésteres	38,25	47,39	29,19
30-35	38,25	47,39	29,19
Hidrocarburos	49,21	44,97	55,24
20-25	2,50	1,19	2,12
20-30	3,68	3,57	3,81
25-30	42,01	38,94	46,90
30-35	0,51	1,07	1,90
(Indefinido)*	0,51	0,19	0,51
Terpenos	9,09	3,62	6,61
30-35	9,09	3,62	6,61

* Indefinido por los hidrocarburos ramificados que no fueron identificados con la base de datos disponible.

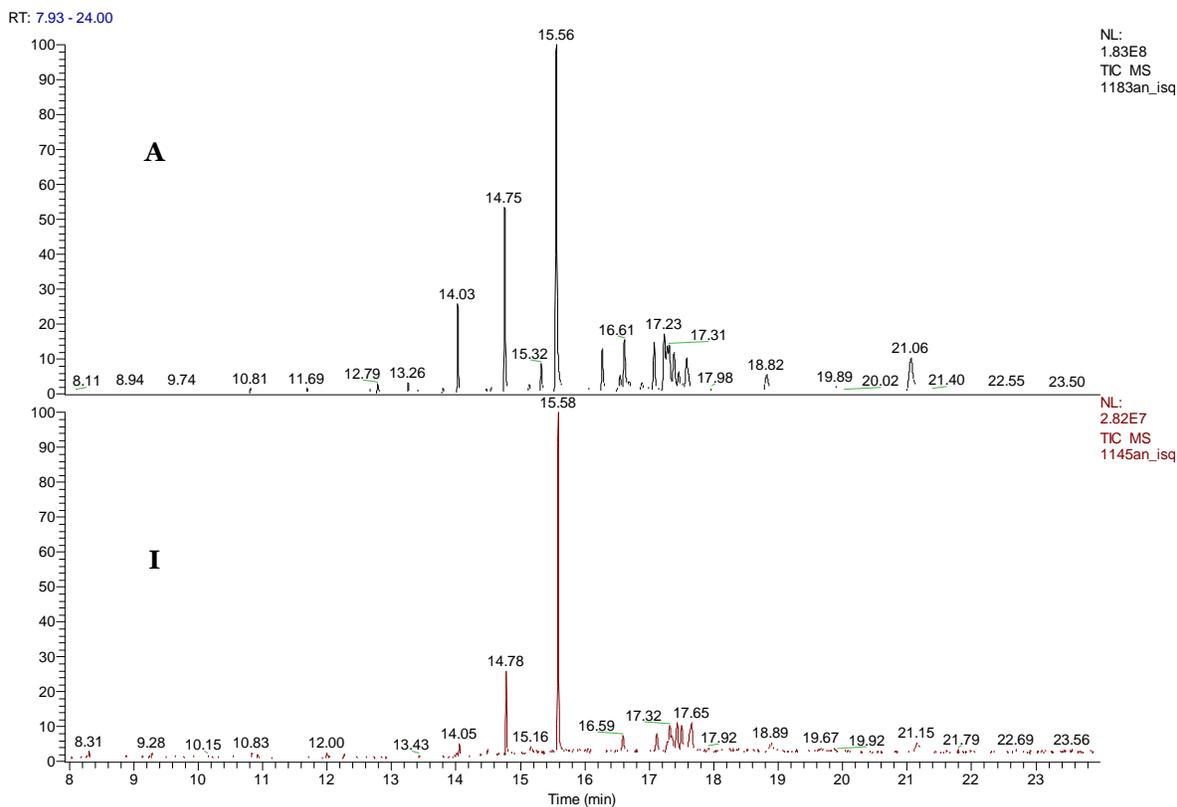


Figura 14. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de *Trigona (Tetragonisca) angustula*. Alimento e involucro respectivamente.

En los cromatogramas de las muestras de alimento e involucro de cera de *Trigona angustula*, se puede observar que la composición de estas es notablemente diferente dado que sólo coinciden las intensidades de los picos correspondientes a los compuestos mayoritarios que son los que eluyen a 15,56 min y 14,8 min aproximadamente. En ambos casos, estos compuestos son el hentriacontano con 48,84% y 27,72% seguido de nonacosano con 9,98% y 11,56% en las muestras de alimento e involucro respectivamente. Estas diferencias se confirman en la **Tabla 10**, en la que puede observarse que, de los 27 compuestos que conforman la muestra de involucro, sólo 15 se encuentran presentes en la muestra de alimento (55,56%). Los compuestos ausentes en la muestra de alimento con respecto a la de involucro son: todos los alcoholes y aldehídos, y, de los demás compuestos, el ácido octadecenoico, acetato de hexatriacontilo, acetato de octacosilo, hexacosanal, lanosterol, y pentacosano, siendo este último la mayor diferencia en cuanto al contenido de hidrocarburos. Finalmente, el tetratriacontanol fue detectado en el minuto 19,89 en la muestra de involucro, pero no se alcanzó a cuantificar pues se encuentra por debajo del límite de cuantificación del método.

Tabla 10. Composición de la cera de *Trigona (Tetragonisca) angustula*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; I: muestra de involucro.

Peso molecular	Compuesto	Tipo	# de C	A (%)	I (%)
256	Ácido hexadecanoico	Ácido	16	0,14	0,27
282	Ácido octadecenoico	Ácido	18	0,00	0,23
352	Pentacosano	Hidrocarburo	25	0,00	0,45
352	Tetracosanal	Aldehído	24	0,00	0,18
380	Heptacosano	Hidrocarburo	27	1,25	4,91
410	Esqualeno	Hidrocarburo	30	0,32	0,15
380	Hexacosanal	Aldehído	26	0,00	0,22
408	Nonacosano	Hidrocarburo	29	9,98	11,56
422	Triacotano	Hidrocarburo	30	0,68	0,51
408	Octacosanal	Aldehído	28	0,00	1,90
436	Hentriacotano	Hidrocarburo	31	48,84	27,72
452	Acetato de octacosilo	Éster	30	0,00	0,23
436	Triacotanal	Aldehído	30	0,00	3,97
464	Tritriacotano	Hidrocarburo	33	2,86	1,66
438	Triacotanol-1-ol	Alcohol	30	0,00	5,13
426	Lanosterol	Terpeno	30	0,00	0,84
424	Lupenona	Terpeno	30	0,00	0,70
456*	Esterol	Terpeno		3,39	4,92
480	Acetato de triacotilo	Éster	32	2,05	5,69
426	Amirina	Terpeno	30	4,89	4,30
426*	Esterol	Terpeno		2,92	4,70
424	Olean-12-en-3-ona	Terpeno	30	5,77	3,98
426	Cicloartenol	Terpeno	30	4,53	1,38
426	Lupeol	Terpeno	30	8,91	4,36
508	Acetato de Dotriacotilo	Éster	34	1,70	2,76
494	Tetratriacotanol	Alcohol	34	0,00	0,00
536	Acetato de tetratriacotilo	Éster	36	1,76	6,63
564	Acetato de hexatriacotilo	Éster	38	0,00	0,66

* Valor calculado mediante interpolación de los hidrocarburos ramificados que no fueron identificados con la base de datos del equipo.

Tabla 11. Resumen de la composición de la cera de *Trigona (Tetragonisca) angustula*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; I: muestra de involucro.

Tipo de compuesto/#C	A (%)	I (%)
Ácidos	0,14	0,50
15-20	0,14	0,50
Alcoholes	0,00	5,13
30-35	0,00	5,13
Aldehídos	0,00	6,27
20-25	0,00	0,18
25-30	0,00	2,12
30-35	0,00	3,97
Ésteres	5,52	15,98
30-35	3,75	8,68
35-40	1,76	7,29
Hidrocarburos	63,92	46,95
25-30	11,23	16,91
30-35	52,69	30,03
Terpenos	30,42	25,18
27-29	6,31	9,62
30-35	24,11	15,57

La

Tabla 11 muestra la composición general de las muestras de cera de *Trigona angustula*, como ácidos grasos, ésteres, terpenos e hidrocarburos para la muestra de alimento. En la muestra de involucro se encuentran algunos aldehídos y alcoholes. La muestra de alimento contiene un 63,92% de hidrocarburos, 30,42% de terpenos, 5,52% de ésteres y 0,14% de ácidos; de los cuales, solamente se encuentra el ácido hexadecanoico. La muestra de involucro contiene un 46,95% de hidrocarburos 25,18% de terpenos, 15,95% de ésteres, 6,27% de aldehídos 5,13% de alcoholes y 0,5% de ácidos. El 0,50% de hidrocarburos son insaturados y 99,50% son saturados; en la muestra de involucro el 0,32% son insaturados y el 99,68% son saturados.

A pesar de las diferencias observadas en la composición de estas muestras, el peso molecular promedio de ellas es similar ya que presentan valores de 434,63 g/mol y 439,32 g/mol para la muestra de alimento e involucro respectivamente; dando como resultado un peso molecular promedio de la cera de *Trigona (Tetragonisca) angustula* de $436,97 \pm 3,32$ g/mol. Lo anterior, se debe posiblemente a la conservación de la fracción de las cadenas carbonadas, (**Figura 15 b**) en la que se puede considerar que las fracciones de estas son más comparables que las fracciones de los tipos de compuestos, a pesar de que en el caso de las cadenas carbonadas entre 20 a 25 átomos de C, sólo se presenta en la muestra de involucro. Sin embargo, cabe aclarar que este porcentaje es de sólo 0,18%, por lo que se podría considerar que no incide significativamente en el peso molecular promedio de la muestra. Adicionalmente, como se observa en la **Figura 15**, independientemente de la fracción de los tipos de compuestos presentes en las muestras, y de la longitud de sus cadenas carbonadas, la variación en estas fracciones es similar. En la **Figura 15 a)** se observa que, en ambas muestras, los compuestos mayoritarios son los hidrocarburos, seguidos de terpenos y ésteres, y en menor proporción aldehídos, alcoholes y ácidos. De los ácidos, en la muestra de alimento se detectó únicamente el ácido hexadecanoico; al igual que con las cadenas carbonadas, los compuestos que no están presentes en la muestra de alimento se encuentran en baja proporción en la muestra de involucro como para incidir de manera apreciable en el peso molecular promedio de estas muestras. Por consiguiente, el peso molecular promedio de la muestra de cera de *Trigona (Tetragonisca) angustula* a partir de los pesos moleculares promedio de las muestras de alimento e involucro, es representativo de la cera de cualquier parte del nido ya que tiene un coeficiente de variación de 0,76%.

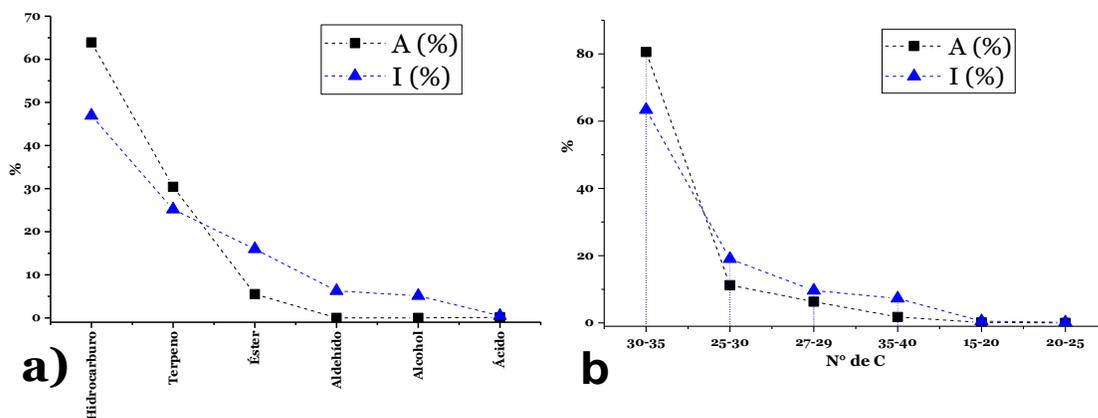


Figura 15. a) Variación en la fracción de los tipos de compuestos y b) variación en la longitud de las cadenas carbonadas. En las muestras de *Trigona angustula*. A: muestra de alimento; I: muestra de involucro.

Al igual que en las muestras de *Melipona fuscipes*, los cromatogramas de las ceras de *Trigona nigra paupera* muestran que la composición de estas es similar entre ellas debido a que, la intensidad y tiempos de retención de los picos, correspondientes a sus compuestos mayoritarios, son semejantes en las tres muestras (involucro, cría y alimento). De hecho, el compuesto mayoritario en las tres muestras es el heptacosano que eluye a un tiempo de retención de 14,05 min y su fracción es de 31,31%, 28,48% y 32,64% en las muestras de alimento, cría e involucro respectivamente. Las fracciones de los compuestos presentes en las muestras de alimento y cría varían paralelamente, de modo que la composición entre estas muestras es similar en la mayoría de sus compuestos. Sin embargo, como se evidencia en la

Tabla 12, cabe resaltar que en la muestra de involucro se observa algunas diferencias puesto que, en esta no se detectó la presencia de acetato de hexacosilo y un tipo de esteroles que están presentes en las otras dos muestras; sin embargo, como se observa en la

Tabla 12, la fracción de estos dos compuestos en las muestras de alimento y cría es muy pequeña comparada con la de los demás componentes como para que incidan de manera considerable en establecer diferencias significativas entre estas muestras.

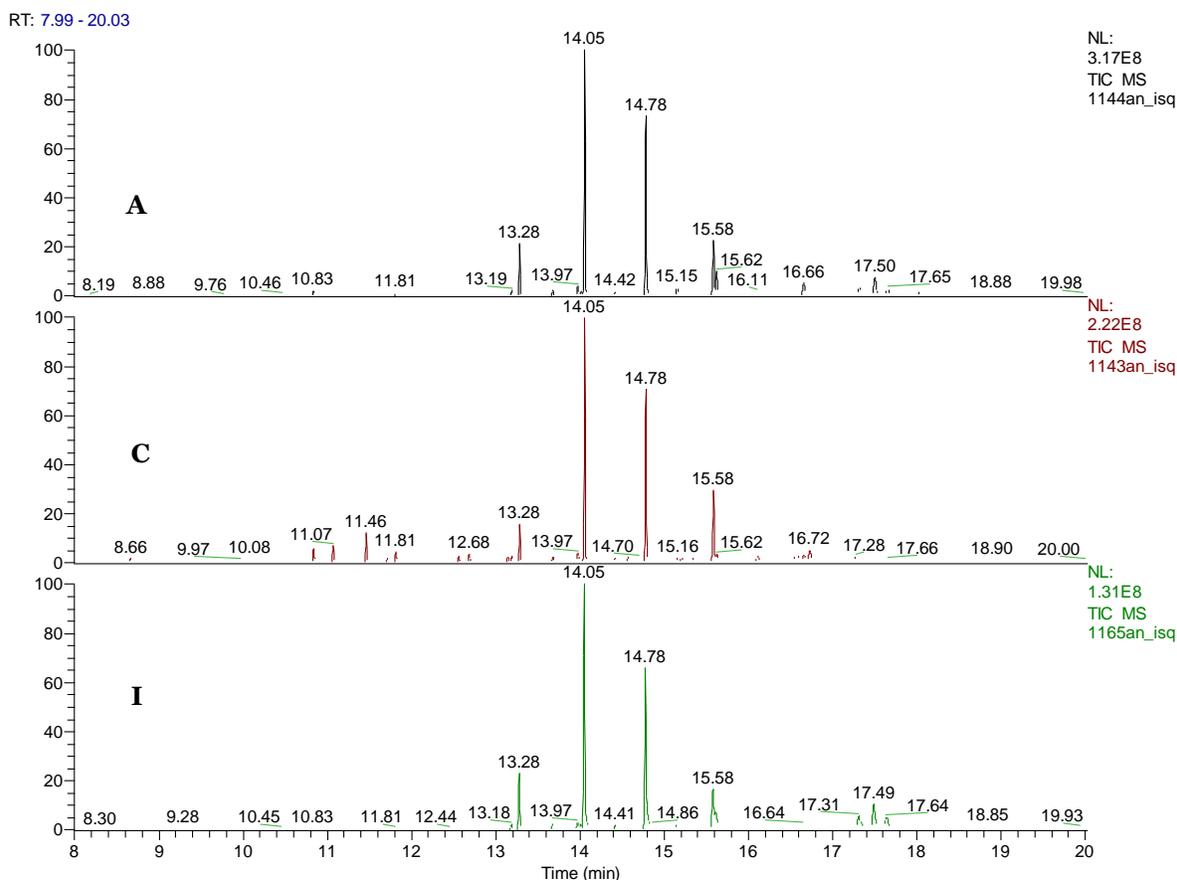


Figura 16. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de *Trigona (Frieseomlitta) nigra paupera*. Alimento, cría e involucro respectivamente.

Los compuestos predominantes en las tres muestras de *Trigona nigra paupera*, son los hidrocarburos, con fracciones de 76,32%, 75,77% y 80,59% en muestras de alimento, cría e involucro, respectivamente. Debido a los valores de las fracciones anteriores, es evidente que la fracción de los demás componentes es menor (**Tabla 13**) de tal manera que 7,71% son alcoholes, 7,56% terpenos, 5,97%, ésteres, 2,17% ácidos y 0,27% aldehídos. De modo similar, las muestras de cría contienen 7,89% de terpenos, 6,89% de ácidos, 5,61% de ésteres, 2,59% de alcoholes y 1,28% de aldehídos. La muestra de involucro contiene 10,52% de terpenos, 5,85% de ésteres, 1,63% de alcoholes, 0,80% de aldehídos y 0,63% de ácidos. Adicionalmente, la mayor parte de los hidrocarburos son saturados; en la muestra de alimento el 2,89% son insaturados y el 72,90% saturados. En la muestra de cría el 5,89% son insaturados y el 94,11% saturados. Finalmente, en la muestra de involucro el 3,81% son insaturados y el 96,19% saturados.

En consecuencia, el peso molecular promedio de las ceras analizadas para *Trigona nigra paupera* está determinado principalmente por la cantidad presente de hidrocarburos. Los pesos moleculares promedio de la muestra de alimento, cría e involucro son 398,64 g/mol, 390,19 g/mol y 400,20 g/mol respectivamente, con lo que se obtiene un peso molecular promedio para la cera de *Trigona nigra paupera* de $396,34 \pm 5,39$ g/mol.

Tabla 12. Composición de la cera de *Trigona (Frieseomlitta) nigra paupera*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Peso molecular	Compuesto	# de C	Tipo	A (%)	C (%)	I (%)
256	Ácido hexadecanoico	16	Ácido	0,86	2,20	0,36
275*	Esterol desconocido		Terpeno	0,24	3,58	0,00
282	Ácido octadecanoico	18	Ácido	0,36	0,76	0,14
284	Ácido octadecanoico	18	Ácido	0,66	1,92	0,13
324	Tricosano	23	Hidrocarburo	0,23	0,43	0,17
300	Ácido dehidroabietico	20	Ácido	0,15	1,21	0,00
302	Ácido abietico	20	Ácido	0,14	0,81	0,00
350	Pentacoseno	25	Hidrocarburo	0,85	1,12	0,77
352	Pentacosano	25	Hidrocarburo	6,30	4,47	7,03
366	Hexacosano	26	Hidrocarburo	0,65	0,79	0,79
378	Heptacoseno	27	Hidrocarburo	1,43	2,15	1,77
380	Heptacosano	27	Hidrocarburo	31,31	28,48	32,64
394	Acetato de tetracosenilo	26	Éster	0,07	0,32	0,02
394	Octacosanol	28	Hidrocarburo	0,53	0,70	0,74
380	Hexacosanal	26	Aldehído	0,10	0,60	0,32
406	Nonacoseno	29	Hidrocarburo	0,61	1,15	0,50
408	Nonacosano	29	Hidrocarburo	23,90	21,57	24,37
422	Triacotano	30	Hidrocarburo	1,67	0,84	1,26
424	Acetato de hexacosilo	28	Éster	0,57	0,68	0,00
408	Octacosanal	28	Aldehído	0,17	0,68	0,48
436	Hentriacontano	31	Hidrocarburo	8,83	12,22	10,47
410	Octacosanol	28	Alcohol	4,55	1,04	0,00
452	Acetato de octacosilo	30	Éster	0,72	0,98	0,28
464	Tritriacontano	33	Hidrocarburo	0,01	1,86	0,07
438	Triacontan-1-ol	30	Alcohol	3,16	1,52	1,63
426	Lanosterol	30	Terpeno	0,33	2,51	0,00
420	Acetato de triacontilo	32	Éster	3,17	2,20	4,21
423*	Sterole		Terpeno	4,77	1,17	6,73
426	Amirina	30	Terpeno	2,21	0,62	3,79
536	Acetato de tetratriacontilo	36	Éster	1,04	0,79	0,77
564	Acetato hexatriacontilo	38	Éster	0,39	0,62	0,56

* Valor calculado mediante interpolación para los compuestos que no fueron identificados con la base de datos del equipo.

Tabla 13. Resumen de la composición de la cera de *Trigona (Frieseomlitta) nigra paupera*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Tipo de compuesto/# C	A (%)	C (%)	I (%)
Ácido	2,17	6,89	0,63
15-20	1,88	4,87	0,63
20-25	0,29	2,02	0,00
Alcohol	7,71	2,56	1,63
25-30	4,55	1,04	0,00
30-35	3,16	1,52	1,63
Aldehído	0,27	1,28	0,80
25-30	0,27	1,28	0,80
Ester	5,97	5,61	5,85
25-30	0,64	1,01	0,02
30-35	3,90	3,19	4,49
35-40	1,43	1,41	1,33
Hidrocarburo	76,32	75,77	80,59
20-25	7,38	6,02	7,97
25-30	58,43	54,84	60,82
30-35	10,51	14,91	11,80
Terpeno	7,56	7,89	10,52
27-29	5,02	4,75	6,73
30-35	2,54	3,14	3,79

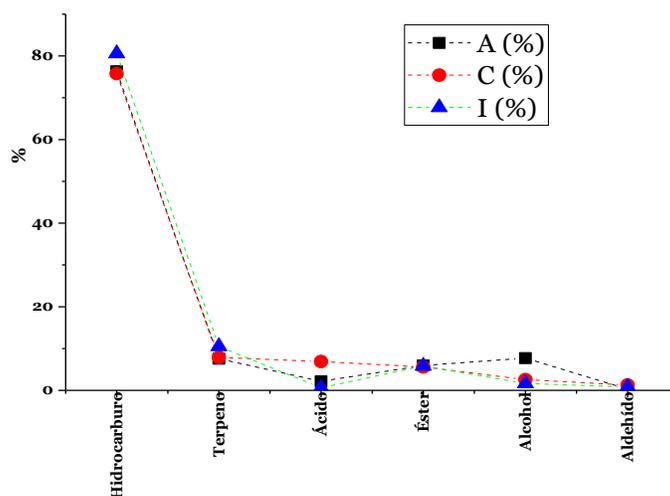


Figura 17. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de *Trigona (Tetragonisca) nigra paupera*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

La **Figura 17**, refleja que la composición química de las ceras de *Trigona nigra paupera* es semejante en las tres muestras analizadas. Esto se debe a que presentan en su gran mayoría los mismos compuestos en fracciones similares, como puede verse en la **Tabla 12**; y adicionalmente, los compuestos que no están presentes en las tres muestras se encuentran

en muy baja proporción en comparación con los demás, como para influir significativamente en la composición general de la muestra respectiva. Adicionalmente, la **Tabla 13** exhibe que la semejanza y tendencia de los tipos de compuestos en estas muestras también se conservan en las cadenas carbonadas, pues las que presentan mayor proporción son las de los compuestos comprendidos entre 25 a 30 átomos de carbono, que se da principalmente por la presencia de heptacosano y nonacosano que son los hidrocarburos predominantes en las tres muestras.

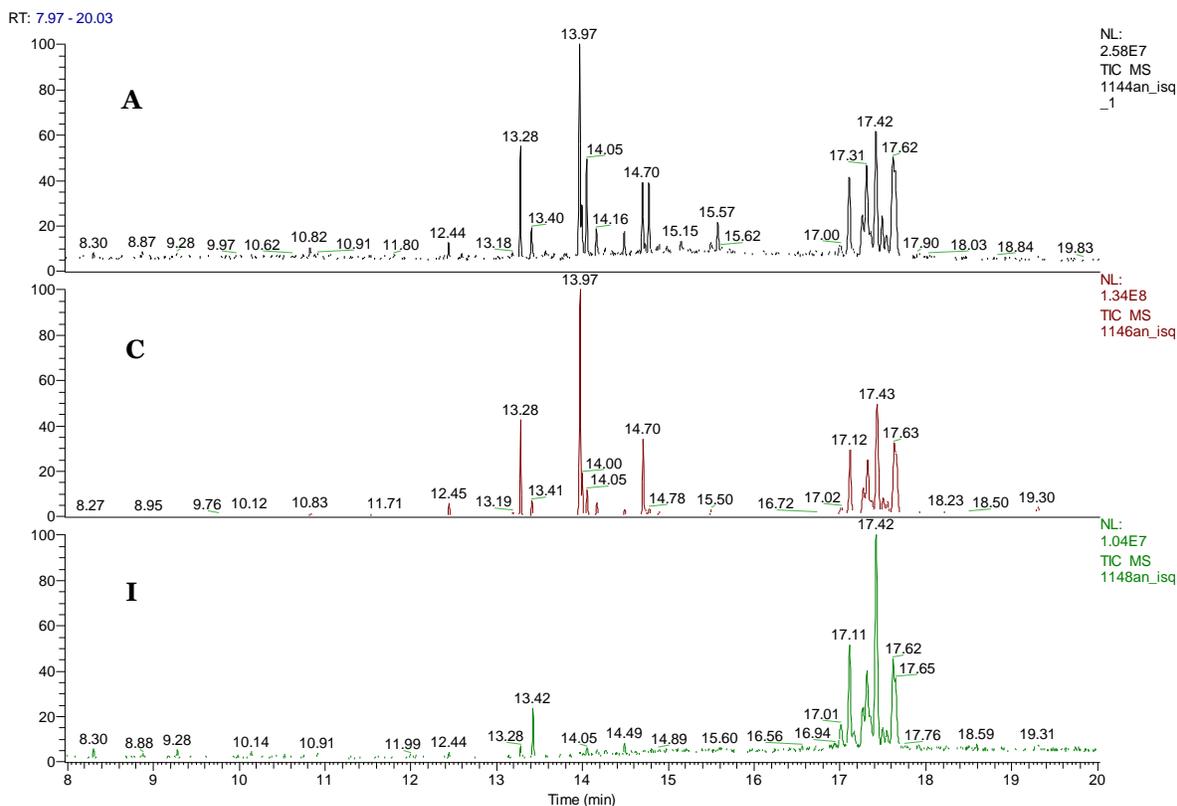


Figura 18. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de *Nanotrigona* sp. Alimento, cría e involucro respectivamente.

En los cromatogramas de la **Figura 18**, pertenecientes a las muestras de cera de *Nanotrigona* sp., se puede apreciar que hay unos compuestos característicos de las tres muestras, puesto que aparecen juntos con similar proporción entre ellos en unos tiempos de elución comprendidos entre 17 y 17,9 min. Estos compuestos son terpenos, particularmente un tipo de esteroles que no pudo ser identificado mediante el método aplicado, siendo el componente mayoritario en la muestra de involucro. Adicionalmente, en este intervalo también se encuentran el acetato de triacontilo, amirina y lupenol. En las otras regiones de los cromatogramas, especialmente en el intervalo comprendido entre 13,20 min y 14,78 min se observan algunas diferencias en las intensidades de los picos correspondientes a hidrocarburos, y por lo tanto, la muestra de involucro es la que contiene menor cantidad.

Las diferencias que se observan en la composición química de las muestras de ceras pertenecientes a *Nanotrigona* sp., es debida a la fracción en que están presentes los

compuestos que las conforman, puesto que, todas tienen los mismos compuestos, sólo que, en diferentes proporciones, especialmente en la muestra de involucro con respecto a las muestras de alimento y cría. Los componentes mayoritarios en estas muestras son dos tipos de esteroides que eluyen a 17,02 min y 17,42 min, y que corresponden a 18,77%, 21,30% y 58,42% en las muestras de alimento, cría e involucro respectivamente.

Tabla 14. Composición de la cera de *Nanotrigona* sp.. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Peso molecula r	Compuesto	Tipo	# de C	A (%)	C (%)	I (%)
256	Ácido hexadecanoico	Ácido	16	0,86	0,32	0,38
296	Heneicosano	Hidrocarburo	21	0,15	0,18	0,18
282	Ácido octadecanoico	Ácido	18	0,58	0,31	0,21
284	Ácido octadecanoico	Ácido	18	0,37	0,11	0,16
310	Docosano	Hidrocarburo	22	0,11	0,07	0,41
322	Tricoseno	Hidrocarburo	23	0,20	0,12	0,59
324	Tricosano	Hidrocarburo	23	0,79	0,75	0,58
338	Tetracosano	Hidrocarburo	24	0,19	0,08	0,15
350	Pentacoseno	Hidrocarburo	25	0,35	0,38	0,22
352	Pentacosano	Hidrocarburo	25	4,76	5,17	1,24
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	9,70	13,70	0,50
380	Heptacosano	Hidrocarburo	27	4,25	1,62	0,11
410	Esqualeno	Terpeno	30	1,09	0,41	1,17
406	Nonacoseno	Hidrocarburo	29	3,62	4,55	0,83
408	Nonacosano	Hidrocarburo	29	3,33	0,67	0,66
436	Hentriacontano	Hidrocarburo	29	1,77	0,12	0,56
419*	Esterol desconocido	Terpeno		1,15	0,98	4,19
419*	Esterol desconocido	Terpeno		6,81	7,14	16,21
420	Acetato de triacontilo	Éster	32	3,56	2,94	2,91

* Valor calculado mediante interpolación para los compuestos que no fueron identificados con la base de datos del equipo.

426	Amirina	Terpeno	30	7,70	6,27	13,01
424	Esterol desconocido	Esterol		10,82	13,18	38,02
426	Lupenol	Terpeno	30	8,70	14,26	14,31
426	Amirina	Terpeno		6,41	0,33	0,56
492	Tetratriacontanal	Aldehído	34	0,38	1,66	1,80
536	Acetato de tetratriacontilo	Éster	36	0,56	0,78	0,00
520	Hexatriacontanal	Aldehído	36	0,30	2,51	0,00
522	Hexatricontanol	Alcohol	36	5,75	1,53	0,00
564	Acetato de hexatriacontilo	Éster	38	5,62	8,41	0,47
592	Acetato de octatriacontilo	Éster	38	10,12	11,45	0,57

Tabla 15. Resumen de la composición de la cera de *Nanotrigona* sp.. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Tipo de compuesto/#C	A (%)	C (%)	I (%)
Ácidos	1,81	0,73	0,75
15-20	1,81	0,73	0,75
Alcoholes	5,75	1,53	0,00
35-40	5,75	1,53	0,00
Aldehídos	0,68	4,17	1,80
30-35	0,38	1,66	1,80
35-40	0,30	2,51	0,00
Ésteres	19,86	23,59	3,95
30-35	3,56	2,94	2,91
35-40	6,18	9,20	0,47
40-45	10,12	11,45	0,57
Hidrocarburos	29,21	27,41	6,02
20-25	1,43	1,20	1,90
25-30	26,02	26,09	3,57
30-35	1,77	0,12	0,56
Terpenos	42,68	42,57	87,48
30-35	23,91	21,27	29,06
(Indeterminado)*	18,77	21,30	58,42

De acuerdo con la información de la **Tabla 15** y la tendencia observada en la **Figura 19**, la composición general de la muestra de alimento de *Nanotrigona* sp., está conformada por 42,68% de terpenos, 29,21% de hidrocarburos, 19,86% de ésteres, 5,75% de alcoholes, 1,81% ácidos y 0,68% de aldehídos. La muestra de cría presenta 42,57% de terpenos, 27,41% de hidrocarburos, 23,59% de ésteres, 4,17% de aldehídos, 1,53% de alcoholes y 0,73% de ácidos. La muestra de involucro contiene 87,48% de terpenos, 6,02% de hidrocarburos, 3,95% de

* Indeterminado el número de carbonos porque no se logró identificar el compuesto.

ésteres, 1,80% aldehídos y 0,75% de ácidos. De las fracciones de hidrocarburos, en la muestra de alimento 13,87% de estos son insaturados y 15,34% saturados; en la muestra de cría 68,42% son insaturados y 31,58% saturados. Finalmente, en la muestra de involucro 35,54% son insaturados y 64,46% saturados.

La **Figura 19** corrobora que las diferencias marcadas entre las muestras se presentan en mayor grado entre la de involucro con las de alimento y cría, dado que entre esta y las otras dos, no se presentan proporciones comparables en las fracciones de terpenos, aldehídos y ésteres. Las únicas fracciones comparables en los tipos de compuestos entre estas muestras son los aldehídos y ácidos, puesto que el hexatricontanol, solo está presente en las muestras de alimento y cría. Estas últimas presentan una composición similar en la fracción de los compuestos que las conforman (**Tabla 14**) y por ende en los tipos de compuestos, con lo que es de esperarse que las propiedades y/o características de estas dos muestras sean semejantes y difieran notablemente de las de involucro. En cuanto al número de carbonos, se dificulta determinar si son comparables en las muestras debido a que los componentes predominantes en estas (esteroles) no se lograron identificar completamente mediante el método empleado.

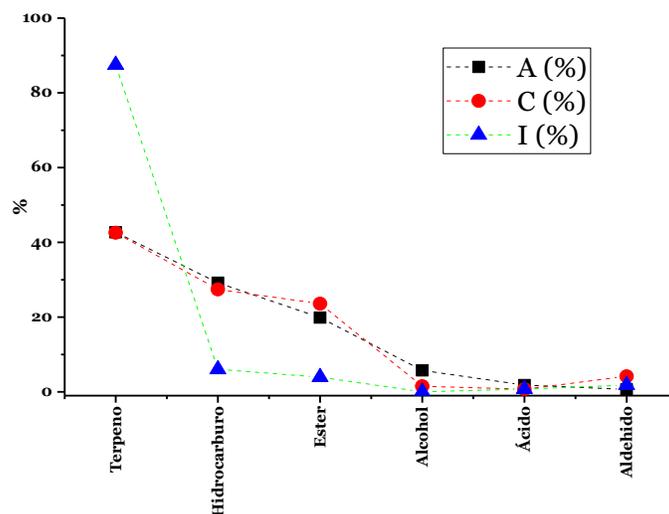


Figura 19. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de *Nanotrigona* sp.. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

De acuerdo con la **Figura 20**, en las muestras de cera pertenecientes a *Bombus atratus*, se observa que coinciden los dos primeros compuestos mayoritarios en los tres cromatogramas en el intervalo comprendido entre 12,43 min y 14,05 min. Esta región corresponde a hidrocarburos con cadenas carbonadas entre C23 y C27 (tricosano y heptacosano), siendo los de mayor proporción el tricosano, pentacosano y heptacosano (

Tabla 16). En las otras regiones de los cromatogramas, se presenta una disminución en la intensidad de los picos del cromatograma correspondiente a la muestra de involucro en comparación con los de alimento y cría.

A diferencia de la muestra de cera de *Apis mellifera* (africanizada), la composición de las muestras de cera de *Bombus atratus* son las más simples en cuanto a composición debido a la poca cantidad de tipos de compuestos que están presentando, pues de acuerdo con el método

empleado están conformadas mayoritariamente por hidrocarburos y pequeñas fracciones de ésteres y ácidos. Por lo anterior, de las muestras de cera pertenecientes a especies nativas, las ceras de *Bombus atratus* son las que más se asemejan a la de *Apis mellifera* (africanizada) primordialmente por la cantidad de hidrocarburos que estas presentan en su composición. No obstante, las muestras de *Bombus atratus* presentan mayor proporción de hidrocarburos en general y de hidrocarburos insaturados, y en promedio son de menor peso molecular que los de la muestra de cera de *Apis mellifera* (africanizada), esto, puede ser determinante en las diferencias de las propiedades y/o comportamiento de las ceras entre estas especies.

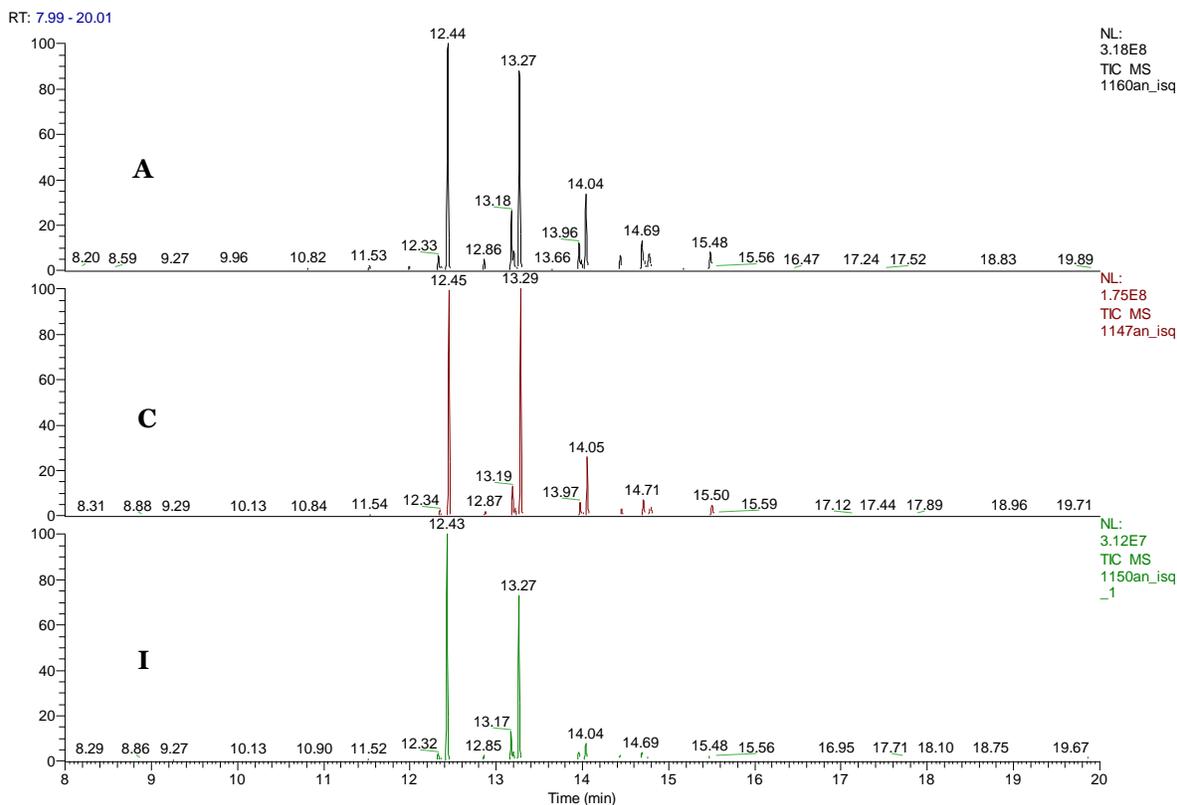


Figura 20. Cromatogramas GC-MS de las muestras de cera de *Bombus atratus*. Alimento, cría e involucro respectivamente.

En concordancia con la **Tabla 17**, la composición de la muestra de alimento está conformada por 95,84% de hidrocarburos, 3,28% de ésteres y 0,87% de ácidos, la muestra de cría está compuesta por 97,43% de hidrocarburos, 2,12% de ésteres y 0,45% de ácidos. Finalmente, la muestra de involucro está compuesta por 98,15% de hidrocarburos, 1,76% de ésteres y 0,09% de ácidos. De la fracción de hidrocarburos, el 74,38%, 83,78% y 82,55% son saturados en las muestras de alimento, cría e involucro respectivamente, los restantes son insaturados. Con lo anterior, los pesos moleculares promedios son 355,68 g/mol, 351,76 g/mol y 345,51 g/mol para las muestras de alimento, cría e involucro respectivamente, lo que da un valor promedio de $350,99 \pm 5,13$ g/mol. Como se observa en la **Figura 21**, la fracción de los tipos de compuestos en las tres muestras de la cera de *Bombus atratus* es similar en todas las ellas y las proporciones entre estos tipos de compuestos se mantiene igual en todas las muestras,

por consiguiente, se puede afirmar que el peso molecular promedio de estas muestras de cera es representativo de la cera proveniente de cualquier parte del nido de *Bombus atratus*.

Tabla 16. Composición de la cera de *Bombus atratus*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Peso molecula r	Compuesto	Tipo	# de C	A (%)	C (%)	I (%)
256	Ácido hexadecanoico	Ácido	16	0,41	0,17	0,09
296	Heneicosano	Hidrocarburo	21	0,52	0,29	0,59
282	Ácido octadecenoico	Ácido	28	0,47	0,28	0,00
310	Docosano	Hidrocarburo	22	0,49	0,03	0,58
322	Tricoseno	Hidrocarburo	23	1,72	0,96	1,50
322	Tricoseno	Hidrocarburo	23	0,44	0,27	0,44
324	Tricosano	Hidrocarburo	23	27,89	33,60	40,48
338	Tetracosano	Hidrocarburo	24	1,32	0,86	1,17
350	Pentacoseno	Hidrocarburo	25	7,08	4,74	6,18
350	Pentacoseno	Hidrocarburo	25	2,53	1,26	1,94
352	Pentacosano	Hidrocarburo	25	25,90	33,59	32,11
366	Hexacoseno	Hidrocarburo	26	0,40	0,15	0,25
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	3,39	2,33	1,90
378	Heptacoseno	Hidrocarburo	27	1,29	0,73	0,97
380	Heptacosano	Hidrocarburo	27	10,83	10,04	4,77
396	Acetato de tetracosilo	Éster	26	2,46	1,35	1,43
406	Nonacoseno	Hidrocarburo	29	4,02	2,76	2,55
408	Nonacosano	Hidrocarburo	29	3,86	2,86	0,66
424	Acetato de hexacosilo	Éster	28	0,82	0,77	0,34
434	Hentriaconteno	Hidrocarburo	31	3,68	2,61	1,39
436	Hentriacontano	Hidrocarburo	31	0,48	0,37	0,66

Tabla 17. Resumen de la composición de la cera de *Bombus atratus*. A: muestra de potes de almacenamiento de alimento; C: muestra de celdas de cría; I: muestra de involucro.

Tipo de compuesto	A (%)	C (%)	I (%)
Ácido	0,87	0,45	0,09
15-20	0,87	0,45	0,09
Éster	3,28	2,12	1,76
25-30	3,28	2,12	1,76
Hidrocarburo	95,84	97,43	98,15
20-25	32,38	36,00	44,77
25-30	59,30	58,45	51,33
30-35	4,16	2,98	2,05

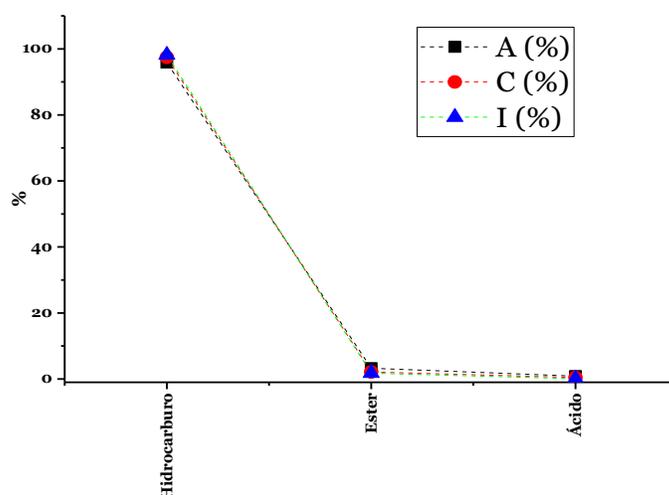


Figura 21. Variación en la fracción de los tipos de compuestos en las muestras de *Bombus atratus*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

De las muestras de cera de las especies pertenecientes al género *Melipona*, la de *Melipona compressipes* es la más compleja en cuanto a composición por la cantidad de compuestos que presenta, ya que contiene un total de 33 compuestos, le sigue las muestras de *Melipona favosa favosa* que tienen 24 compuestos y *Melipona fuscipes* con 19 compuestos. En cuanto a los compuestos presentes en estas muestras, las mayores diferencias están entre las muestras de *Melipona fuscipes* y *Melipona favosa favosa* (Tabla 6, Tabla 8 y Figura 23).

No se encontró información bibliográfica acerca de la composición de la cera de las especies pertenecientes al género *Melipona* estudiadas en este trabajo. La publicación referente reportada para este género, es “Production of wax by virgin queens of the stingless bee *Melipona bicolor* (Apidae, Meliponinae)” realizada por D. Koedam y colaboradores[33] aplicado a la producción de cera de reinas y abejas obreras de *Melipona bicolor*, encontrándose los siguientes compuestos en común con las muestras de las ceras de las especies pertenecientes al género *Melipona* analizadas en este trabajo: acetato de dotriacontilo, acetato de octacosilo, acetato de triacontilo, hentriacontano, hentriaconteno,

heptacosano, heptacoseno, nonacosano, nonacoseno, pentacosano, pentacoseno, tetracosanal, tetracosano, triacontanal, y triaconteno. La cantidad de estos compuestos reportados para *Melipona bicolor* son comparables con los de *Melipona fuscipes* encontrados en este trabajo.

Las muestras de cera pertenecientes a las especies del género *Trigona* presentan diferencias en su composición debido a la variación en la fracción de alcoholes, ácidos e hidrocarburos principalmente, puesto que en promedio las muestras de *Trigona angustula* presentan mayor proporción en ácidos, alcoholes y menor fracción de hidrocarburos respecto a la composición promedio de las muestras de *Trigona nigra paupera*. De los trabajos reportados, en cuanto a la composición de cera pertenecientes a abejas del género *Trigona*, los trabajos “Wax chemistry of two stingless bees of the *Trigona* group (Apididae: Meliponinae)” y “Composition of wax made by the Australian stingless bee *Trigona australis*” realizados por B. V. Milborrow y colaboradores[64] y G. Blomquist y colaboradores[31] respectivamente; reportan que la composición de cera de *Trigona australis* consiste de 89,9% de hidrocarburos, ésteres 5,9%, ácidos 4,1% y residuos sólidos 23,2%; la composición de *Trigona buyssoni* consiste de 59,3% de hidrocarburos, ésteres 26,8%, ácidos 5,4% y alcoholes 5,0%; la composición de *Trigona otomaria* consiste de 71,9% de hidrocarburos, 25,5% de ésteres, 1,7% de ácidos y 1,0% de alcoholes. Al contrastar la composición de las muestras analizadas con las reportadas en la literatura, se observa que se presenta mayor similitud entre las muestras de *Trigona nigra paupera* con *Trigona otomaria* y *Trigona angustula* con *Trigona buyssini* que entre *Trigona nigra paupera* y *Trigona angustula* a pesar de pertenecer al mismo hábitat; sin embargo, cabe resaltar que las muestras de cera de *Trigona buyssini* y *Trigona otomaria* fueron colectadas en Panamá, país tropical con condiciones medioambientales similares a Colombia.

De los compuestos detectados en todas las muestras analizadas cabe resaltar la presencia de terpenos por sus posibles aplicaciones farmacológicas, que van desde uso tópico hasta tratamiento de enfermedades degenerativas como cáncer o Parkinson; lo que sin duda representa un valor agregado y, despierta mayor interés para el uso de estas ceras y/o estudios posteriores de las mismas. De estos compuestos, el ácido abiético y ácido dehidroabiético, se encuentran presentes en las muestras de alimento y cría de *Trigona nigra paupera*, al primero se le atribuye actividad anticonvulsivante[65] y al ácido hidroabiético se le atribuyen propiedades para mejorar la actividad de fármacos anticancerosos en células del carcinoma cervical, hepatocelular y células cancerosas de mama[66], y es además, un reactivo antienvjecimiento[67]; la amirina es el terpeno más frecuente en las muestras analizadas, se encuentra presente en todas las muestras de *Melipona compressipes*, *Melipona favosa favosa*, *Nanotrigona* sp., *Trigona angustula* y *Trigona nigra paupera*, a este, se le atribuyen actividad antiinflamatoria[68], antiparasitaria[69], citotóxica[70], antibacterial[63], entre otras; el cicloartenol se encuentra presente en todas las muestras de *Melipona compressipes* y *Trigona angustula* y se le ha determinado actividad antiinflamatoria[68] e inmunosupresiva[71]; el escualeno se encuentra presente en todas las muestras de *Nanotrigona* sp. y *Trigona angustula*, a este se le atribuye actividad antiinflamatoria[68] y se ha evaluado como portador de fármacos anticanceroso[72]; la hordenina es un potente alcaloide producido en la naturaleza por diversas variedades de

plantas en la familia de las cactáceas, se encuentra presente en las muestras de *Melipona compressipes* y se le atribuye actividad antibacteriana, antibiótica y fungicida con aplicaciones en agricultura[73]; el lanosterol se encuentra en las muestras de *Melipona compressipes* y *Melipona fuscipes*, en la muestra de involucro de *Trigona angustula* y las muestras de alimento y cría de *Trigona nigra paupera*, a este compuesto se le atribuyen propiedades antiinflamatorias[68]; el lupeol es un terpenoide obtenido de las plantas que se le atribuye una potente actividad antimicrobiana[74], efectos antiinflamatorios[75] y usos en quimioprevención de cáncer (páncreas, próstata, piel, adicionalmente, hepatoprotectivo)[76] este se encuentra presente únicamente en las muestras de *Trigona angustula*; el manitol es un excipiente farmacéutico que está incrementando su popularidad en forma de dosis sólida[77], este se encuentra presente únicamente en la muestra de cría de *Melipona compressipes*; al tirosol que se le atribuye actividad antioxidante[78–80] y se ha estudiado también su efecto protector contra la muerte celular neuronal dopaminérgica en el modelo in vitro de la enfermedad de Parkinson[81], este se encuentra presente en todas las muestras de *Melipona compressipes*.

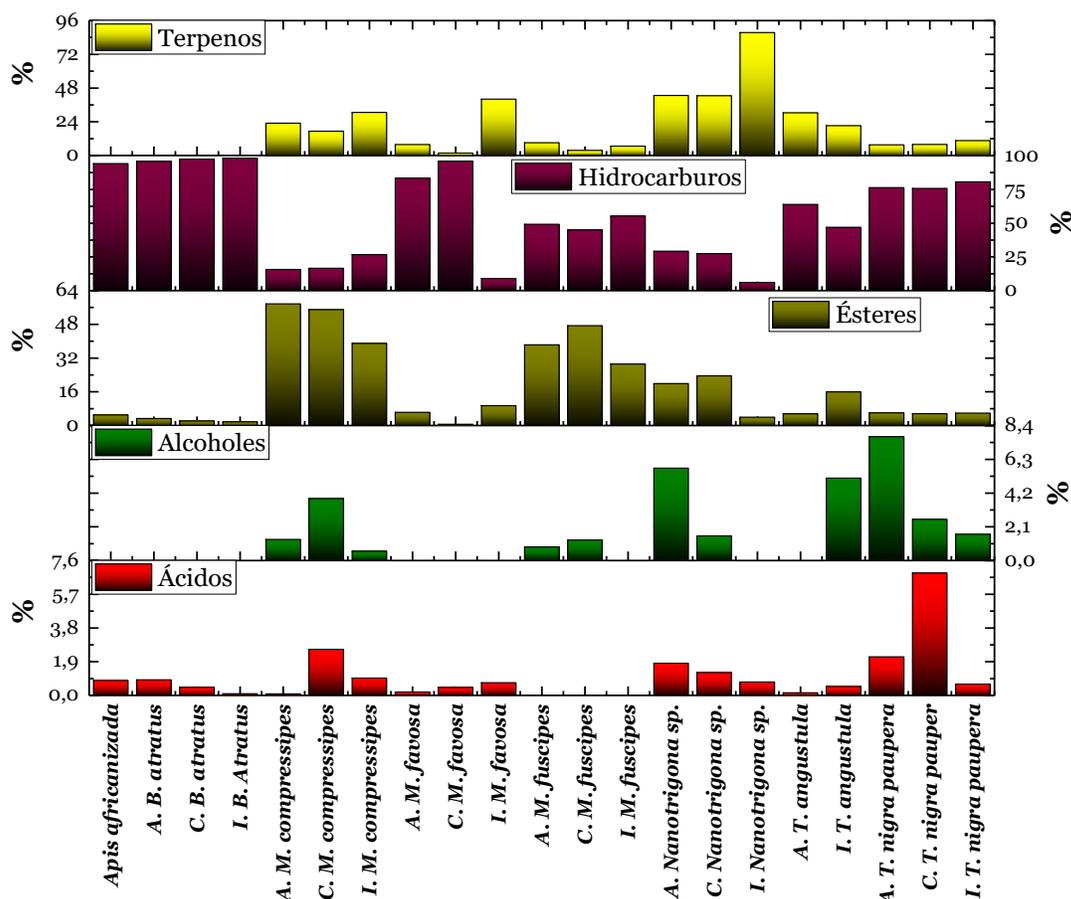


Figura 22. Porcentaje de los principales tipos de compuestos que conforman las muestras de cera. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

La **Figura 22**, resume la composición de los tipos de compuesto más comunes de todas las muestras de cera analizadas, evidenciando que los hidrocarburos son los compuestos predominantes en las muestras de involucro de *Bombus atratus*, cría de *Bombus atratus*,

cría de *Melipona favosa favosa*, alimento de *Bombus atratus*, *Apis mellifera* (africanizada), alimento de *Melipona favosa favosa*, involucro de *Trigona nigra paupera*, alimento de *Trigona nigra paupera* y cría de *Trigona nigra paupera* en los cuales la cantidad de estos compuestos es mayor al 75%. Las muestras de involucro de *Nanotrigona* sp., involucro de *Melipona favosa favosa*, alimento de *Melipona compressipes*, cría de *Melipona compressipes*, involucro de *Melipona compressipes* son las que presentan menor cantidad de estos compuestos (< 20%). Los terpenos, se encuentran en mayor proporción en las muestras de *Nanotrigona* sp., en cuyo caso es mayor de 40% y específicamente en la muestra de involucro se presenta una fracción de 87,48%. Las muestras que presentan mayor cantidad de ésteres son las de *Melipona compressipes* y *Melipona fuscipes* con fracciones mayores al 30%; y se destaca que ninguna de las muestras de *Bombus atratus* y la de *Apis mellifera* (africanizada) contiene este tipo de compuestos.

Los demás componentes encontrados, incluyendo los ácidos y alcoholes, se encuentran en muy baja proporción en todas las muestras, tanto así que, en el caso de los alcoholes, estos no se detectaron en la cera de cría de *Melipona favosa*, involucro de *Bombus atratus*, cría de *Bombus atratus*, alimento de *Bombus atratus*, involucro de *Nanotrigona* sp., involucro de *Melipona fuscipes*, alimento de *Trigona angustula*, alimento de *Melipona favosa favosa* e involucro de *Melipona favosa* y la mayor fracción de estos se presenta en la muestra de alimento de *Trigona nigra paupera* con 7,71%. Las muestras en las que no se detectó la presencia de ácidos fue la cera de *Melipona fuscipes*, y en las demás muestras se encuentran en muy baja proporción, pues la mayor fracción (6,89%) de estos se presenta en la muestra de cera de cría de *Trigona nigra paupera*.

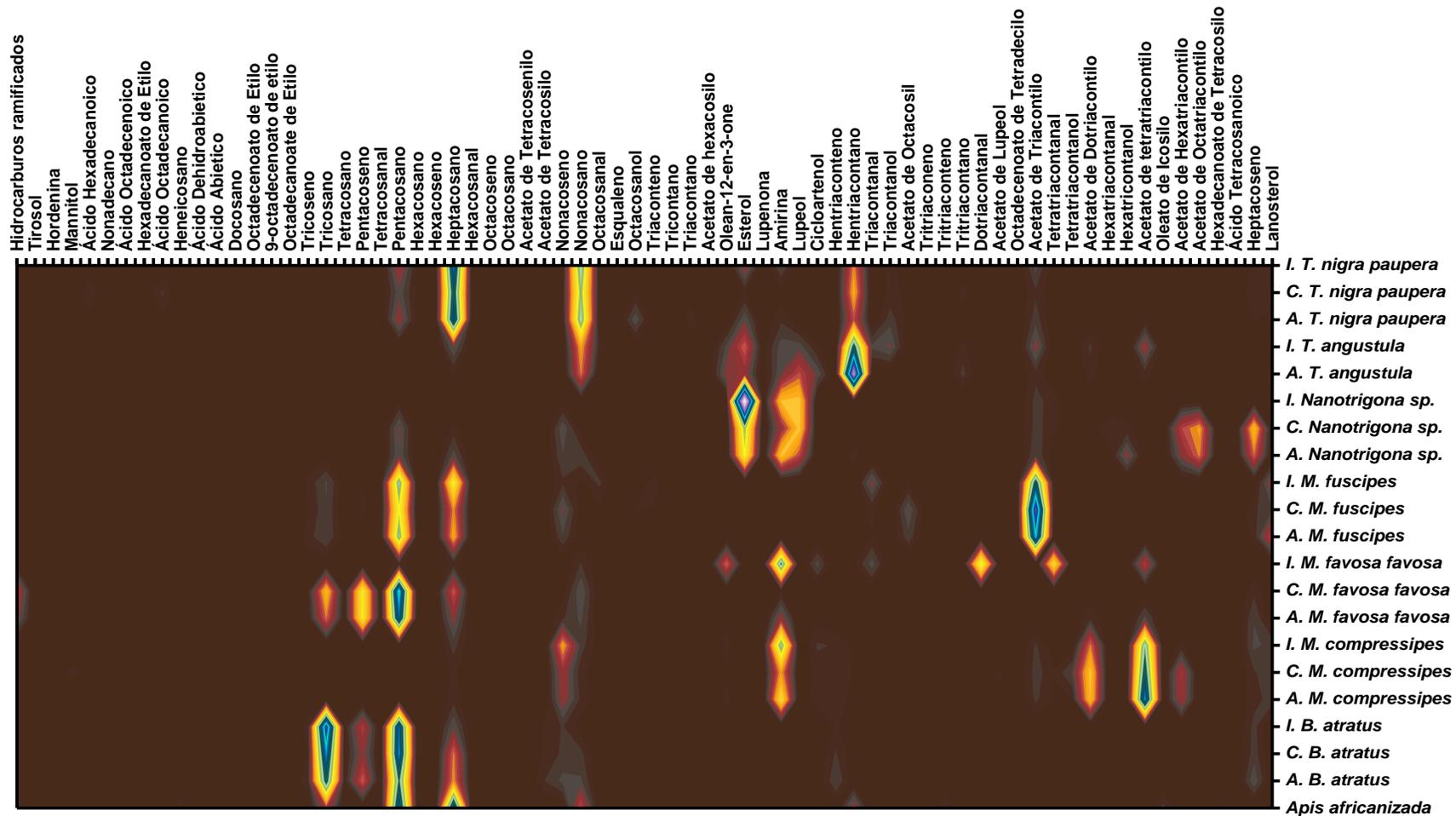


Figura 23. Composición química de las muestras de ceras. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro. La intensidad del contorno es proporcional a la fracción en la composición (cantidad) de cada compuesto versus la muestra.

La **Figura 23** muestra la intensidad de las fracciones de todos los compuestos detectados en cada una de las muestras, en esta se puede apreciar que entre los compuestos más comunes de estas ceras se encuentran: pentacosano, heptacosano, nonacosano, tetracosano, pentacosano, amirina, lupeol, esterol, acetato de triacontilo, acetato de tetratriacontilo y lanosterol.

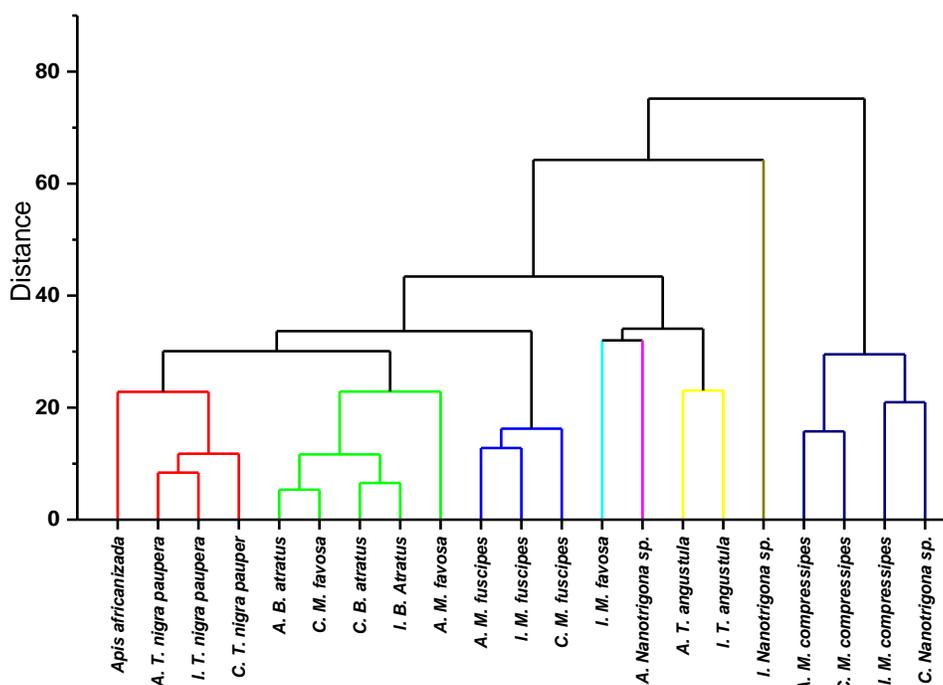


Figura 24. Clúster de la composición de las muestras de cera analizadas mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

El clúster de la **Figura 24** realizado con los porcentajes de los principales tipos de compuestos (hidrocarburos, terpenos, ésteres, ácidos y alcoholes) que conforman las muestras y su respectivo peso molecular promedio, muestra la agrupación de estas de acuerdo con sus similitudes en composición. Las muestras más desagrupadas pertenecientes a una misma especie son las de *Nanotrigona sp.*, puesto que la muestra de cría se encuentra agrupada con la de *Melipona compressipes*, la de alimento se encuentra junto con la de involucro de *Melipona favosa favosa* al lado de la de *Trigona angustula* y la de involucro se encuentra apartada de todas las demás, lo que indica que esta última tiene una composición química diferente a todas las demás muestras; esto se presenta como consecuencia en la variación de los principales grupos de compuestos que las conforman, como se observó en la **Figura 19** de la variación de estos grupos y en la **Figura 22**, en las que se observa que la fracción de terpenos en la muestra de involucro es mayor al 80%. En cuanto a las muestras de alimento y cría de *Nanotrigona sp.*, estas presentan fracciones similares en cuanto a la fracción de hidrocarburos, terpenos y ésteres, no obstante, la muestra de cría contiene más de tres veces la fracción de ácidos que la muestra de alimento y en los alcoholes esta relación es inversa, por tal motivo, estas dos muestras de la misma especie no pertenecen a un mismo grupo de similitud respecto a composición en relación con las demás muestras analizadas.

Las otras muestras desagrupadas son las de *Melipona favosa favosa*, siendo la de involucro la que se encuentra más separada de las de su especie, pues se encuentra agrupada con las de *Trigona angustula*; este comportamiento se da también por la diferencia en la fracción de los principales compuestos que la conforman, como se observa en la **Figura 11** y la **Figura 22**.

Las agrupaciones que se presentan entre especies se dan en las muestras de *Melipona compressipes*, *Melipona fuscipes*, *Trigona angustula*, *Trigona nigra paupera* y *Bombus atratus*. Las muestras más similares dentro de la misma especie se dan entre las muestras de alimento y cría en las de *Melipona compressipes* y *Bombus atratus*, y entre las muestras de alimento e involucro en las muestras de *Melipona fuscipes* y *Trigona nigra paupera*; no se presenta como agrupaciones más cercanas, muestra de cría con muestra de involucro.

4.2 ANÁLISIS INFRARROJO

La Figura 25 representa un esquema general del espectro FT-IR de las muestras de cera analizadas, en esta se observan los picos característicos de las muestras de cera y se indican las vibraciones pertenecientes a cada uno de los enlaces a la longitud de onda respectiva. Los picos principales de estas muestras están a longitudes de onda de 3395, 2917, 2846, 1735, 1644, 1467, 1377, 1239, 1167, 1055, 117 y 722 cm^{-1} aproximadamente*; las vibraciones de los enlaces en estos números de onda pueden verse en la figura.

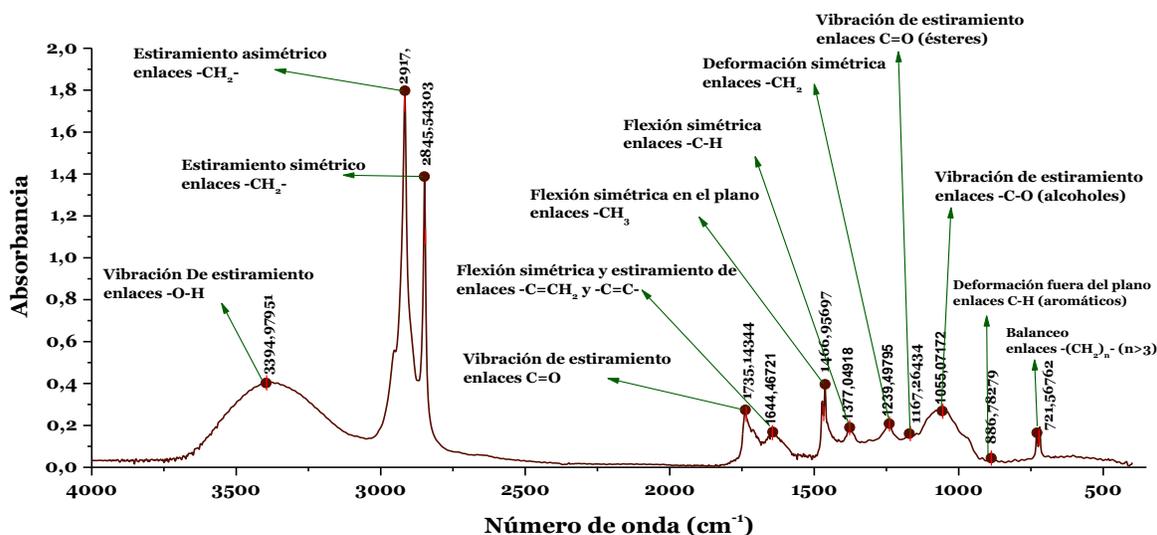


Figura 25. Espectros FT-IR general de las muestras analizadas. Se muestran las bandas características de las muestras de cera y las vibraciones de los enlaces asociados a estas.

* Aproximado porque se puede presentar corrimiento en los picos dependiendo de la composición de la cera.

Tabla 18. Bandas características de las muestras de cera y las vibraciones de los enlaces asociados a estas.

Número de onda	Enlace	Tipo de vibración
721	-(CH ₂) _n (n>3)	Balanceo simétrico en el plano
887	C-H (aromáticos)	Deformación fuera del plano
1050	-C-O (alcoholes)	Vibración de estiramiento
1167	C=O (ésteres)	Vibración de estiramiento
1240	-CH ₂	Deformación simétrica
1377	-C-H	Flexión simétrica
1467	-CH ₃	Flexión simétrica en el plano
1645	-C=CH ₂ y -C=C-	Flexión simétrica y estiramiento
1735	C=O	Vibración de estiramiento
2845	-CH ₂ -	Estiramiento simétrico
2917	-CH ₂ -	Estiramiento asimétrico
3395	-O-H	Estiramiento

El espectro de la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) que se muestra en la Figura 26 coincide con los espectros reportados en la literatura[82], puesto que las similitudes se presentan en los picos de mayor intensidad (cuatro en total) de la región dactilar del espectro; estos picos están comprendidos en los siguientes números de onda: 1735, 1466, 1167 y 722 cm⁻¹. La principal característica de este espectro, son los picos representativos de los hidrocarburos ya que en el caso de la muestra su composición corresponde a un 94,15% de hidrocarburos, ésteres grasos 5,01% y ácidos 0,84% de acuerdo con lo reportado en la Tabla 3.

Adicionalmente, a las bandas de los enlaces mencionados anteriormente, otro pico representativo es el de los dobles enlaces C=C que pueden estar solapados con la flexión simétrica de enlaces =CH₂ de grupos vinílicos y que su relación también cambia en varios de los espectros. Al igual que el pico representativo de los compuestos carbonílicos, se observa variación en la altura máxima y hombros alrededor de esta, posiblemente causados por ensanchamiento de picos correspondientes a diferentes tipos de compuestos vinílicos presentes en esta muestra.

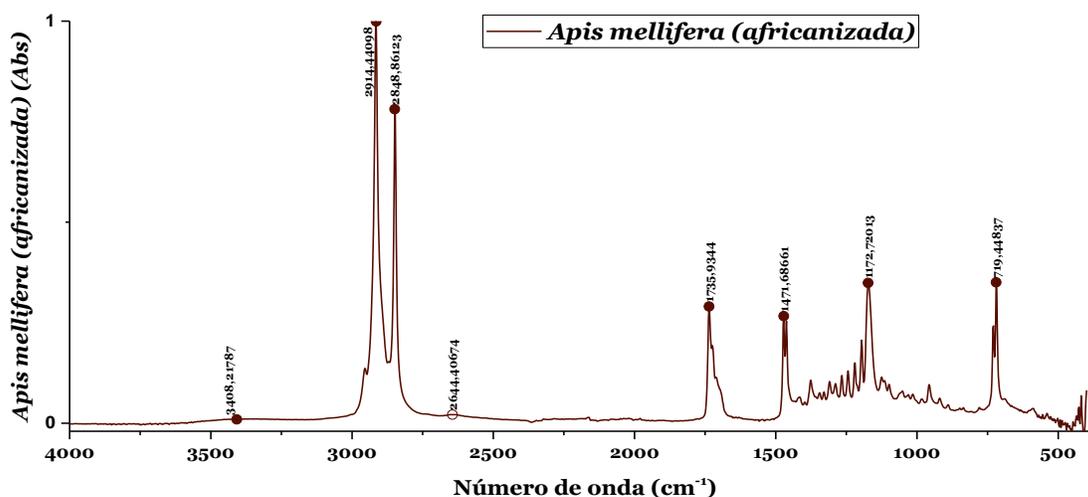


Figura 26. Espectro FT-IR de cera de *Apis mellifera* (africanizada).

En los espectros mostrados en la Figura 27, correspondientes a las muestras de cera de *Trigona angustula*, se observa que el espectro de las muestras de involucro y cría son similares entre ellos, con un ligero aumento en la altura de los picos diferentes a los de las cadenas alifáticas en la muestra de involucro respecto a la de cría, y se diferencian del de alimento por las variaciones que este último presenta en la altura de los picos a 1054, 1244, 1374, 1462, 1641, 1741 y 3371 cm^{-1} ; es decir, en la totalidad del espectro, reflejando que esta muestra presenta mayor fracción de compuestos insaturados (dobles enlaces en general) y grupos carbonilos que las de cría e involucro; debido a que aumenta la proporción de los picos correspondientes a enlaces C-O, C=C, C=O y O-H con respecto a los picos de las cadenas alifáticas en 2845 y 2917 cm^{-1} , y esta misma diferencia también se expresa aunque en menor medida entre los espectros de cría e involucro; dado que en los picos del espectro de la muestra de cría para los números de onda mencionados, se presenta menor proporción en estos con respecto a los picos de las cadenas alifáticas en comparación con las proporciones que se mantienen en la muestra de involucro, y para estas dos muestras se tiene los análisis de composición y evidentemente la muestra de alimento presenta mayor cantidad de terpenos que la de involucro (Tabla 11), compuestos que aportan vibraciones de enlaces C=C, C=O, C-O y O-H.

En el intervalo de onda comprendido entre 1025 cm^{-1} y 1085 cm^{-1} , se observa un duplete en todas las muestras, que en el caso de la muestra de involucro se resuelve un poco más que en las otras dos muestras posiblemente a causa de menor tipo de vibraciones diferentes. Este duplete se debe a vibraciones combinadas de enlaces C-O de los diferentes compuestos presentes en las muestras, como es el caso de combinaciones de las vibraciones de estos enlaces en ácidos carboxílicos, ésteres y alcoholes; ya que todos ellos presentan vibraciones en el intervalo de onda mencionado, pero dependiendo del compuesto este se desplaza un poco. Adicionalmente, se puede deducir que la muestra de cría está compuesta por menor cantidad de terpenos (o que tiene mayor contenido de hidrocarburos), debido a que el pico en 887 cm^{-1} correspondiente a vibraciones de los enlaces C-H en los anillos aromáticos, es

mayor en el de cría que en el de involucro y menor que en el de alimento, de tal manera que es consistente con el análisis GC-MS (Figura 15).

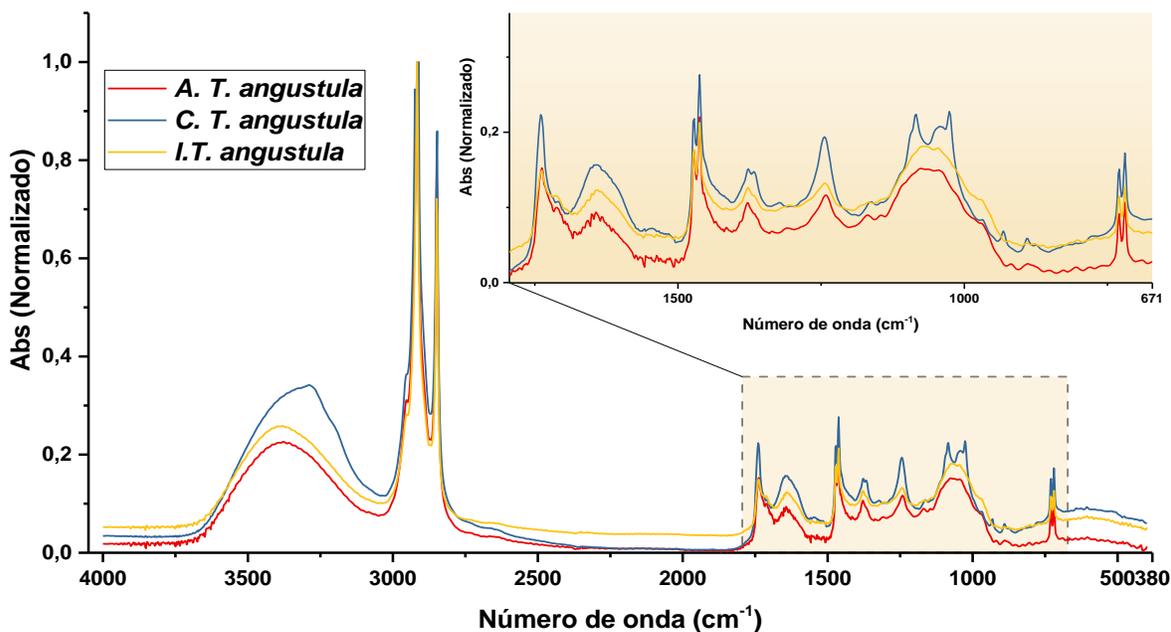


Figura 27. Espectros FT-IR de ceras de *Trigona (Tetragosnisca) angustula*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro

Los espectros IR de las muestras de involucro, cría y alimento de la especie *Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera* (Figura 28) son muy similares entre sí, no obstante, se pueden apreciar incrementos que sobresalen en los picos de los enlaces C=O, C=C y en la banda de los enlaces O-H alrededor de 1735, 1645, 1055 y 3395 cm^{-1} respectivamente. Estos incrementos, se observan en los espectros de cría y alimento con respecto al de involucro; esta tendencia también se presenta en los espectros de las muestras de *Trigona angustula* (Tabla 13).

Finalmente, comparando los espectros de las muestras de *Trigona angustula* con los espectros de las muestras de *Trigona nigra paupera*, estos últimos presentan menor proporción de los picos correspondientes a las cadenas carbonadas, resultados que concuerdan con lo reportado en la Tabla 11, Tabla 13, Figura 15, y Figura 17. Adicionalmente, los terpenos detectados son aromáticos y el pico que permite identificar este grupo, es el que se encuentra alrededor de 887 cm^{-1} . En los espectros de las muestras de *Trigona nigra paupera* su altura es de menor intensidad que en los de *Trigona angustula*.

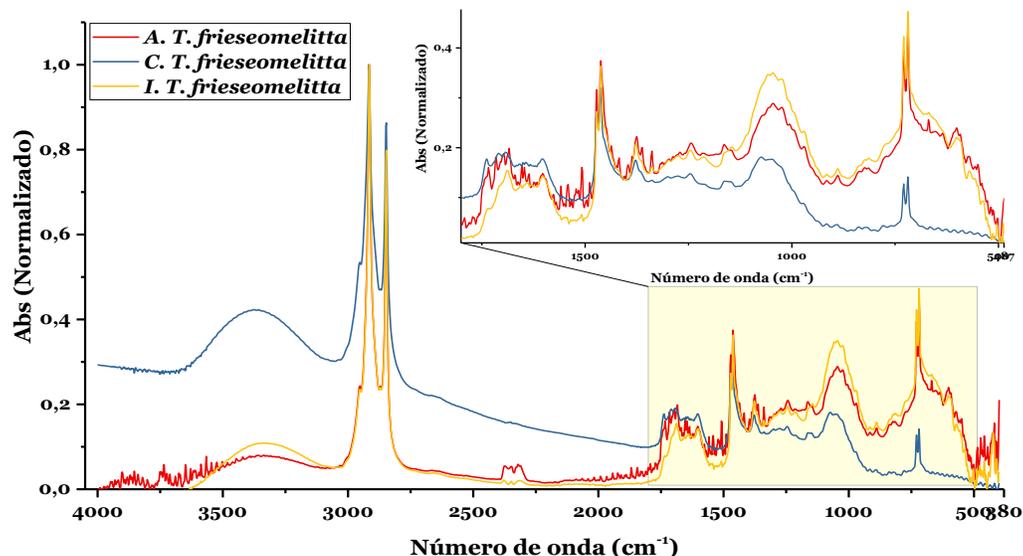


Figura 28. Espectros FT-IR de ceras de *Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro

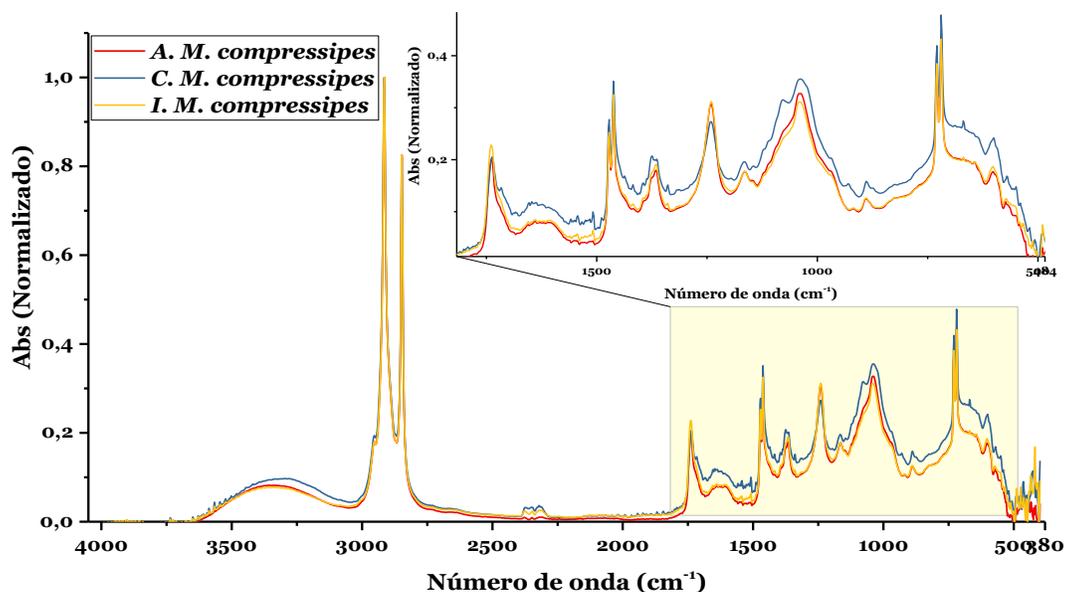


Figura 29. Espectros de ceras de *Melipona compressipes*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro

En los espectros IR de las muestras de cera de *Melipona compressipes* de la Figura 29, no se observan mayores diferencias entre ellos, la fracción, relación y ubicación de los picos es similar; solo se aprecia un leve incremento de las bandas O-H y C-O en el espectro de cría con respecto a las otras dos. La similitud entre las muestras concuerda con la composición química determinada en el análisis MS-GC, y las pequeñas variaciones como las que se presentan en su composición en la Tabla 4, Tabla 5, y la Figura 9.

Los espectros en la Figura 30 pertenecientes a las muestras de las diferentes partes del nido de *Melipona fuscipes*, son similares entre sí, y se asemejan a los de *Melipona compressipes*,

en cuanto a que se mantiene la proporción en la altura de los picos; sin embargo, hay unas diferencias notables entre ellos en el pico correspondiente a los grupos carbonilos principalmente y en las bandas de los O-H que en el espectro de la muestra de potes de alimento se presenta mayor intensidad que en los otros dos.

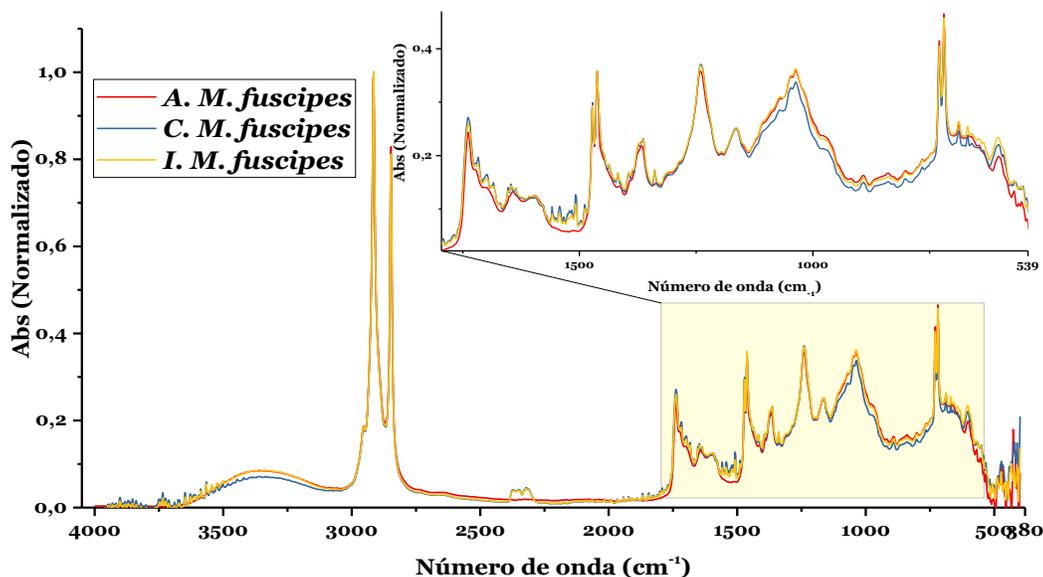


Figura 30. Espectros de las ceras de *Melipona fuscipes*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro

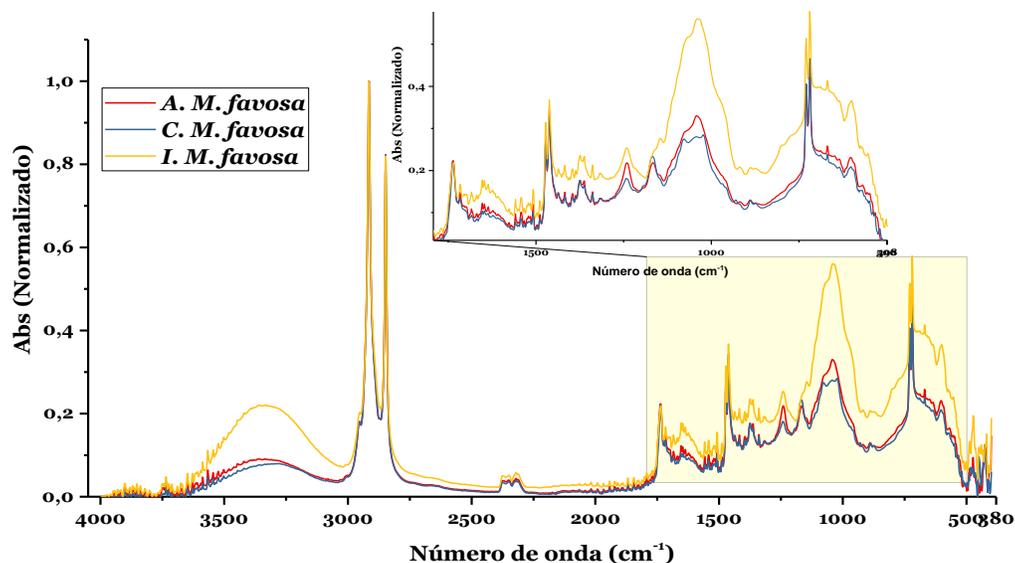


Figura 31. Espectros FT-IR de las ceras de *Melipona favosa favosa*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro

En concordancia con el análisis GC-MS, los espectros de *Melipona favosa favosa* que se muestran en la Figura 31, la muestra de involucro presenta diferencias con la de cría y alimento específicamente en la intensidad de la altura de los picos correspondientes a las vibraciones de los enlaces C-O, O-H, C=O y C=C. Esto puede atribuirse a la alta proporción

de terpenos en la muestra de involucro, pues la fracción de estos compuestos en esta muestra es de 40,10% mientras que, en las demás muestras es menor al 8%; además, la fracción de hidrocarburos en la muestra de involucro es de 8,95% (Tabla 6 y

Tabla 7).

Entre las muestras de las especies pertenecientes al género *Melipona*, los espectros de las muestras que más se asemejan son los de *Melipona compressipes* con *Melipona fuscipes*. Los espectros de las muestras de *Melipona favosa favosa* difieren de forma apreciable de las otras dos en las muestras de involucro ya que aumenta considerablemente la proporción de los enlaces C-O, O-H, C=O y C=C con respecto a la intensidad del pico de las cadenas carbonadas (2917 cm^{-1} aproximadamente). Las intensidades de los picos en los espectros de las muestras de alimento y cría de *Melipona favosa favosa* son similares entre ellas y difieren de las de *Melipona fuscipes* y *Melipona compressipes*.

Los espectros de *Nanotrigona* sp. (Figura 32), presentan un perfil similar a las demás muestras de la tribu Meliponini, en estos sobresale la muestra de involucro que presenta mayor intensidad en la altura de los picos correspondientes a las vibraciones de los enlaces C-O, C=O y C=C con respecto al pico máximo de las cadenas carbonadas en comparación con las demás muestras. Cabe resaltar que esta muestra está conformada de manera predominante por terpenos (87,48%); por lo que, se corrobora este resultado.

En los espectros de alimento y cría de *Nanotrigona* sp., se observa que son similares entre ellos, ya que las proporciones entre la altura de los picos característicos de estas muestras se mantienen semejantes y concuerdan con el análisis de composición química mostrado en la Tabla 15 y la Figura 19. En cuanto a la muestra de entrada, que no se le realizó análisis de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, esta presenta menor proporción en la altura de los picos correspondientes a las vibraciones de los enlaces C-O, O-H, y C=C; por lo que puede decirse que esta muestra contiene menor cantidad de ésteres y alcoholes que las muestras de alimento y cría; sin embargo, la altura del pico en 1735 cm^{-1} se encuentra a la misma altura que los de las muestras de alimento y cría, por lo que puede considerarse que esta muestra contiene igual cantidad de ésteres que estas otras dos muestras y por la diferencia en los otros picos mencionados anteriormente, que tiene mayor fracción de hidrocarburos.

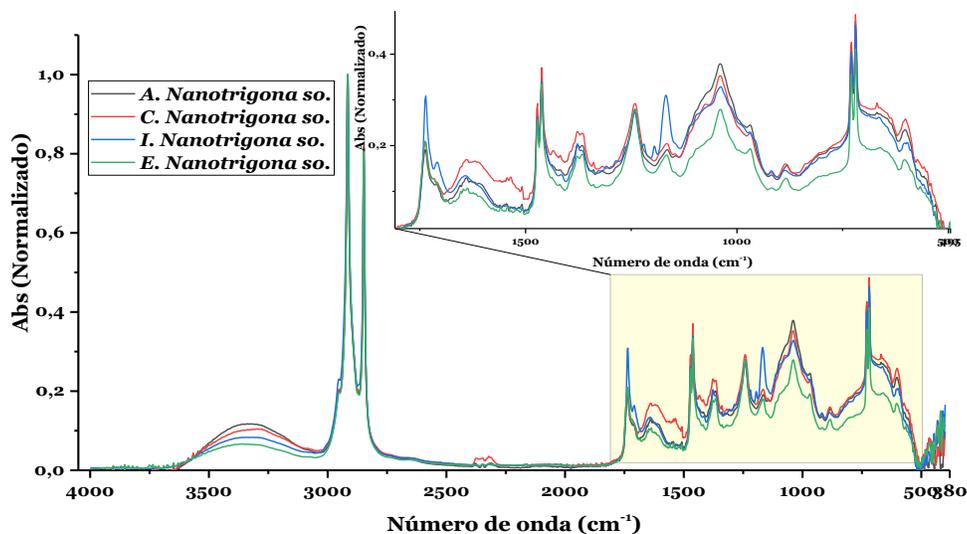


Figura 32. Espectros FT-IR de las ceras de *Nanotrigona* sp.. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro; E: muestra de entrada.

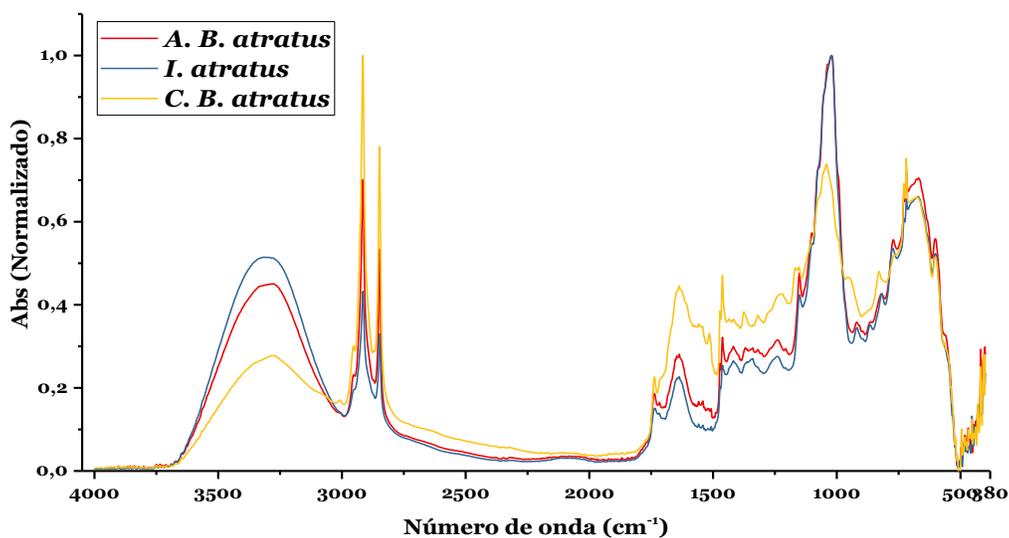


Figura 33. Espectros FT-IR de las ceras de *Bombus (Fervidobombus) atratus*. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro

Los espectros de *Bombus (Fervidobombus) atratus*, presentan diferencias bastante marcadas con respecto a las demás muestras, especialmente en el incremento del área de los picos correspondientes a los enlaces O-H en 3395 cm^{-1} y de los enlaces C-O en 1055 cm^{-1} . En la Figura 33 se puede evidenciar que en los espectros de las muestras de alimento e involucro el pico que presenta mayor altura es el que se encuentra en 1021 cm^{-1} , pico que corresponde a vibraciones C-O. sin embargo, en el análisis de composición química de esta muestra no se encontró en tal proporción compuestos que presenten este tipo de vibraciones, los únicos compuestos detectados en estas muestras que presentan enlaces C-O son ésteres y ácidos, y estos se encuentran en muy baja proporción, incluso menor que en la muestra de *Apis mellifera* (africanizada); por lo que acorde a la composición (CG-MS), se esperaría que los espectros de estas muestras sean similares al de *Apis mellifera* (africanizada). Es posible que

estas muestras contengan compuestos volátiles que se eliminaron durante el proceso de preparación de las muestras para el análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas ya que durante el proceso de calentamiento en el análisis térmico se puede observar que estas muestras pierden entre el 3,5 y 7,5% en peso en el intervalo de fusión, proceso que alcanza una temperatura máxima alrededor de 60°C.

Los espectros IR de las muestras de cera para las especies *Melipona favosa favosa*, *Melipona fuscipes*, *Melipona compressipes*, *Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera*, *Trigona (Tetragosnisca) angustula* y *Nanotrigona* sp., presentan las mismas bandas características en los mismos números de onda; solamente varía la intensidad de algunas de estas con respecto a las demás.

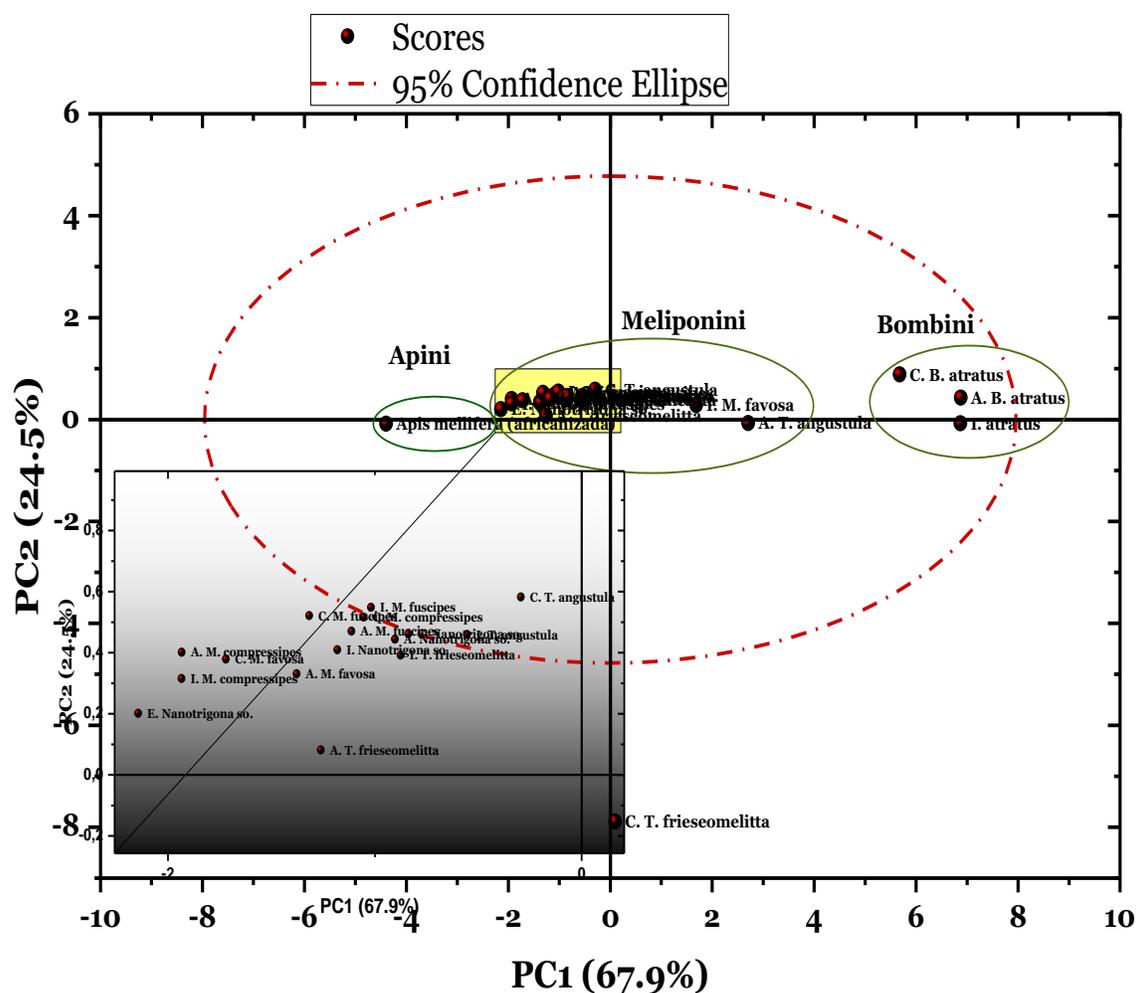


Figura 34. Gráfico biplot del análisis de componentes principales de los espectros IR. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro

Los espectros de las muestras de *Bombus (Fervidobombus) atratus* y *Apis mellifera* (africanizada) presentan diferencias notablemente visibles entre ellas y las demás muestras, esto evidencia los contrastes en la composición de las ceras entre las diferentes tribus

analizadas (Apini, Meliponini y Bombini). A excepción de la muestra de involucro de *Bombus atratus*, en los demás casos, el pico máximo se presenta a 2926 cm^{-1} que corresponde a las vibraciones de estiramiento asimétrico de los enlaces C-H de las cadenas carbonadas; las diferencias generales en los espectros se observan principalmente en los picos a 3395 cm^{-1} , 1735 cm^{-1} , 1645 cm^{-1} , 1467 cm^{-1} y 1055 cm^{-1} que corresponden a vibraciones de los enlaces O-H, C=O, C=C, CH₃ y C-O.

El análisis de componentes principales de los espectros infrarrojo muestra la relación existente entre los espectros de las muestras y corrobora la diferencia visible entre los espectros de las diferentes tribus a las que pertenecen las muestras y a la vez, evidencia la relación entre las muestras de las mismas tribus. Esto sugiere entre otras palabras, que la composición de las ceras pertenecientes a una misma tribu es similar en comparación con las de otras tribus.

El gráfico biplot de la Figura 34 evidencia que las muestras más relacionadas entre sí son las muestras entre la tribu Meliponini, y las menos relacionadas son las muestras de la tribu Apini con las de la tribu Bombini. Las agrupaciones del gráfico biplot de la Figura 34 es similar al clúster de la Figura 24 ya que las muestras más desagrupadas dentro de una misma especie son las de *Nanotrigona* sp. y *Melipona favosa favosa*. Las muestras más agrupadas dentro de la misma especie son las de *Melipona compressipes*, *Melipona fuscipes*, *Trigona angustula* y *Bombus atratus*.

4.3 ANÁLISIS TÉRMICO

4.3.1 PROCESO DE FUSIÓN

De acuerdo con lo expuesto por Buchwald y colaboradores[46], la cera de abejas no presenta una temperatura de fusión definida como suele presentarse con otras sustancias (principalmente las sustancias “puras”), si no que el proceso de fusión se da en un intervalo de temperatura en el cual pueden presentarse diferentes transiciones como puede observarse en la Figura 35; en esta figura, se observan hasta dos máximos en el intervalo de fusión y en algunas muestra pueden presentarse hasta tres máximos en este proceso y estos se hacen más evidentes en los proceso de enfriamiento y recalentamiento. Por ende, para el presente trabajo la temperatura de referencia en el proceso de fusión de las ceras es la temperatura de inflexión del proceso, que se calculó de igual forma que la temperatura de fusión para comparar estos valores con los reportados en la literatura.

Tabla 19. Temperatura promedio del punto de inflexión del intervalo de fusión en los procesos de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Muestra	Calentamiento		Enfriamiento		Recalentamiento	
	T inflexión (°C)	SD	T inflexión (°C)	SD	T inflexión (°C)	SD
A. <i>Nanotrigona</i> sp.	67,47	0,40	67,29	0,33	74,93	0,04
C. <i>Nanotrigona</i> sp.	66,73	1,76	65,88	0,34	74,01	0,23
I. <i>Nanotrigona</i> sp.	69,09	0,86	70,94	3,78	73,50	3,34
E. <i>Nanotrigona</i> sp.	69,45	0,83	67,89	0,18	74,66	0,05
A. <i>M. favosa favosa</i>	60,06	0,90	70,16	0,13	58,82	1,47
C. <i>M. favosa favosa</i>	61,21	1,95	64,34	7,86	65,17	7,11
I. <i>M. favosa favosa</i>	64,71	6,42	72,94	0,83	67,37	5,90
I. <i>M. compressipes</i>	64,38	0,55	67,57	3,15	64,64	2,76
A. <i>M. compressipes</i>	63,77	1,74	69,39	1,11	62,38	2,56
C. <i>M. compressipes</i>	63,19	0,89	70,11	1,45	61,96	0,84
A. <i>M. fuscipes</i>	54,12	0,57	54,15	0,26	61,63	0,31
C. <i>M. fuscipes</i>	54,02	0,67	54,19	0,37	60,06	2,80
I. <i>M. fuscipes</i>	54,11	0,40	54,22	0,19	62,26	0,52
A. <i>T. angustula</i>	56,35	1,85	65,16	0,40	54,41	0,06
C. <i>T. angustula</i>	66,81	1,70	71,14	0,29	64,68	0,34
I. <i>T. angustula</i>	60,43	0,72	68,58	0,41	60,60	0,59
A. <i>T. nigra paupera</i>	54,31	5,17	59,62	7,48	54,38	5,86
C. <i>T. nigra paupera</i>	54,15	2,73	51,56	0,84	63,68	0,06
I. <i>T. nigra paupera</i>	60,11	2,53	53,60	5,70	65,96	0,71
A. <i>B. atratus</i>	43,04	0,90	46,42	0,47	42,77	1,04
C. <i>B. atratus</i>	41,68	1,89	47,00	1,00	42,07	1,48
I. <i>B. atratus</i>	41,79	1,10	44,74	3,34	43,92	1,89
<i>Apis mellifera</i> (africanizada)	57,50	2,00	52,98	5,00	59,76	3,75

La Tabla 19 y la Figura 36 muestran las temperaturas del punto de inflexión en el intervalo de fusión para todas las muestras al ser sometidas al proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento. Se puede apreciar que las muestras que presentan mayor temperatura de fusión son las ceras de *Nanotrigona* sp., y en el orden le siguen *Melipona compressipes*, *Melipona favosa favosa*, *Apis mellifera* (africanizada), *Trigona angustula*, *Trigona nigra paupera*, *Melipona fuscipes* y *Bombus atratus*.

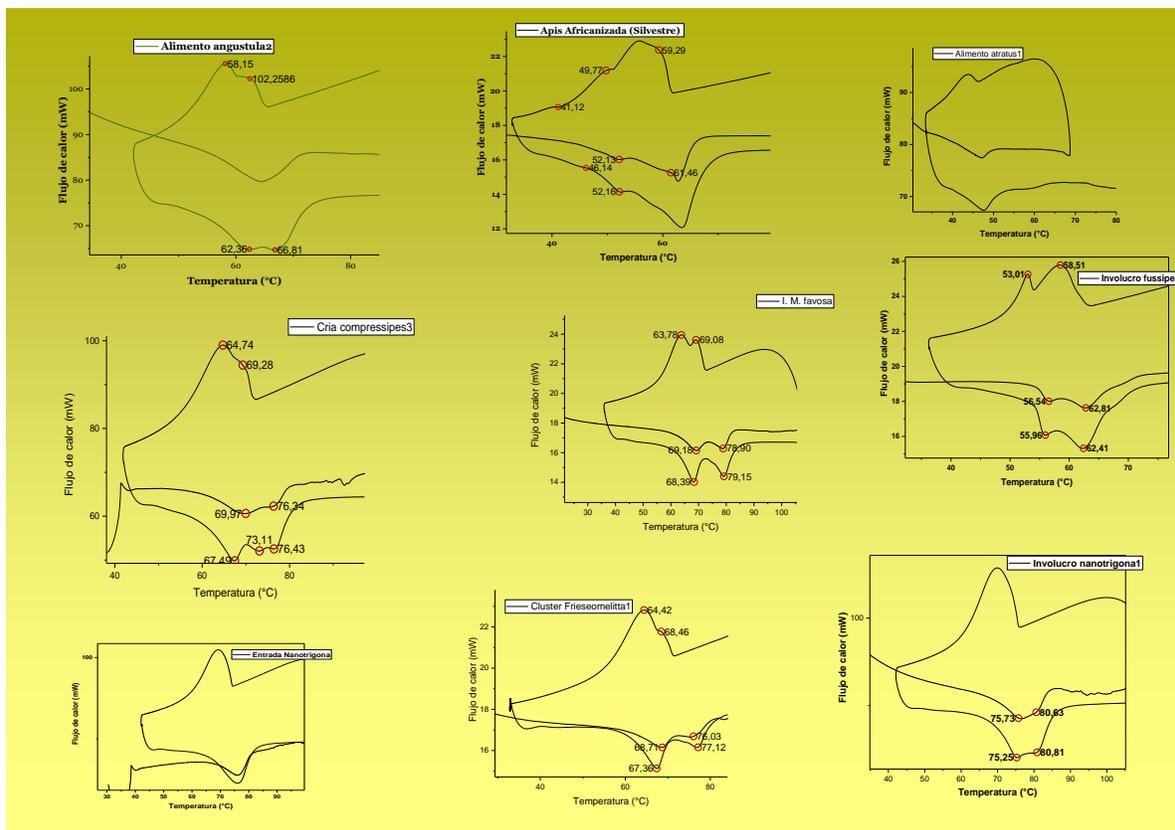


Figura 35. Proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento las muestras para cada una de las especies analizadas.

La Figura 36 muestra en orden descendente la temperatura de inflexión del proceso de fusión en función del tipo de muestra, en esta se observa que la temperatura de inflexión del proceso de enfriamiento y recalentamiento son mayores que la temperatura de inflexión del proceso de calentamiento, esto puede presentarse posiblemente por los compuestos más volátiles que pierde la muestra durante el primer proceso de calentamiento, y por lo tanto, los componentes restantes funden a mayor temperatura; esto puede evidenciarse por la pérdida de masa que en las muestras analizadas oscila entre 3,5 y 7,5% (Figura 39).

Como consecuencia de esto, no se observa el proceso de histéresis en la temperatura de inflexión que es común en muestras con variedad de componentes como en este caso, no obstante, como se evidencia en la Figura 41 C, este fenómeno puede observarse en la temperatura del pico máximo de fusión; y para las muestras analizadas en las que se presenta este fenómeno, hay una desviación de 3,1 °C a 7,6 °C entre la temperatura del pico máximo de fusión del proceso de calentamiento y la temperatura del pico máximo en el proceso de enfriamiento. Como se evidencia en la Figura 41 C, las muestras que presentan mayor diferencia de temperatura debido a la histéresis son las de mayor complejidad en su composición, entre las que se encuentran, las de *Melipona compressipes*, *Melipona favosa*, *Trigona angustula* y *Trigona nigra paupera*, y las que presentan menor histéresis son las de *Bombus atratus*, *Melipona fuscipes*, *Apis mellifera* (africanizada) e involucro de *Nanotrigona* sp.; ya en el caso de las otras muestra *Nanotrigona* sp., no se observan diferencias en estas temperaturas.

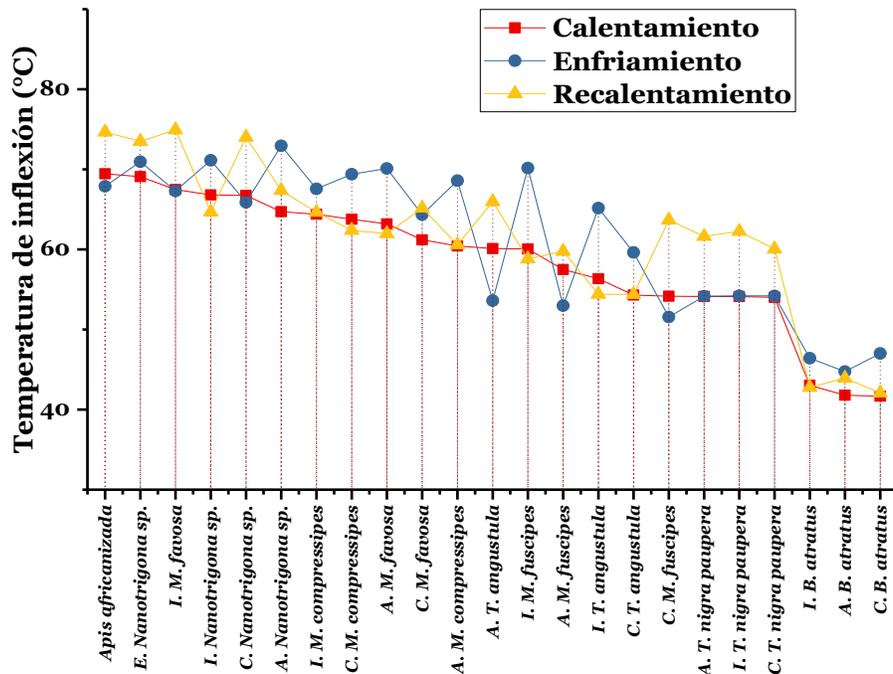


Figura 36. Temperatura de inflexión promedio del intervalo de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucreo.

Son diversos los trabajos reportados en la literatura para la temperatura de fusión de la cera de *Apis mellifera* (africanizada), entre estos, se encuentran los realizados por J. Morgan y colaboradores que reportan temperatura de fusión entre 62°C y 65°C[30]; B. Milborrow y colaboradores reportan temperatura de fusión entre 63°C y 64°C[64] y A. Tulloch en 1980, reportó temperatura de fusión entre 63°C y 65°C[83]. Los autores mencionados anteriormente, reportan estas temperaturas como la variación en diferentes mediciones de esta, no como un intervalo de temperaturas de fusión como en el caso del trabajo realizado por R. Buchwald y colaboradores quienes expresan el intervalo de fusión (temperatura inicial y temperatura final) para la muestras de cera y en el caso de las muestras de *Apis* que ellos analizaron reportan un intervalo de 40 a 67 °C con una temperatura del pico máximo de fusión de 64,6 °C; estas temperaturas coinciden con las encontradas para la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) analizada en el presente trabajo, pues para esta se encontró en promedio una temperatura inicial de 47,83 °C, final de 68,27 °C (Figura 37) y la temperatura del pico máximo es de 63,03 °C y la temperatura de inflexión fue de 57,50 °C (Tabla 19).

En cuanto a las muestras del género *Melipona* solamente se ha encontrado el trabajo realizado por R. Buchwald y colaboradores, en el que se reportan intervalos de fusión entre 55,8 y 76,7 °C en las muestras que ellos analizaron (*Melipona quadrifasciata* Lepeletier y *Melipona beecheii* Bennett), estas temperaturas, en promedio son mayores que las encontradas en el presente trabajo para las muestras de *Melipona fuscipes*, como se observa en la Figura 37, el intervalo de fusión promedio para las muestras de esta especie se encuentra entre 52,8 °C y 72,5 °C; en cuanto al intervalo del proceso de fusión para las muestras de *Melipona compressipes* y *Melipona favosa favosa*, estas presentan temperaturas mayores a las reportadas y por ende, mayores a las de *Melipona fuscipes*.

Para las muestras del género *Trigona*, en el trabajo de Buchwald y colaboradores reportan un intervalo de fusión entre 69,0°C y 85,3°C para *Nanotrigona testaeicornis* Iratim, intervalo que es similar al encontrado para *Nanotrigona* sp., determinado en el presente trabajo, aunque con una pequeña diferencia, puesto que la temperatura inicial encontrada en las muestras de *Nanotrigona* sp., está comprendida entre 61,3°C y 63,7°C, valores menores al reportado en la especie analizada por Buchwald. En cuanto al género *Trigona*, Buchwald y colaboradores reportan un intervalo de fusión comprendido entre 57,2°C y 75,0 °C para *Trigona angustula* Latreille y G. Blomquist y colaboradores reportan temperaturas de fusión entre 58°C a 59 °C* para *Trigona (Trigonisca) buyssoni* and *T. (T.) atomaria*[31], valores similares a los encontrados en el presente trabajo para *Trigona (Tetragonisca) angustula* y *Trigona (frieseomelitta) nigra paupera*; cuyos intervalos de fusión están comprendidos entre 50, 6°C y 73,9°C para *Trigona (frieseomelitta) nigra paupera* y entre 52,8°C y 78,8°C para las muestras de *Trigona (Tetragonisca) angustula*. De las muestras analizadas pertenecientes a la tribu Meliponini, las muestras del género *Nanotrigona* son las que presentan mayor temperatura de fusión en comparación con las temperaturas de este proceso para las muestras pertenecientes al género *Melipona* y *Trigona* (**Figura 37**).

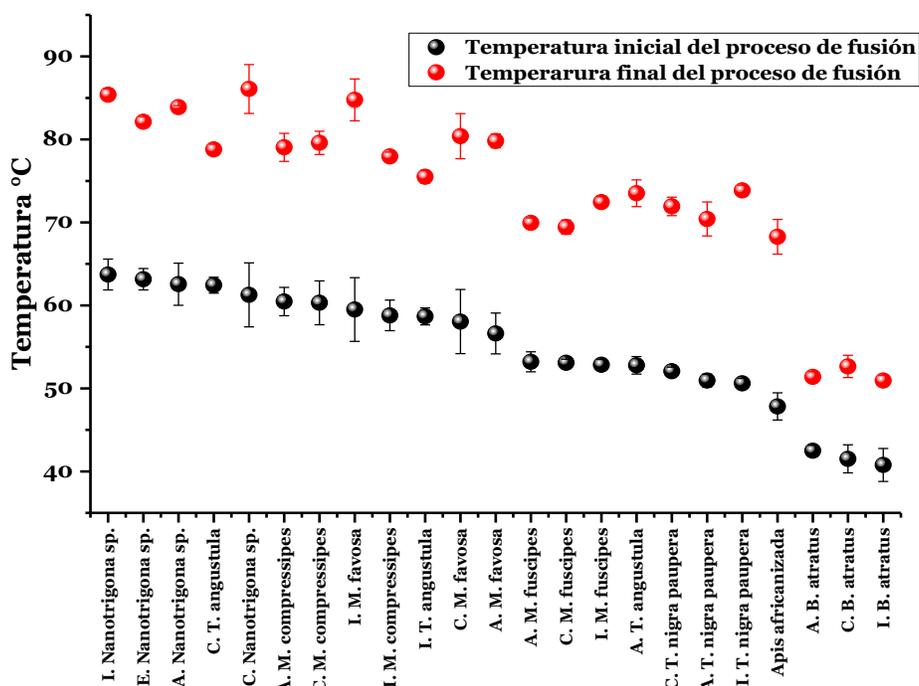


Figura 37. Temperatura inicial y final en el proceso de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Para el género *Bombus*, se han reportado temperaturas de fusión de entre 35°C a 45 °C por A. Tulloch en 1969[23] y, R. buchwald y colaboradores reportaron intervalos de fusión entre 29,4°C y 55,2 °C para *Bombus impatiens* Cresson y *Bombus rufocinctus* Cresson; valores de fusión que son comparables para los determinados en la muestra de *Bombus atratus* en el presente trabajo.

* Valores en los que oscila la temperatura de fusión para estas muestras, no es el intervalo.

En general, las temperaturas de fusión están acorde con las reportadas anteriormente para algunas de estas muestras en el trabajo titulado “Thermoanalytical and infrared spectroscopic investigations on wax samples of native Colombian bees living in different altitudes”[36], al igual que en el presente trabajo, se observa que las temperaturas del proceso de fusión en muestras pertenecientes a la tribu Meliponini y Apini son semejantes entre estas y las temperaturas de este proceso de la tribu Bombini son considerablemente menores respecto a las de estas otras dos tribus.

En cuanto a los calores de fusión que se presentan en la Tabla 20 y en la Figura 38 y

Figura 40, se observa que los menores valores corresponden a las muestras de *B. atratus*, (comportamiento similar al presentado en el proceso de fusión) y los valores más altos corresponden a las muestras de *Apis mellifera* (africanizada). En este caso, se deduce que los valores están agrupados por tribus, es decir, lo más altos; tribu Apini, valores intermedios, tribu Meliponini y los valores más pequeños tribu Bombini. Las desviaciones estándar aumentan en los procesos de enfriamiento y recalentamiento con respecto al primer proceso (calentamiento). Las muestras que presenta mayor dispersión en los calores de fusión son cría e involucro de *Melipona favosa favosa*. En la Figura 40, se observa que los valores del primer proceso de fusión son ligeramente menores que los de los otros dos procesos y los valores del proceso de enfriamiento y recalentamiento son similares entre ellos; esta tendencia corrobora lo argumentado en el análisis de la tendencia que se presenta en la Figura 36. Los valores máximos del calor de fusión corresponden a *Apis mellifera* (africanizada) seguido de alimento de las muestras de *Nanotrigona* sp., *Melipona favosa favosa* y *Melipona compressipes*.

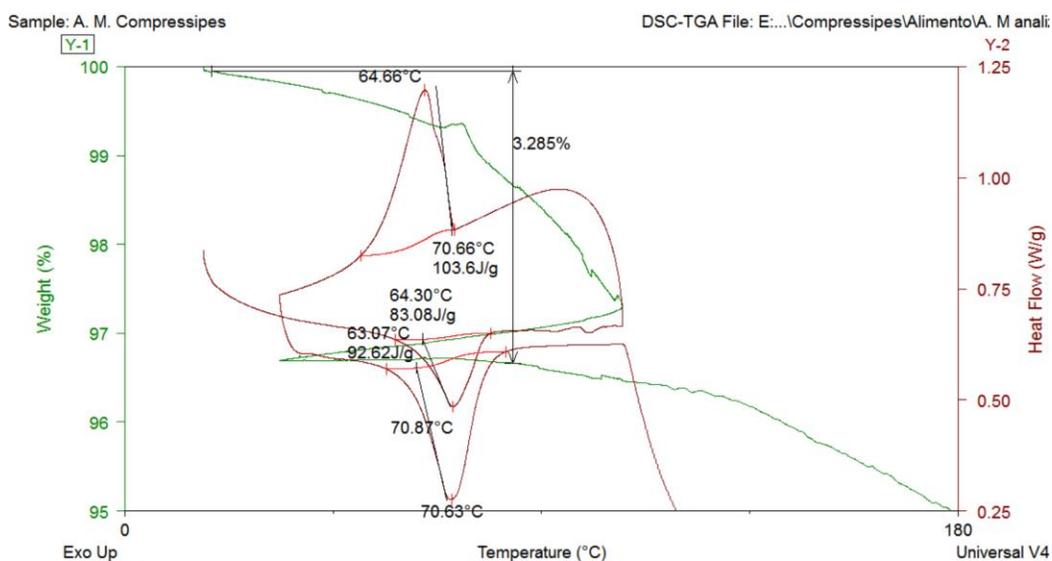


Figura 38. Termograma de los procesos de fusión y solidificación de una muestra de alimento de *Melipona compressipes*.

Como se evidencia en la Figura 38, durante el ciclo de fusión en todos los casos desde que inicia el calentamiento se presenta pérdida de masa, que en el método aplicado se da mayoritariamente en el proceso de calentamiento, ya durante el enfriamiento y recalentamiento continúa la pérdida de masa, aunque, en menor cantidad. Adicionalmente, las fluctuaciones de la señal de masa durante el proceso de fusión evidencian transiciones polimórficas de los componentes de las muestras durante el proceso de fusión.

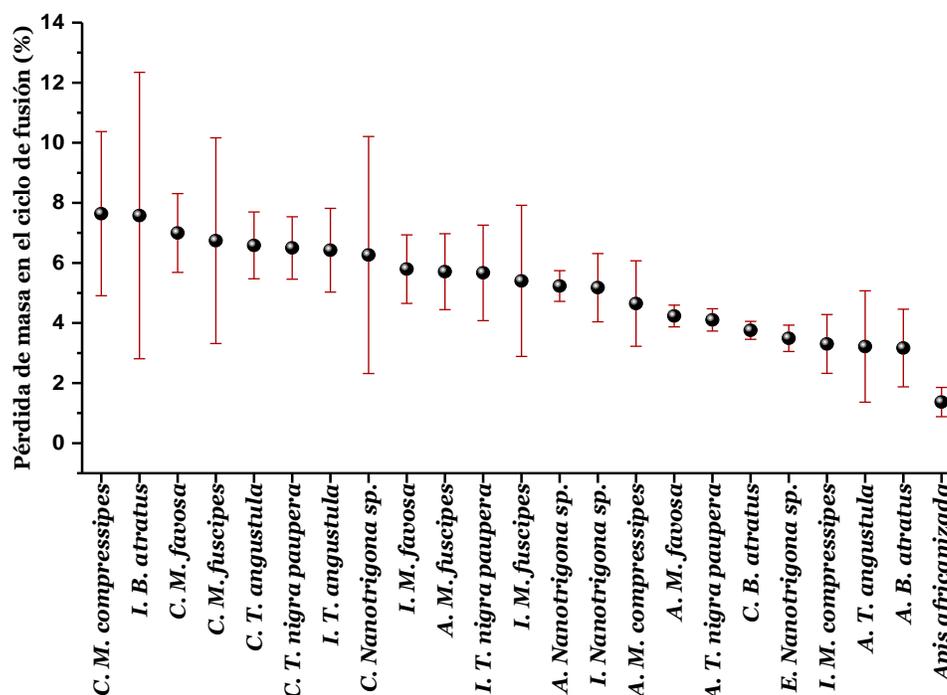


Figura 39. Pérdida de masa durante el proceso de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

La Figura 39 muestra la pérdida de masa con su respectiva desviación estándar en orden decreciente para el ciclo de fusión. En esta figura se puede apreciar que las muestras que presentan mayor pérdida de masa son: cría de *M. compressipes*, involucro de *B. atratus*, cría de *M. favosa*, cría de *M. fuscipes*, cría de *T. angustula*, cría de *T. nigra paupera*, involucro de *T. angustula*, cría de *Nanotrigona* sp., involucro de *M. favosa favosa*, alimento de *M. fuscipes*, involucro de *T. nigra paupera*, involucro de *M. fuscipes*, alimento de *Nanotrigona* sp. e involucro de *Nanotrigona* sp.; con pérdidas de masa mayores al 5%. Además de la pérdida de masa, en esta figura se observa que las desviaciones estándar son altas (comparables con el promedio) para la mayoría de las muestras.

De los compuestos que presentan mayor proporción en la mayoría de las muestras de cera analizadas, se encuentra el heneicosano que tiene un punto de fusión de 40,4 °C, seguido de docosano 43,8 °C, triconaso 47,4 °C, ácido tetracosanoico 82 °C, pentacoseno 96,6°C, pentacosano 53,3 °C, hexacosano 56,1°C, ácido tetracosanoico 82 °C, heptacosano 58,8 °C, octacosano 61,3 °C, nonacosano 63,7, triacontano 65,9 °C, hentriacontano 68 °C, tritriacontano 71,2 °C, entre otros, que tienen punto de fusión dentro del intervalo de fusión

de estas muestras. De los compuestos que se determinaron mediante el análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, no se encontró compuestos volátiles con temperaturas de ebullición por debajo de 100 °C que permita identificar los compuestos que se volatilizan durante el proceso de fusión de las muestras de cera; lo que implica que estos compuestos se volatilizan durante el proceso de preparación de la muestra para el análisis GC-MS.

Dadas las desviaciones estándar que se presentan en la temperatura de fusión del proceso de enfriamiento y recalentamiento, se aplicó análisis de varianza ANOVA de un factor a un nivel de significancia del 0,05 solamente a los valores de temperatura de fusión del proceso de calentamiento de todas las muestras, encontrándose diferencias significativas entre las muestras analizadas.

El test *post-hoc* de Bonferroni revela que las diferencias significativas se dan entre las siguientes muestras: las muestras de *Bombus atratus* presentan diferencias significativas con todas las demás, todas las muestras de *Melipona fuscipes* con todas las muestras de *Melipona compressipes*, todas las muestras de *Nanotrigona* sp. y cría de *Trigona angustula*; involucro y cría de *Melipona fuscipes* con todas las muestras de *Melipona favosa favosa*; alimento y cría de *Melipona compressipes* con alimento y cría de *Trigona nigra paupera*; involucro de *Melipona compressipes* con alimento y cría de *Trigona nigra paupera*, *Apis mellifera* (africanizada) y alimento de *Trigona angustula*; alimento de *Melipona favosa favosa* con cría de *Melipona fuscipes*, cría de *Trigona angustula* y todas las muestras de *Nanotrigona* sp.; cría de *Melipona favosa favosa* con alimento y cría de *Trigona nigra paupera*, cría e involucro de *Nanotrigona* sp. y todas las de *Melipona fuscipes*; involucro de *Melipona favosa favosa* con alimento y cría de *Trigona nigra paupera*, alimento de *Trigona angustula*, *Apis mellifera* (africanizada) y todas las de *Melipona fuscipes*; involucro de *Trigona angustula* con cría de *Melipona fuscipes* y todas las muestras de *Nanotrigona* sp.; cría de *Trigona angustula* con alimento de *Trigona angustula*, cría y alimento de *Trigona nigra paupera*, *Apis mellifera* (africanizada) y todas las muestras de *Melipona fuscipes*; alimento de *Trigona angustula* con todas las muestras de *Nanotrigona* sp.; todas las muestras de *Nanotrigona* sp., con todas las muestras de *Trigona nigra paupera* y *Apis mellifera* (africanizada). De acuerdo con lo anterior, se presentan diferencias significativas en la temperatura de fusión entre muestras que pertenecen al mismo género, y, en las muestras que pertenecen a la misma especie sólo se encontró diferencias significativas dentro de las muestras de *Trigona angustula*.

Tabla 20. Entalpía de fusión promedio en los procesos de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Muestras	Calentamiento		Enfriamiento		Recalentamiento	
	$\Delta_{\text{fusiónH}}$ (J/g)	SD	$\Delta_{\text{fusiónH}}$ (J/g)	SD	$\Delta_{\text{fusiónH}}$ (J/g)	SD
A. <i>Nanotrigona</i> sp.	76,12	4,86	84,30	7,77	91,60	12,83
C. <i>Nanotrigona</i> sp.	77,75	6,05	79,09	3,28	80,67	3,16
I. <i>Nanotrigona</i> sp.	78,12	4,75	80,73	3,84	81,69	3,13
E. <i>Nanotrigona</i> sp.	79,42	4,26	87,56	1,97	89,61	1,67
A. <i>M. favosa favosa</i>	72,28	7,29	77,35	6,76	76,31	4,88
C. <i>M. favosa favosa</i>	70,88	15,08	88,21	13,39	83,94	8,33
I. <i>M. favosa favosa</i>	78,33	7,50	78,96	1,13	72,55	3,79
I. <i>M. compressipes</i>	67,84	5,64	74,08	3,21	74,92	8,12
A. <i>M. compressipes</i>	73,29	9,58	86,02	5,61	79,50	7,80
C. <i>M. compressipes</i>	74,15	6,10	87,20	9,73	84,96	4,26
A. <i>M. fuscipes</i>	54,32	4,35	61,59	5,23	68,06	6,05
C. <i>M. fuscipes</i>	48,29	5,07	58,71	3,69	65,81	6,68
I. <i>M. fuscipes</i>	58,58	1,64	64,35	3,30	66,51	0,32
A. <i>T. angustula</i>	64,48	1,70	61,88	4,80	66,68	1,51
C. <i>T. angustula</i>	52,64	5,74	61,97	6,89	60,05	2,63
I. <i>T. angustula</i>	52,73	2,41	56,89	6,93	53,71	2,44
A. <i>T. nigra paupera</i>	43,28	4,45	46,08	5,65	48,67	1,93
C. <i>T. nigra paupera</i>	35,96	5,04	46,47	5,77	44,34	8,30
I. <i>T. nigra paupera</i>	42,01	2,47	43,74	4,77	49,22	8,15
A. <i>B. atratus</i>	6,58	1,32	7,08	1,20	6,81	1,29
C. <i>B. atratus</i>	6,32	0,38	4,11	4,51	4,70	2,88
I. <i>B. atratus</i>	8,04	1,75	8,72	0,26	7,48	2,14
<i>Apis mellifera</i> (africanizada)	107,47	2,99	121,85	12,02	133,52	23,81

La Tabla 20 y la figura 30, muestran los valores promedio de la entalpía de fusión de todas las muestras para el proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento. En éstas, se puede observar que las muestras que presentan mayor entalpía de fusión son las muestras de *Apis mellifera* (africanizada), entrada de *Nanotrigona* sp., involucro de *Melipona favosa favosa* y le siguen las muestras de alimento, cría e involucro de *Nanotrigona* sp.

La

Figura 40 muestra en orden decreciente los valores de la entalpía de fusión en función de las muestras. Al igual que con la temperatura de fusión, los calores de fusión tienden a aumentar en el proceso de enfriamiento y recalentamiento debido a la pérdida de masa en las muestras, adicionalmente, se puede apreciar que a menor pérdida de masa menor desviación estándar y menor diferencia entre los valores de los procesos de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento (Figura 39 y Figura 41).

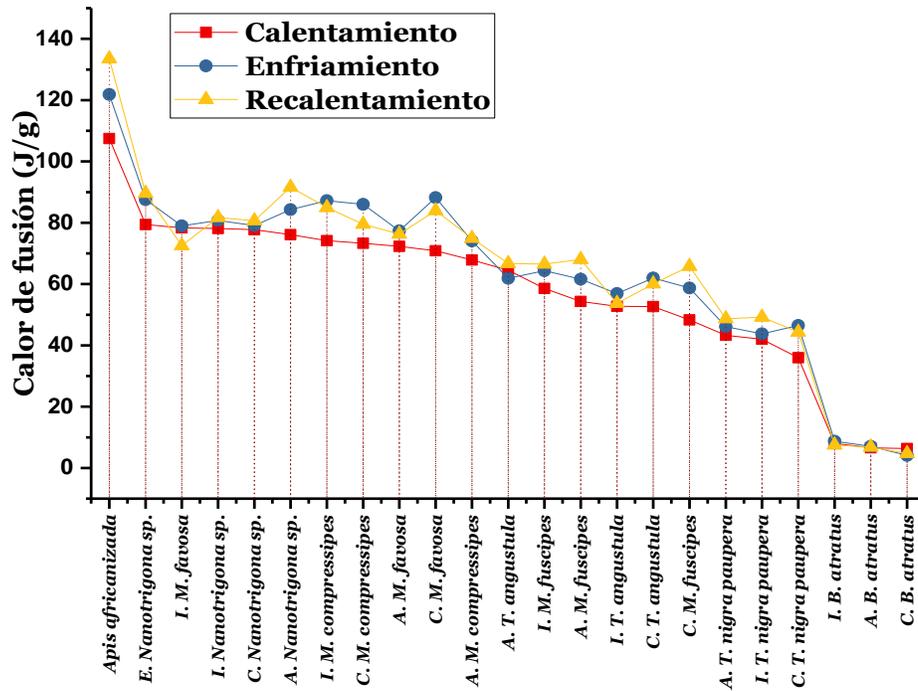


Figura 40. Calor de fusión promedio. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

En la Figura 41, se aprecia que la temperatura del pico máximo del intervalo de fusión presenta la misma tendencia de la temperatura de inflexión, mientras que el intervalo de fusión sigue un comportamiento similar al de calor de fusión; la diferencia radica en que los valores la temperatura de inflexión son similares en las muestras de las especies del género *Melipona* y género *Trigona*, por ello se encuentran más agrupadas y entre ellas se encuentra también la muestra de *Apis mellifera* (africanizada). En cuanto a los valores de calor de fusión, se observa que a mayor temperatura de inflexión mayor calor de fusión, lo cual también sucede con los valores de temperatura de inflexión (Figura 44) y temperatura del pico máximo del proceso de fusión; a excepción de la muestra de *Apis mellifera* (africanizada).

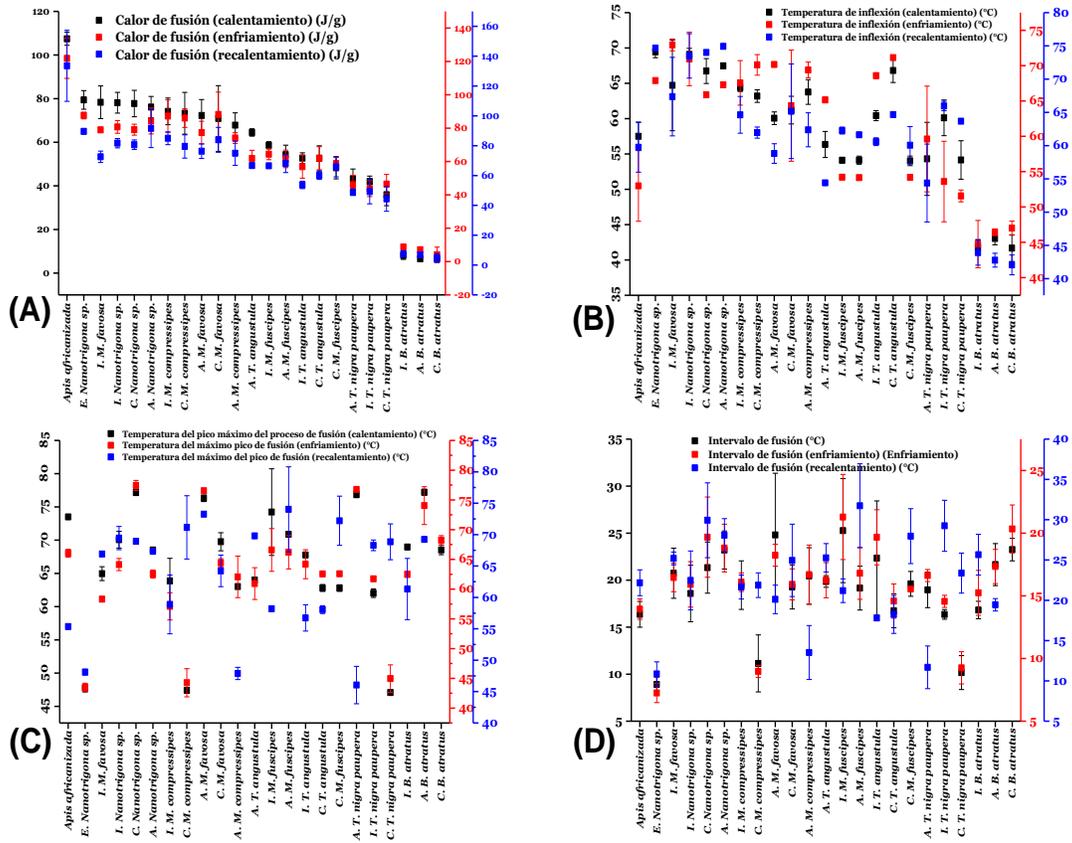


Figura 41. (A) Calor de fusión*, (B) temperatura de fusión, (C) temperatura del pico máximo de fusión y (D) intervalo de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucre.

De acuerdo con la Figura 42, los valores del calor de fusión presentan una tendencia normal, de modo que se puede realizar análisis estadísticos paramétricos con estos datos. En consecuencia, en el diagrama de cajas y la gaussiana, los valores de las muestras de *Bombus atratus* y *Apis mellifera* (africanizada) representan los mínimos y máximos respectivamente, quedando un agrupamiento de datos entorno a la media que son los pertenecientes a las muestras de la tribu Meliponini que están más sesgados hacia los valores de la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) que a los de las muestras de *Bombus atratus*. De igual manera, en esta figura también se puede apreciar que los valores medios del calor de fusión presentan un aumento en el proceso de enfriamiento y recalentamiento con respecto al primer proceso que es el calentamiento; de modo que se presenta un ensanchamiento en la gaussiana del proceso de recalentamiento con respecto al de enfriamiento y a la vez en el de enfriamiento con respecto al primer proceso (calentamiento), esta tendencia corrobora lo observado en la Figura 36 y Figura 40.

* Este proceso es exotérmico, por lo que desde el punto de vista termodinámico los valores son negativos. Se toman los valores positivos para comparar la magnitud del valor de la entalpía con los otros procesos.

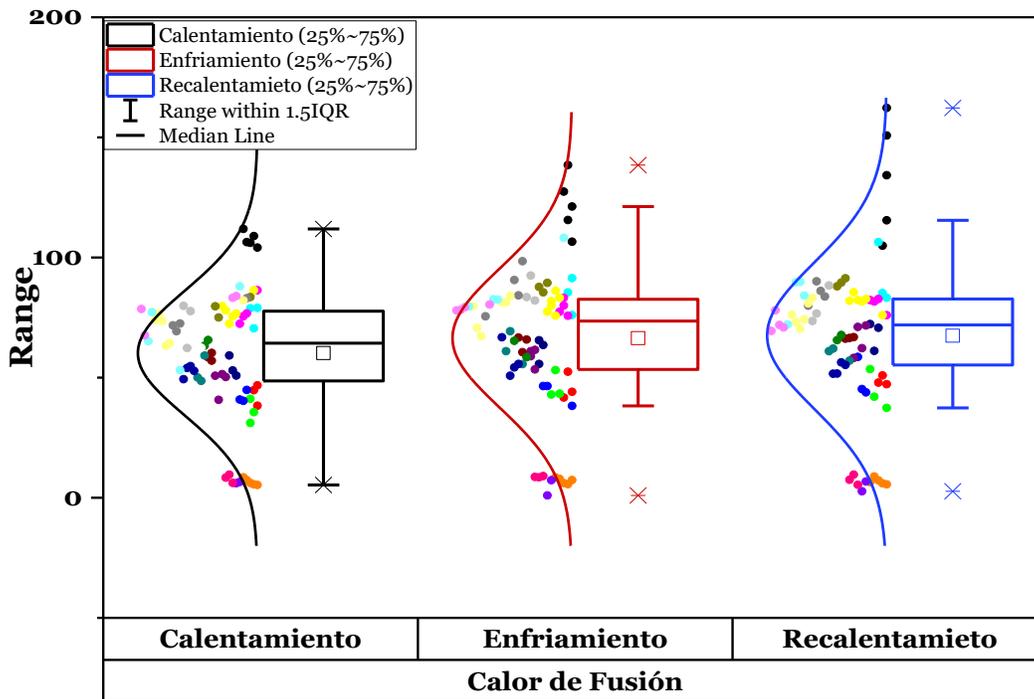


Figura 42. Distribución normal y diagrama de cajas y bigotes de los valores del calor de fusión en el proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro. Cada color representa una muestra diferente.

El análisis de varianza *ANOVA* de un factor a un nivel de significancia del 0,05 aplicado a los valores del calor de fusión del proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento de todas las muestras, revela que hay diferencias significativas entre las muestras en los tres casos mencionados.

Para el proceso de calentamiento, un test *post-hoc* de Bonferroni indica que las diferencias se dan principalmente entre la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) con todas las demás muestras, entre las muestras de *Bombus atratus* con la mayoría de las demás muestras y dentro de la misma especie se presentan diferencias significativas en *Trigona angustula* entre la muestra de alimento con la de cría e involucro y en *Melipona fuscipes* se presentan diferencias significativas entre la muestra de involucro y cría; en las demás especies no se presentan diferencias significativas entre sus muestras. En el proceso de enfriamiento dentro de las especies con el test *post-hoc*, sólo se observaron diferencias significativas en *Melipona fuscipes* entre la muestra de involucro con la muestra de cría, mientras que en el proceso de recalentamiento este mismo test revela diferencias significativas en *Trigona angustula* entre la muestra de involucro con la muestra de cría y alimento; y en *Melipona fuscipes* se presentan diferencias entre la muestra de involucro con la muestra de cría.

En el proceso de calentamiento para las muestras de cría el test *post-hoc* determinó que no hay diferencias significativas entre: *Trigona nigra paupera* con *Trigona angustula*,

Melipona fuscipes con *Trigona angustula*, *Melipona favosa favosa* con *Trigona angustula*, *Melipona compressipes* con *Trigona angustula*, *Melipona favosa favosa* con *Nanotrigona* sp., *Melipona compressipes* con *Nanotrigona* sp., y *Melipona favosa favosa* con *Melipona compressipes*. Estas diferencias se mantienen en el proceso de enfriamiento y de recalentamiento.

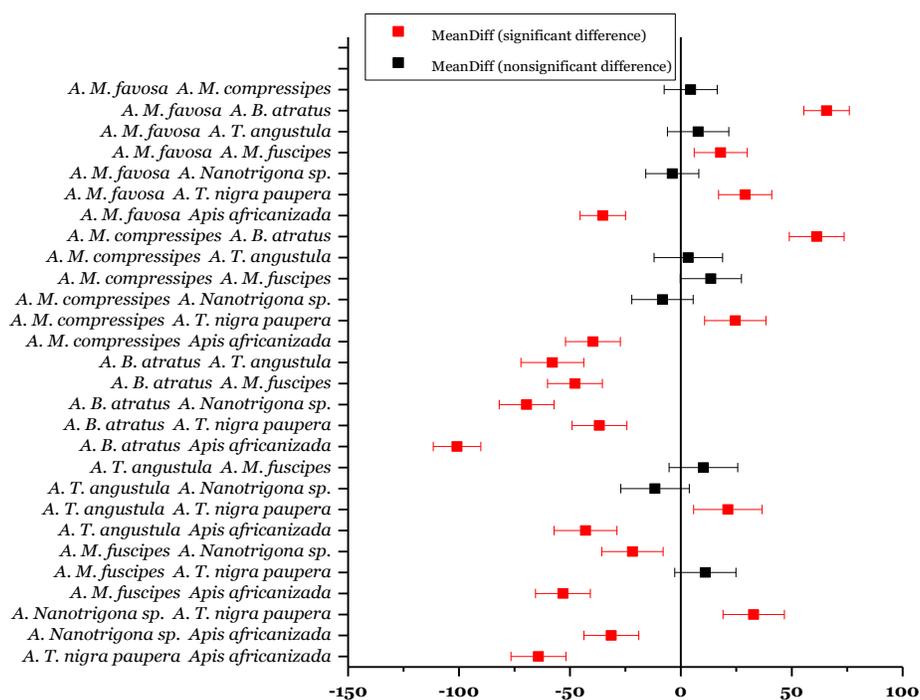


Figura 43. Test *post-hoc* de Bonferroni aplicado a las muestras de alimento en el proceso de calentamiento. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

El análisis ANOVA aplicado al proceso de calentamiento, enfriamiento y recalentamiento a las muestras de alimento, cría e involucro por separado; determina que hay diferencias significativas entre las muestras para los tres casos. En el proceso de enfriamiento en las muestra de alimento no se presentan diferencias significativas entre: *Melipona favosa favosa* con *Melipona compressipes*, *Melipona favosa favosa* con *Trigona angustula*, *Melipona favosa favosa* con *Nanotrigona* sp., *Melipona compressipes* con *Trigona angustula*, *Melipona compressipes* con *Melipona fuscipes*, *Melipona compressipes* con *Nanotrigona* sp., *Melipona fuscipes* con *Trigona angustula*, *Trigona angustula* con *Nanotrigona* sp. y *Melipona fuscipes* con *Trigona nigra paupera*. En el proceso de enfriamiento se observa el mismo resultado para las muestras de alimento, mientras que en el proceso de recalentamiento en las muestras de alimento las diferencias significativas se dan principalmente entre muestras de diferentes tribus.

En las muestras de involucro, el test *post-hoc* para el proceso de calentamiento determinó que no hay diferencias significativas entre: *Trigona angustula* con *Nanotrigona* sp., *Melipona fuscipes* con *Trigona angustula*, *Melipona favosa favosa* con *Nanotrigona* sp., *Melipona compressipes* con *Nanotrigona* sp., *Nanotrigona* sp., con *Bombus atratus*, *Melipona favosa favosa* con *Melipona compressipes*, *Melipona favosa favosa* con *Bombus*

atratus, y *Melipona compressipes* con entrada de *Nanotrigona* sp. Estas diferencias se mantienen en el proceso de enfriamiento y de recalentamiento. Para el proceso de enfriamiento no se determinaron diferencias significativas entre: *Melipona favosa favosa* con *Melipona compressipes*, *Melipona favosa favosa* con *Melipona fuscipes*, *Melipona favosa favosa* con *Nanotrigona* sp., *Melipona compressipes* con *Nanotrigona* sp., *Melipona fuscipes* con *Trigona angustula*, *Trigona angustula* con *Trigona nigra paupera* y *Melipona fuscipes* con *Nanotrigona* sp.

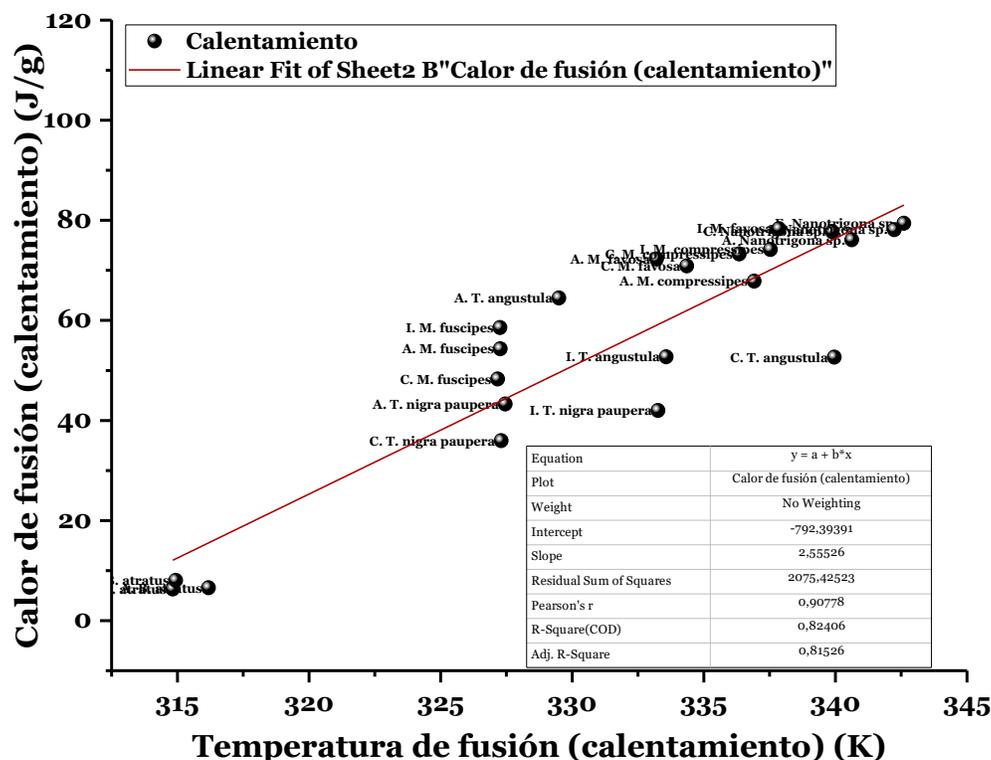


Figura 44. Relación lineal entre el calor de fusión y temperatura de fusión. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Como en el proceso de fusión $\Delta_{fusión}H = \Delta_{fusión}S * T$, se encuentra una relación lineal al graficar el cambio de entalpía de fusión vs temperatura absoluta de fusión, y la pendiente de la función del ajuste lineal corresponde al valor del cambio de entropía. La Figura 33 muestra este ajuste lineal en el cual el valor de la pendiente es de 2,56 J/g*K, este valor corresponde al promedio del cambio de entropía en el proceso de fusión desde las muestras de *Bombus atratus* hasta las muestras de *Nanotrigona* sp.

En el trabajo realizado por R. Buchwald y colaboradores, se analizaron ceras de algunas especies de los géneros *Apis*, *Bombus*, *Melipona* y *Trigona*[46]; y se determinaron calores de fusión cuyos valores son mayores que los encontrados en este trabajo. Estas diferencias, pueden deberse, a que, en su artículo, no se menciona de que parte del nido se tomó la muestra, sino el número de colonias estudiadas, y adicionalmente, debido a que las especies que ellos utilizaron para su trabajo son diferentes a las del presente trabajo.

4.3.2 CALOR ESPECÍFICO

El calor específico (C_p) se determinó a partir de las señales de flujo de calor, temperatura, tiempo y masa del proceso de calentamiento. Para la mayoría de los casos el c_p se calculó en el intervalo comprendido entre 20 °C a 25 °C evitando cambios significativos debidos a pérdida de masa o transiciones polimórficas.

Se sabe que el calor es directamente proporcional a la temperatura ($Q \propto T$), cuya constante de proporcionalidad es la capacidad calorífica (C) que dividida en la masa permite determinar el calor específico. De modo similar, un cambio de calor con respecto al tiempo es directamente proporcional al cambio de temperatura con respecto al tiempo ($\frac{dQ}{dt} = C * \frac{dT}{dt}$). Por lo tanto, el valor del C_p se calcula de la siguiente manera:

$$\left(\frac{\frac{dQ}{dt}}{\frac{dT}{dt}}\right) = c_p \text{ O de forma análoga, } \left(\frac{dQ}{dt} * \frac{dt}{dT}\right) = \frac{dQ}{dT} = c_p$$

Ecuación 13. Cálculo del calor específico a partir de las señales TGA-DSC.

De acuerdo con la Tabla 21 y la Figura 45, los mayores valores del calor específico son los de cera de: cría de *M. fuscipes*, cría de *Nanotrigona* sp., involucro de *T. angustula*, involucro de *M. fuscipes*, alimento de *M. fuscipes*, cría de *M. compressipes*, alimento de *T. nigra paupera*, involucro de *Nanotrigona* sp., involucro de *M. favosa*, cría de *M. favosa*, *Apis mellifera* (africanizada) y cría de *T. angustula*. Los valores del c_p de estas muestras son las que más se asemejan a los valores reportados en la literatura, como el de Timbers y colaboradores en el cual reportan valores entre 1,75 y 2,3 J/g*°C en un intervalo de temperatura entre -3 °C y 17 °C en cera de abejas[24] y Y. Gaillard y colaboradores reportan curvas del valor de c_p en las que se puede determinar un valor entre 2,5 y 3 J/g*°C[84].

En general, las muestras de *Trigona angustula* en el intervalo que se calculó el c_p presentan fluctuaciones en la señal de masa que pueden deberse a transiciones polimórficas de algunos de sus componente y entre 25 °C a 29 °C presentan una pérdida súbita de masa que genera saltos en la señal del C_p (Figura 46); en el caso de las muestras de *Trigona nigra paupera*, en las muestras de alimento, en el intervalo que se calculó el valor del C_p presentan pérdida de masa acompañado de fluctuaciones posiblemente por transiciones polimórficas hasta los 29 °C que se presenta una pérdida súbita de masa; las muestras de *Melipona compressipes* presentan pérdida de masa en el intervalo que se calculó el C_p , la señal del C_p tiende a permanecer constante, pero con bastante ruido hasta los 25 °C donde se presenta pérdida súbita de masa; las muestras de *Melipona favosa favosa* presentan un comportamiento similar a las de *Melipona compressipes* aunque en estas la pérdida notoria de masa se da entre 28 °C y 29 °C; las muestras de alimento de *Melipona fuscipes* presentan pérdida de masa en el intervalo que se calculó el C_p y, a 29 °C se presenta una pérdida de masa súbita, las muestras de cría e involucro de *Melipona fuscipes* presentan pérdida y fluctuaciones

simultáneamente en la señal de masa hasta los 29 °C que es donde se produce la pérdida súbita de masa; en las muestras de *Nanotrigona* sp. se presenta pérdida de masa continuamente en el intervalo que se calculó el C_p hasta los 28 °C donde se produce pérdida súbita de masa; las muestras de *Bombus atratus* presentan pérdida de masa constantemente en todo el intervalo que se calculó el C_p , sin embargo, la señal del C_p tiende a permanecer constante hasta los 25 °C que es cuando se incrementa la pérdida de masa y en el caso de *Apis mellifera* (africanizada), la muestra presenta pérdida de masa y fluctuaciones de la señal de masa posiblemente por transiciones polimórficas.

Tabla 21. Valores de c_p de las muestras de cera. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Muestra	C_p (J/g*°C)	SD	Muestra	C_p (J/g*°C)	SD
<i>A. T. angustula</i>	1,46	0,33	<i>I. M. favosa</i>	1,68	0,06
<i>C. T. angustula</i>	1,56	0,68	<i>A. T. nigra paupera</i>	1,75	0,59
<i>I. T. angustula</i>	1,90	0,15	<i>C. T. nigra paupera</i>	1,12	0,08
<i>Apis mellifera</i> (africanizada)	1,61	0,18	<i>I. T. nigra paupera</i>	1,54	0,43
<i>A. B. atratus</i>	1,29	0,23	<i>A. M. fuscipes</i>	1,80	0,05
<i>C. B. atratus</i>	1,26	0,02	<i>C. M. fuscipes</i>	2,40	0,13
<i>I. B. Atratus</i>	1,40	0,13	<i>I. M. fuscipes</i>	1,80	0,36
<i>A. M. compressipes</i>	1,31	0,13	<i>A. Nanotrigona</i> sp.	1,26	0,06
<i>C. M. compressipes</i>	1,77	0,15	<i>C. Nanotrigona</i> sp.	1,92	0,12
<i>I. M. compressipes</i>	1,27	0,28	<i>E. Nanotrigona</i> sp.	1,46	0,17
<i>A. M. favosa</i>	1,30	0,35	<i>I. Nanotrigona</i> sp.	1,68	0,13
<i>C. M. favosa</i>	1,62	0,17			

En la Figura 47 se puede observar que al igual que en el proceso de fusión, la pérdida de masa contribuye al aumento de la desviación estándar de los resultados, pues en este caso se presentan desviaciones estándar hasta de 43,7%; esto corrobora los resultados encontrados en los análisis de FTR-ATR y CG-MS en cuanto a que la composición de las muestras de cera varía dependiendo de su uso dentro del nido.

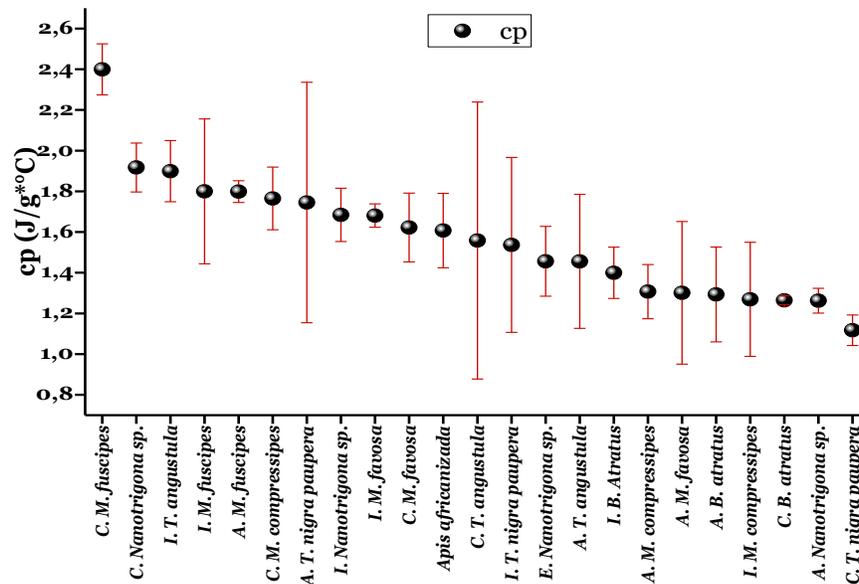


Figura 45. Valores promedio del calor específico. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

En la mayoría de las muestras, el valor de C_p en función de la temperatura varía dependiendo del cambio en la señal de masa que a su vez depende ya sea de pérdida de masa o transiciones polimórficas de los componentes. La Figura 46 muestra la tendencia del valor de C_p de una muestra de cría de *Trigona angustula* y sirve como referencia de las demás muestras; en el zoom de esta figura se observa que el valor de C_p tiende a mantenerse constante cuando la pérdida de masa no es significativa (no genera ruido en la señal de C_p); y cuando se presenta el salto en el cambio de masa se generan fluctuaciones en la señal del C_p que se traduce en ruido. Es por eso que, el valor de C_p se tomó después de un tiempo en que se estabilizara la vibración por parte de la microbalanza del equipo (alrededor de 2 min después de iniciar la corrida en el analizador térmico) y antes de los 25 °C donde todavía no se observa pérdida considerable de masa; en la mayoría de las muestras, las pérdidas de masa que alteran el valor de C_p se dan después de los 25 °C, generalmente estas variaciones inician entre 28 °C y 29 °C. Después de los 35 °C se presentan variaciones de masa que generan ruido en la señal de C_p por lo que no fue posible encontrar un intervalo de temperatura con valores de C_p constantes por encima de esta temperatura, por lo tanto no es posible calcular el valor de C_p en el proceso de enfriamiento y recalentamiento.

El análisis de varianza ANOVA de un factor a un nivel de significancia del 0,05 aplicado a los valores del C_p reveló diferencias significativas para las muestras analizadas, el test *post-hoc* de Bonferroni evidencia que las diferencias significativas se presentan entre la muestra de cría de *Melipona fuscipes* con entrada y alimento de *Nanotrigona* sp., involucro y cría de *Trigona nigra paupera*, alimento y cría de *Melipona favosa favosa*, involucro y alimento de *Melipona compressipes*, alimento de *Trigona angustula* y todas las muestras de *Bombus atratus*.

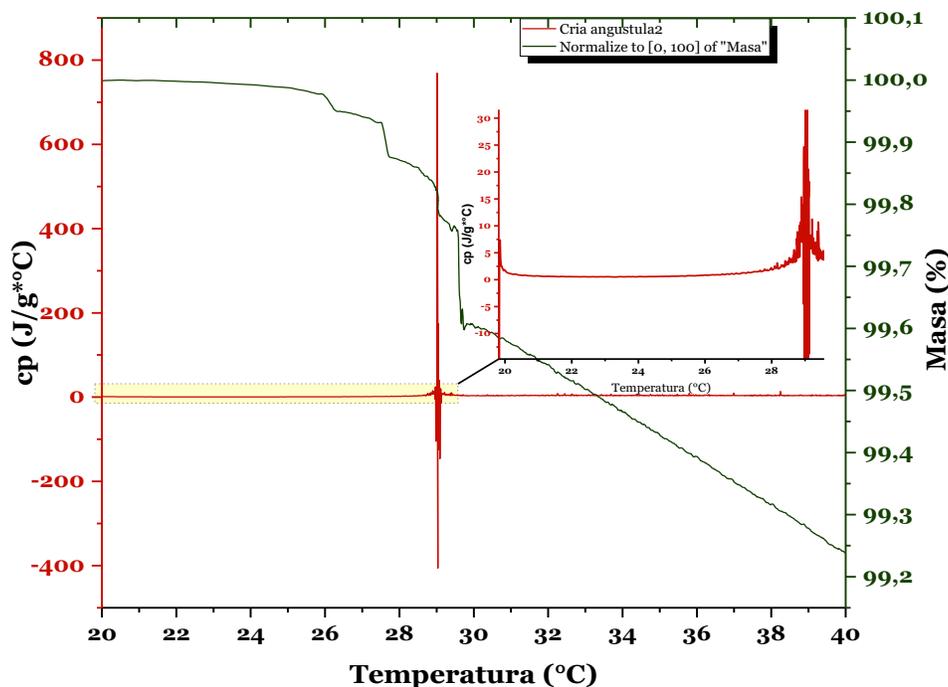


Figura 46. Calor específico en función de la temperatura.

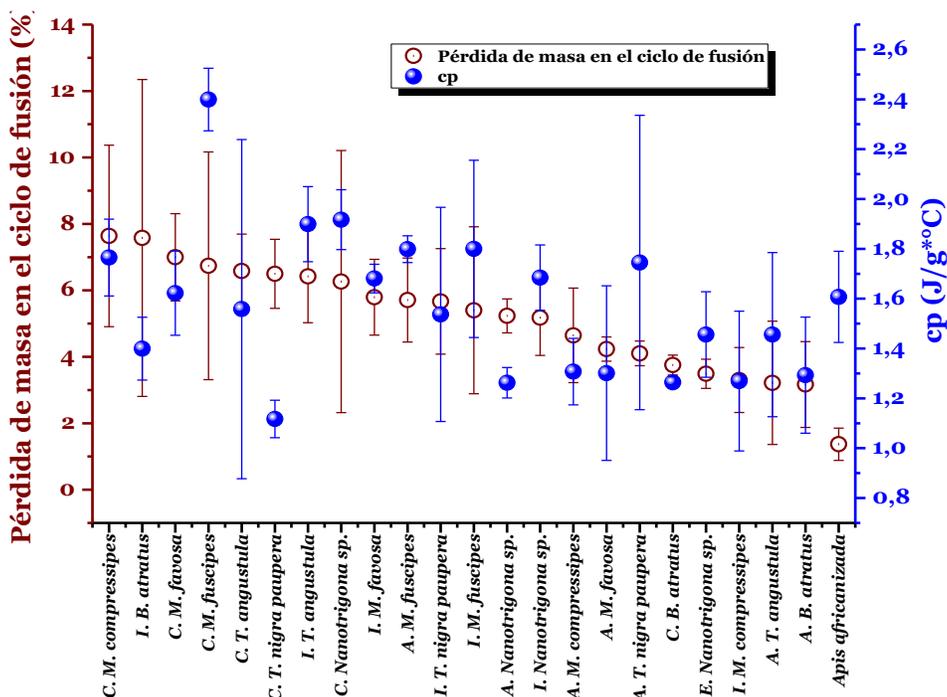


Figura 47. Pérdida de masa en el proceso de fusión y Cp vs muestra. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucreo.

La Figura 47 muestra la relación existente entre el valor del C_p y la pérdida de masa, se observa que en algunas muestra a mayor pérdida de masa mayor es el valor del calor específico por lo que se presenta cierta tendencia lineal; sin embargo, el coeficiente de

determinación para esta relación es muy bajo (alrededor de 0,5) por lo que no se puede establecer una correspondencia de proporcionalidad directamente. Además, esta tendencia de linealidad es observada principalmente en las muestras que presentan mayor pérdida de masa y cuya desviación estándar también es alta, por lo que este incremento de C_p en función de la pérdida de masa puede deberse exclusivamente a la cantidad de energía necesaria para volatilizar los compuestos correspondientes a la variación en masa, pues generalmente las muestras que presentan mayor desviación estándar tienen mayor valor promedio de C_p . Con lo anterior, estos valores corresponderían a estimaciones del valor del C_p para las muestras que presentan alta pérdida de masa y las que tienen baja pérdida de masa el valor de C_p estaría más cercano al real, ya que como se comentó anteriormente, en el caso de la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) el valor del calor específico calculado en el presente trabajo concuerda con el reportado por Timbers y colaboradores.

4.3.3 PROCESO DE PIRÓLISIS

4.3.3.1 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ARRHENIUS

En el ajuste lineal del proceso de pirólisis, para todos los casos el coeficiente de determinación fue superior a 0,95 (Figura 49) indicando que el modelo KAS es una buena aproximación para determinar el promedio de los parámetros cinéticos de Arrhenius en el proceso de pirólisis. La Tabla 22 muestra los valores promedio de los parámetros de Arrhenius de cada muestra con su desviación estándar respectiva, y la tendencia junto con el ajuste lineal de estos resultados se presenta en la Figura 49.

En el proceso de pirólisis, las muestras pertenecientes a *Bombus atratus* son las que presentan los menores valores en ambos parámetros de Arrhenius, en la Figura 48 puede observarse que la diferencia en la energía de activación es de aproximadamente 40 kJ/mol con respecto a las muestras de cera de trigonas y meliponas. En el otro extremo se encuentra la muestra de cera de *Apis mellifera* (africanizada) que presenta valores muy por encima de las muestras de cera de trigonas y meliponas, principalmente en el factor pre-exponencial. Estas diferencias se dan especialmente porque el proceso de degradación térmica de las muestras de *Bombus atratus* se inicia desde una temperatura menor que las demás muestras, y termina a una temperatura similar a las demás, por ende, el intervalo de temperatura del proceso es mayor y se da en un tiempo mayor comparado con las demás muestras; esto sugiere que el número de interacciones moleculares o de rupturas de enlaces por unidad de tiempo es menor. Lo contrario sucede con la muestra de cera de *Apis mellifera* (africanizada) que tiene un intervalo de 188,75 K, valor pequeño comparado con el intervalo de la cera de *Bombus atratus* que fue de 442,0 K, lo que se ve reflejado en el valor del factor pre-exponencial y energía de activación.

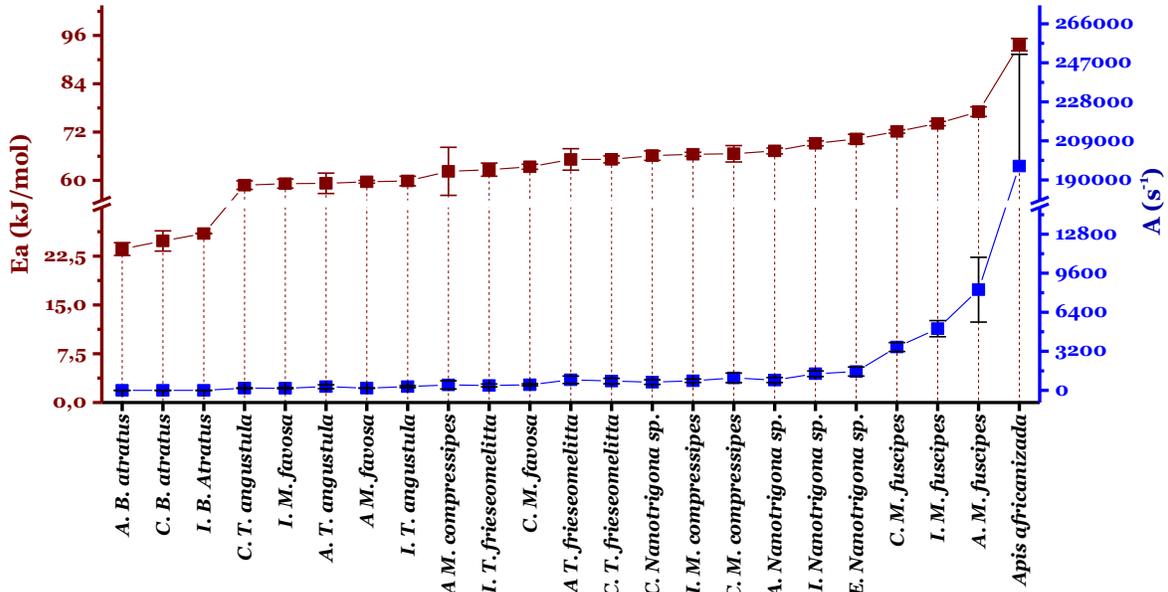


Figura 48. Variación de los parámetros de Arrhenius vs muestra. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

La Figura 48 muestra la tendencia en orden creciente de los valores de los parámetros de Arrhenius en función de las muestras. En esta se observa los valores correspondientes a las muestras de *Bombus atratus* y *Apis mellifera* (africanizada) en los extremos mínimo y máximo respectivamente y en los valores medios los correspondientes a las muestras de las especies de la tribu Meliponini.

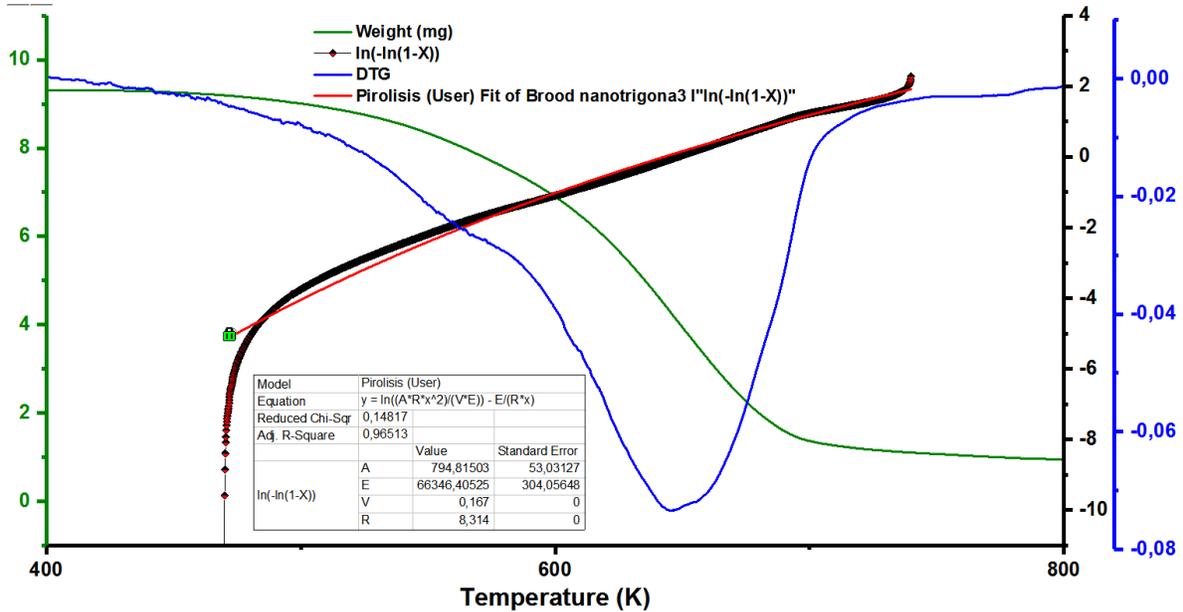


Figura 49. Representación del ajuste del proceso de pirólisis por el modelo KAS.

Tabla 22. Parámetros cinéticos del proceso de pirólisis. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro; Ea: energía de activación; A: factor pre-exponencial de Arrhenius; Ti: temperatura inicial (K); Tf: temperatura final (K); ΔT: intervalo de temperatura del proceso de pirólisis (K).

Muestra	Ea (kJ/mol)	SD Ea	A (s ⁻¹)	SD A	Ti (K)	Tf (K)	ΔT (K)
<i>Apis mellifera</i> (africanizada)	93,72	1,53	196776,37	54329,34	506,50	695,25	188,75
<i>C. B. atratus</i>	24,84	1,56	0,24	0,07	356,00	798,00	442,00
<i>C. M. compressipes</i>	66,61	2,03	1019,37	390,24	460,00	738,00	278,00
<i>C. M. favosa favosa</i>	63,38	0,63	454,63	84,68	460,00	738,00	278,00
<i>C. M. fuscipes</i>	72,15	0,43	3550,33	367,99	480,00	725,00	245,00
<i>C. Nanotrigona sp.</i>	66,14	1,17	673,53	189,41	475,00	750,00	275,00
<i>C. T. angustula</i>	58,81	1,06	178,86	37,14	455,00	720,00	265,00
<i>C. T. nigra paupera</i>	65,23	0,86	762,77	224,04	472,00	747,00	275,00
<i>A. B. atratus</i>	23,59	0,98	0,19	0,04	352,00	814,00	462,00
<i>A. M. compressipes</i>	62,24	5,97	443,98	333,08	465,00	747,00	282,00
<i>A. M. favosa</i>	59,64	0,34	184,46	9,78	460,00	745,00	285,00
<i>A. M. fuscipes</i>	77,06	1,21	8250,15	2656,45	489,00	740,00	251,00
<i>A. Nanotrigona sp.</i>	67,31	0,73	845,30	204,95	480,00	730,00	250,00
<i>A. T. angustula</i>	59,26	2,52	299,49	155,78	455,00	720,00	265,00
<i>A. T. frieseomelitta</i>	65,20	2,66	861,80	302,89	478,25	717,63	239,38
<i>I. B. Atratus</i>	25,97	0,05	0,53	0,01	367,00	762,00	395,00
<i>I. M. compressipes</i>	66,48	0,48	783,58	139,68	460,00	738,00	278,00
<i>I. M. favosa</i>	59,18	1,13	175,01	41,84	460,00	758,00	298,00
<i>I. M. fuscipes</i>	74,12	0,54	5057,75	659,91	480,00	730,00	250,00
<i>I. Nanotrigona sp.</i>	69,19	0,63	1357,61	227,80	475,00	735,00	260,00
<i>I. T. angustula</i>	59,84	1,18	300,18	80,48	430,00	745,00	315,00
<i>I. T. frieseomelitta</i>	62,66	1,63	397,93	119,33	472,00	754,00	282,00
<i>E. Nanotrigona sp.</i>	70,26	1,17	1537,61	374,68	480,00	730,00	250,00

Tabla 23. Valores promedio de la constante cinética del proceso de pirólisis. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Muestra	K (s ⁻¹)	SD K	Muestra	K (s ⁻¹)	SD K
<i>Apis mellifera</i>	0,00107	1,76E-04	<i>C. Nanotrigona sp.</i>	7,55E-04	4,47E-05
<i>A. B. atratus</i>	3,97E-04	2,03E-05	<i>C. T. angustula</i>	0,0011	3,43E-05
<i>A. M. compressipes</i>	7,20E-04	8,05E-05	<i>C. T. nigra paupera</i>	3,93E-04	7,62E-05
<i>A. M. favosa</i>	6,65E-04	7,54E-05	<i>E. Nanotrigona sp.</i>	0,0011	1,51E-04
<i>A. M. fuscipes</i>	6,07E-04	1,25E-04	<i>I. B. Atratus</i>	6,14E-04	3,85E-05
<i>A. Nanotrigona sp.</i>	0,00101	2,67E-04	<i>I. M. compressipes</i>	9,84E-04	1,44E-04
<i>A. T. angustula</i>	6,95E-04	2,23E-05	<i>I. M. favosa</i>	4,67E-04	6,66E-05
<i>A. T. frieseomelitta</i>	4,68E-04	1,93E-04	<i>I. M. fuscipes</i>	5,58E-04	6,75E-05
<i>C. M. favosa favosa</i>	7,04E-04	1,13E-04	<i>I. Nanotrigona sp.</i>	9,63E-04	8,63E-05
<i>C. B. atratus</i>	4,13E-04	7,00E-05	<i>I. T. angustula</i>	5,05E-04	3,45E-05
<i>C. M. compressipes</i>	8,34E-04	1,91E-04	<i>I. T. frieseomelitta</i>	3,68E-04	5,42E-05
<i>C. M. fuscipes</i>	6,19E-04	8,54E-05			

Debido a que el ajuste lineal del proceso de pirólisis se realizó partiendo de la ecuación de Arrhenius, es de esperarse que se cumplan las relaciones lineales de esta ecuación. La Figura 50 muestra el ajuste lineal entre el factor pre-exponencial y la temperatura empleando la forma lineal de la ecuación de Arrhenius $\ln(A) = \frac{E_a}{RT} - \ln K$, y graficando $\ln(A)$ vs $1/T$. La pendiente de la recta corresponde a $\frac{E_a}{R}$ y el intercepto $-\ln K$; aquí, E_a es el incremento promedio en la energía de activación desde las muestras de *Bombus atratus* hasta la de *Apis mellifera* (africanizada) y K es la constante de equilibrio promedio de todas las muestras en el intervalo de temperatura que corresponde al proceso de pirólisis. Para este caso $E_a = 38,38$ kJ/mol y $K = 51277$.

Del mismo modo, la proporcionalidad entre la energía de activación y la temperatura del proceso de pirólisis se evaluó teniendo en cuenta que, al graficar la energía de activación vs la temperatura del proceso de pirólisis, se tiene una relación lineal con un coeficiente de correlación de Pearson superior a 0,9; esta relación es la siguiente: $E_a = R \ln\left(\frac{A}{K}\right) T$. Como se observa en la Figura 50, para comparar la tendencia de la energía de activación y el factor pre-exponencial, se graficó el inverso de la energía de activación vs el inverso de la temperatura absoluta ($1/E_a$ vs $1/T$); de este modo, la forma lineal de la ecuación de Arrhenius queda de la siguiente manera: $\frac{1}{E_a} = \left(\frac{1}{\ln\left(\frac{A}{K}\right)R}\right)\left(\frac{1}{T}\right)$, donde la pendiente de este ajuste es $\frac{1}{R \ln\left(\frac{A}{K}\right)}$, siendo K el valor promedio de la constante cinética y A el factor pre-exponencial promedio del proceso de pirólisis. En ambos casos, el coeficiente de correlación de Pearson es superior a 0,9 y el coeficiente de determinación mayor a 0,8.

Adicionalmente, se presenta linealidad entre el logaritmo natural de los parámetros de Arrhenius y el intervalo de temperatura de la pirólisis, lo importante de estas linealizaciones es que permiten determinar lo correlacionadas que están las muestras pertenecientes a una misma tribu y que tan distantes están con las de otras tribus. En este caso, se presentan diferencias entre muestras de la tribu Bombini y Apini, y las muestras pertenecientes a la tribu Meliponini tienden a parecerse más a las de la tribu Apini que a las de la tribu Bombini (Figura 34).

En la revisión bibliográfica no se encontró valores de los parámetros cinéticos de Arrhenius para el proceso de pirólisis de las muestras de ceras de abejas. Los trabajos realizados en biomasa por Y. Huang y colaboradores: "Microwave pyrolysis of lignocellulosic biomass: Heating performance and reaction kinetics" reportan energías de activación entre 49,29 kJ/mol y 75,31 kJ/mol, factor pre-exponencial entre $15,1 \text{ s}^{-1}$ y 4500 s^{-1} y, constantes de velocidad entre $5,28 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ y $1,72 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ [85]. X. Huang y colaboradores encontraron valores promedio en la energía de activación de 154,15 kJ/mol del proceso de pirólisis en biomasa y soya [48]. K. Lee y S. Oh, reportan en el artículo: "Kinetics of the thermal degradation of wax materials obtained from pyrolysis of mixed waste plastics" valores de energía de activación de 43,1 kJ/mol a 50,9 kJ/mol y del factor pre-exponencial entre $6,97 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ y $6,94 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ [86]. Estos valores de los parámetros de Arrhenius son comparables con los determinados en el presente trabajo para las muestras de ceras.

El análisis de varianza ANOVA de un factor a un nivel de significancia del 0,05 aplicado a los valores de los parámetros de Arrhenius, reveló diferencias significativas para las muestras analizadas, tanto en la energía de activación como en el factor pre-exponencial.

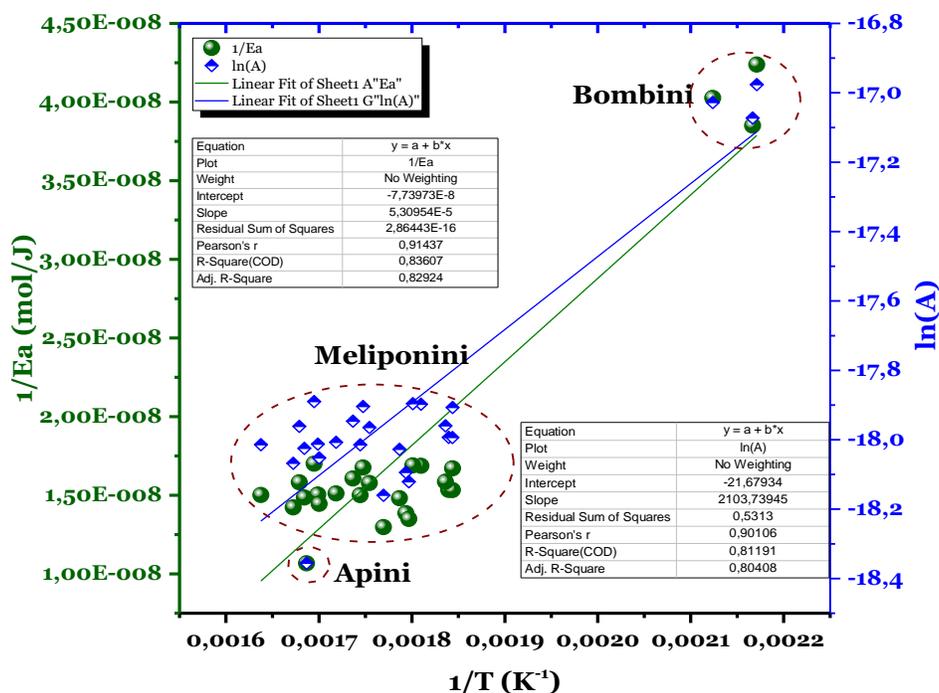


Figura 50. Ajuste lineal del factor pre-exponencial y la energía de activación.

Las diferencias significativas que se presentan en la energía de activación se dan entre las muestras de *Bombus atratus* y *Apis mellifera* (africanizada) y, entre estas muestras con todas las demás; adicionalmente, se encontraron diferencias entre alimento de *Nanotrigona* sp. con alimento de *Melipona fuscipes*, alimento de *Melipona fuscipes* con alimento de *Trigona angustula*, alimento de *Trigona nigra paupera*, alimento de *Melipona favosa favosa* y alimento de *Melipona compressipes*; cría de *Nanotrigona* sp. con cría de *Trigona angustula*; cría de *Melipona fuscipes* con cría de *Trigona nigra paupera*, cría de *Trigona angustula*, cría de *Melipona favosa favosa* y cría de *Melipona compressipes*; cría de *Trigona angustula* con cría de *Trigona nigra paupera*, cría de *Melipona favosa favosa* y cría de *Melipona compressipes*; en las muestras de involucro se presentan diferencias entre todas las muestras de diferente género, excepto entre *Melipona favosa favosa* con *Trigona angustula* y *Nanotrigona* sp. con *Melipona compressipes*.

Las diferencias significativas que se presentan en el factor pre-exponencial se dan entre las muestras de *Bombus atratus* y *Apis mellifera* (africanizada) con todas las demás; alimento de *Melipona fuscipes* con alimento de *Nanotrigona* sp., alimento de *Trigona nigra paupera*, alimento de *Melipona favosa favosa*, alimento de *Melipona compressipes* y alimento de *Trigona angustula*; cría de *Melipona fuscipes* con cría de *Nanotrigona* sp, cría de *Trigona nigra paupera*, cría de *Melipona favosa favosa*, cría de *Melipona compressipes* y cría de *Trigona angustula*; cría de *Melipona compressipes* con cría de *Trigona angustula*; involucro

de *Nanotrigona* con involucro de *Melipona fuscipes*, involucro de *Trigona nigra paupera*, involucro de *Melipona favosa favosa* e involucro de *Trigona angustula*; involucro de *Melipona fuscipes* con involucro de *Trigona nigra paupera*, involucro de *Trigona angustula*, involucro de *Melipona favosa favosa* e involucro de *Melipona compressipes*.

En general, se presentan diferencias significativas de *Bombus atratus* y *Apis mellifera* (africanizada) con todas las demás muestras, entre géneros, se presentan diferencias significativas entre las muestras de *Melipona fuscipes* con todas las muestras de *Melipona compressipes*, *Melipona favosa favosa*, *Trigona nigra paupera* y *Trigona angustula*.

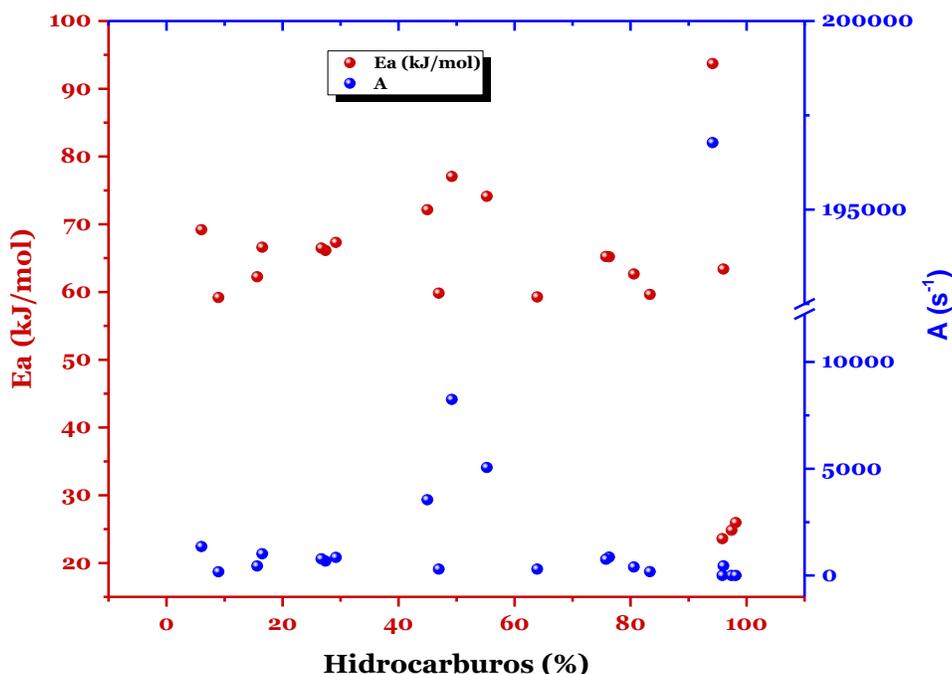


Figura 51. Parámetros de Arrhenius vs porcentaje de hidrocarburos.

Finalmente, la relación entre los parámetros cinéticos del proceso de pirólisis y la fracción de hidrocarburos que se expone en la

Figura 51, evidencia que no existe una relación lineal entre el valor de los parámetros y la fracción de los componentes de la muestra. Esta tendencia se presenta con todos los tipos de compuestos detectados en el análisis GC-MS, lo que sugiere que el proceso de pirólisis está determinado por la naturaleza de los tipos de compuestos que conforman la muestra y no por la cantidad o fracción de estos.

4.3.3.2 FUNCIONES TERMODINÁMICAS

En la Tabla 24, se muestran los valores de las funciones termodinámicas junto con la temperatura de inflexión para el proceso de pirólisis calculadas con las Ecuación 7, 8 y 9. Al igual que con los parámetros cinéticos, las muestras que presentan mayor variación en las funciones termodinámicas son las de la tribu Apini seguida de las muestras pertenecientes a la tribu Meliponini y por último las que presentan menor variación son las muestras de *Bombus atratus* (tribu Bombini). En la Figura 52, pueden distinguirse tres regiones determinadas por cada una de las tribus a las que pertenecen las muestras.

Tabla 24. Variación de las funciones termodinámicas en el proceso de pirólisis. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Muestra	ΔH (kJ/mol)	SD	ΔG (kJ/mol)	SD	ΔS (J/mol)	SD	Ts (K)	SD
<i>Apis mellifera</i> (africanizada)	88,79	1,53	177,41	0,51	-149,49	2,3	592,87	1,23
<i>A. B. atratus</i>	19,76	0,99	140,63	0,74	-262,42	1,89	460,6	2,76
<i>A. M. compressipes</i>	57,45	5,9	174,06	2,05	-202,58	9,69	575,85	8,33
<i>A. M. favosa</i>	54,88	0,36	173,33	1,16	-206,96	0,51	572,29	5,21
<i>A. M. fuscipes</i>	72,37	1,19	171,58	0,57	-175,56	2,83	565,17	4,33
<i>A. Nanotrigona sp.</i>	62,37	0,72	178,00	1,69	-194,76	2,00	593,70	9,39
<i>A. T. angustula</i>	54,67	2,53	166,96	0,23	-203,23	4,56	552,53	1,22
<i>A. T. frieseomelitta</i>	60,68	2,71	166,19	0,28	-194,08	3,23	543,58	5,79
<i>C. B. atratus</i>	20,92	1,41	143,72	5,25	-260,82	2,29	470,88	18,88
<i>C. M. compressipes</i>	61,85	1,99	172,61	1,11	-193,24	3,54	573,26	6,45
<i>C. M. favosa favosa</i>	58,64	0,67	172,38	1,5	-199,53	1,63	570,01	7,16
<i>C. M. fuscipes</i>	67,52	0,4	169,09	0,69	-182,17	0,79	557,58	3,91
<i>C. Nanotrigona sp.</i>	61,3	1,21	175,71	2,01	-196,57	2,69	581,95	7,06
<i>C. T. angustula</i>	53,9	1,04	176,37	0,42	-207,55	1,71	590,06	1,85
<i>C. T. nigra paupera</i>	60,72	0,83	166,44	0,51	-194,93	2,27	542,43	3,82
<i>E. Nanotrigona sp.</i>	65,29	1,2	178,82	0,78	-189,84	2,04	598	4,33
<i>I. B. Atratus</i>	22,14	0,07	139,25	0,51	-253,75	0,08	461,55	2,43
<i>I. M. compressipes</i>	61,59	0,49	176,53	0,75	-195,25	1,44	588,66	4,32
<i>I. M. favosa</i>	54,57	1,17	169,67	1,42	-207,3	1,94	555,23	6,53
<i>I. M. fuscipes</i>	69,49	0,58	169,26	0,9	-179,23	1,13	556,59	4,68
<i>I. Nanotrigona sp.</i>	64,3	0,63	176,44	1,12	-190,66	1,47	588,13	4,82
<i>I. T. angustula</i>	55,33	1,19	165,25	1,03	-202,68	2,47	542,36	4,19
<i>I. T. frieseomelitta</i>	58,53	1,49	167,43	1,16	-199,94	2,43	544,62	5,52

Al igual que con los parámetros cinéticos, no se encontró correlaciones lineales entre la variación de estas funciones con respecto a la fracción de los componentes en las muestras,

por ende, esta variación presenta el mismo comportamiento que los parámetros cinéticos, por lo que también depende de la naturaleza de los componentes de la muestra y no de la fracción de estos. Aunque no se presenta relación lineal alguna con la fracción en la composición, si se observan ciertas similitudes entre las agrupaciones de la Figura 52 con las presentadas en el clúster de la Figura 24 pues en estas se encuentran agrupadas las muestras por especies en *Melipona fuscipes*, *Melipona compressipes*, *Trigona angustula* y *Bombus atratus*; las que se encuentran dispersas dentro de la misma especie son *Melipona favosa favosa*, que en el caso de la muestra de cría se encuentra agrupada con las de *Bombus atratus*. Esto evidencia cierta relación con la composición, pero no en las fracciones de los componentes sino en la naturaleza de estos.

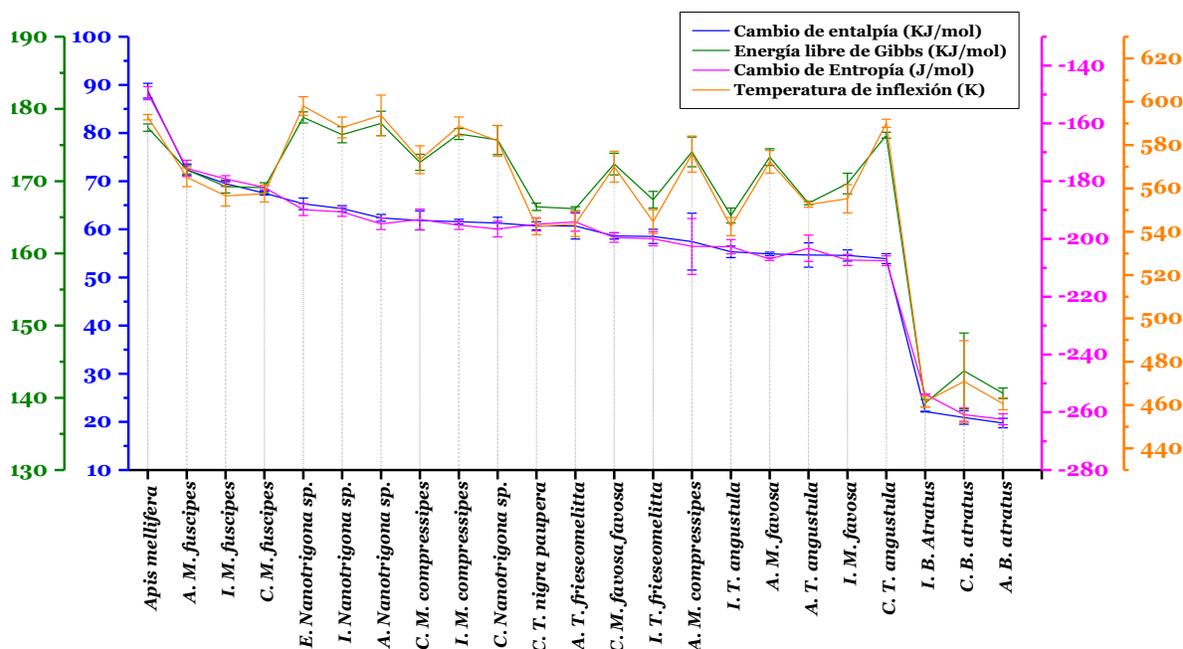


Figura 52. Variación de las funciones termodinámicas y temperatura de inflexión.

En todos los casos el valor del cambio de entalpía es positivo y el de la entropía es negativo, por ende, el proceso de pirólisis en las muestras de ceras es endotérmico; en la Figura 53, puede observarse la correlación lineal existente entre el cambio en las funciones termodinámicas y la temperatura de inflexión del proceso de pirólisis, para todos los casos el coeficiente de determinación es mayor de 0,9 (el menor es 0,93) lo que indica una alta correspondencia entre la temperatura a la cual se da el proceso y la energía involucrada en este, por lo que a mayor temperatura, es mayor la cantidad de energía necesaria para que este proceso se lleve a cabo. Para el caso de la entalpía, la ecuación del ajuste lineal es $y = 0,3487X - 138,67$ ($r^2=0,95$) en la que el intercepto corresponde al cambio de entalpía estándar y la pendiente al incremento promedio de la capacidad calorífica (C_p), que debido al cambio de temperatura, $C_p = a + bT$, donde a y b son constantes de ajuste debido a la variación en la temperatura; en el ajuste de la energía libre de Gibbs, la ecuación del ajuste es $y = 0,28214X + 11,375$ ($r^2=0,98$) en la que el intercepto corresponde al valor promedio de la entalpía para este tipo de muestras* y la pendiente al incremento promedio en la entropía; en

* En general, no se refiere solo a las analizadas.

cuanto al ajuste lineal de la entropía, esta es inversamente proporcional a la temperatura, y la ecuación del ajuste de la gráfica ΔS vs T es $y = 0,5205 - 493,94$ ($r^2=0,93$), sin embargo, el ajuste de esta relación es mejor cuando se grafica ΔS vs ΔT (Figura 54) que conserva el mismo coeficiente de determinación pero se presenta menor dispersión de los datos, por lo que se reduce a la mitad las desviaciones estándar de la pendiente y el intercepto en este segundo ajuste, de esta manera, la ecuación del ajuste cambia a $y = -0,3918 - 89,277x$ en donde el intercepto es $aln\left(\frac{T_2}{T_1}\right)$ y la pendiente corresponde a b , para cuando la capacidad calorífica es $C_p = a + bT$ en un ajuste lineal del tipo $\Delta S_m = b\Delta T + aln\left(\frac{T_2}{T_1}\right)$.

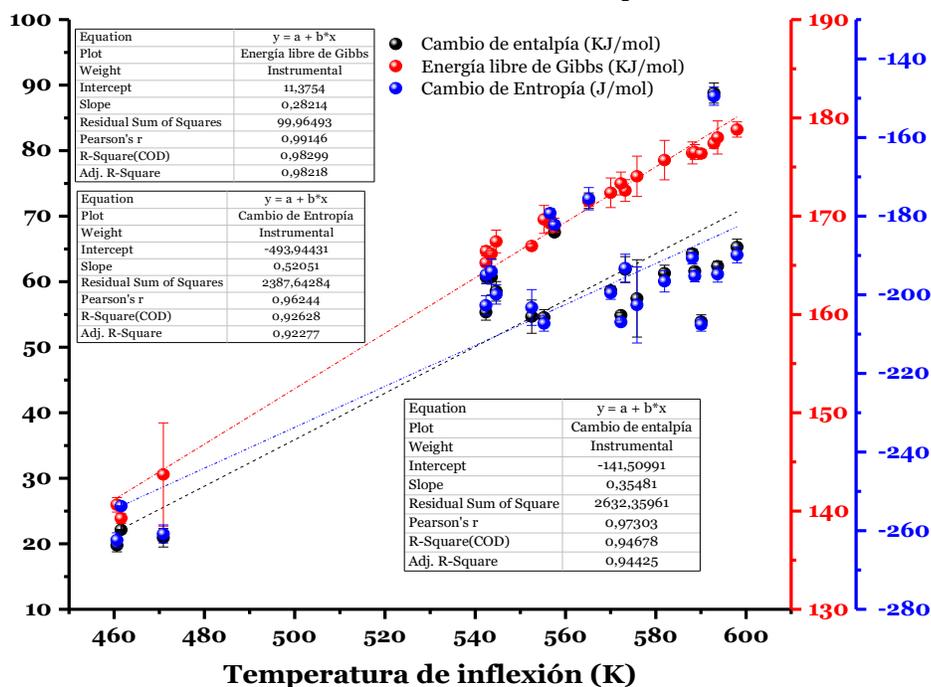


Figura 53. Ajuste lineal de las funciones termodinámicas

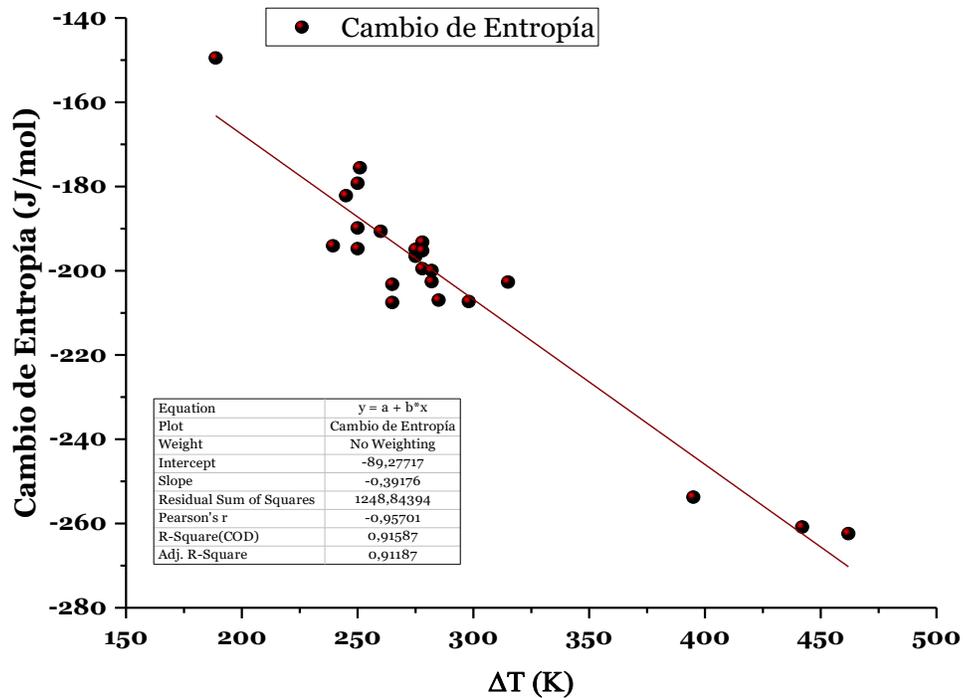


Figura 54. Variación de entropía en el proceso de pirólisis vs intervalo de temperatura.

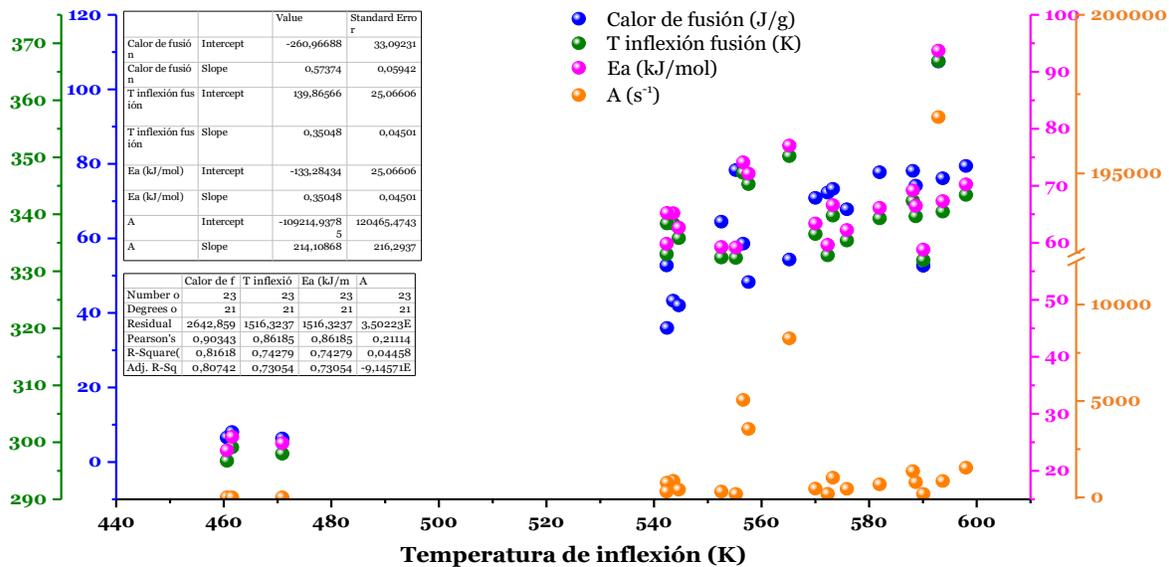


Figura 55. Ajuste lineal entre el calor de fusión (calentamiento), temperatura de inflexión en el proceso de fusión (calentamiento), energía de activación y factor pre-exponencial con respecto a la temperatura de inflexión del proceso de pirólisis.

De acuerdo con la gráfica de la Figura 55, se presenta una alta correspondencia entre los datos del proceso de fusión con los obtenidos en el proceso de pirólisis debido a que se presenta ajustes lineales con coeficientes de determinación mayores a 0,73 en la temperatura de inflexión del proceso de fusión, entalpía de fusión y la energía de activación con respecto a la temperatura de inflexión del proceso de pirólisis. Con lo anterior, se puede deducir en un 73%

de certeza, los valores de los parámetros correspondientes al proceso de pirólisis a partir de los valores obtenidos en el proceso de fusión y viceversa; para el caso del calor de fusión, el coeficiente de determinación es mayor a 0,81 por lo que los valores de este parámetro y la temperatura de inflexión en el proceso de pirólisis es aún mayor. En cuanto al factor pre-exponencial, este presenta una linealidad con la temperatura de inflexión del proceso de pirólisis en las muestras pertenecientes a la tribu Bombini y Meliponini, cuando se agrega el valor de la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) se pierde la proporcionalidad lineal debido al súbito aumento del factor pre-exponencial para esta muestra con respecto al de las otras; por lo tanto, no se puede extrapolar la tendencia de este parámetro para todas las muestras de este tipo.

Dado que la tendencia presentada en el proceso de pirólisis es similar entre la variación de las funciones termodinámicas junto con la temperatura de inflexión, y se presenta alta correspondencia entre los valores de estos parámetros con los de la energía de activación, las diferencias significativas entre las muestras debidas a los cambios en las funciones termodinámicas están establecidas de igual forma que en la energía de activación. Estas diferencias se presentan principalmente entre la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) con todas las demás muestras, y de igual manera, las muestras de *Bombus atratus* presentan diferencias significativas con todas las demás.

En la revisión bibliográfica no se encontró un trabajo referente que reporte los valores correspondientes de los parámetros cinéticos y de las variaciones en las funciones termodinámicas del proceso de pirólisis en este tipo de muestras (ni en biomasa). En este sentido, el presente trabajo es pionero en realizar este tipo de análisis y reportar estos valores para este tipo de muestras que cada día están tomando mayor importancia para su uso en diferentes campos.

4.3.4 CALOR DE COMBUSTIÓN

La tendencia en el calor de combustión (Figura 56) es similar a la que se presenta en todos los parámetros determinados anteriormente, (en la entalpía de fusión, temperaturas de fusión y los parámetros del proceso de pirólisis). Los menores valores los presentan las muestras de cera de *Bombus atratus* y el mayor valor la muestra de cera de *Apis mellifera* (africanizada). De acuerdo con la Tabla 25, el calor de combustión se encuentra entre 16,04 y 21,53 kJ/g para las muestras de *Bombus atratus*, entre 26,18 y 34,07 para las muestras pertenecientes a la tribu Meliponini y en la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) es de 38,50 kJ/g.

Tabla 25. Datos promedios y desviación estándar de los calores de combustión.

Muestras	$\Delta H_{\text{combustión}}$ (kJ/g)	SD	Muestras	$\Delta H_{\text{combustión}}$ (kJ/g)	SD
<i>Apis mellifera</i> (africanizada)	38,50	2,46	<i>C. Nanotrigona</i> sp.	30,62	1,25
<i>E. Nanotrigona</i> sp.	34,07	0,18	<i>A. T. angustula</i>	30,49	2,05
<i>I. T. nigra paupera</i>	34,04	3,88	<i>C. T. angustula</i>	28,42	0,40
<i>A. T. nigra paupera</i>	32,80	1,97	<i>I. T. angustula</i>	28,36	0,30
<i>I. M. compressipes</i>	32,79	0,83	<i>I. Nanotrigona</i> sp.	28,21	1,70
<i>C. M. favosa</i>	32,73	0,43	<i>I. M. fuscipes</i>	28,15	2,42
<i>A. Nanotrigona</i> sp.	32,52	1,72	<i>C. M. compressipes</i>	27,65	3,86
<i>A. M. compressipes</i>	32,19	0,52	<i>I. M. favosa</i>	26,18	4,90
<i>A. M. fuscipes</i>	31,89	0,45	<i>C. B. atratus</i>	21,53	1,09
<i>A. M. favosa</i>	31,82	1,06	<i>I. B. atratus</i>	16,90	0,01
<i>C. M. fuscipes</i>	30,97	1,70	<i>A. B. atratus</i>	16,04	0,02
<i>C. T. nigra paupera</i>	30,94	2,00			

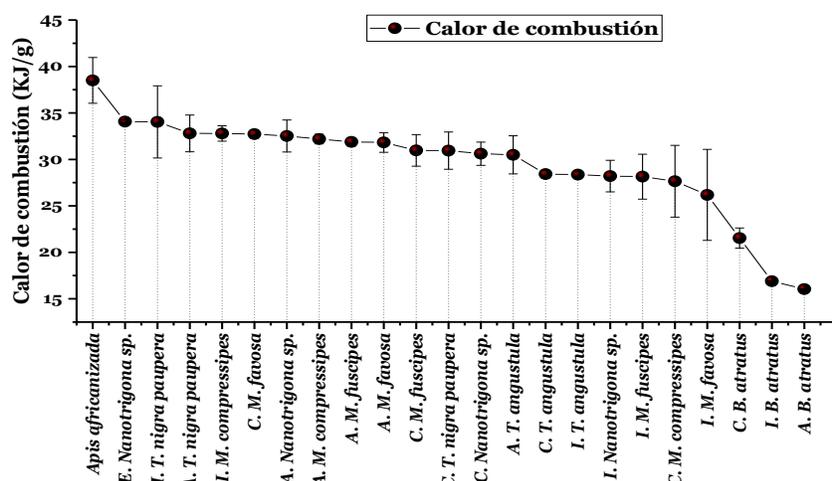


Figura 56. Calor de combustión vs muestras. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

Con el análisis ANOVA aplicado a todas las muestras, se evidenció que estas presentan diferencias significativas. El test post-hoc de Bonferroni reveló que las diferencias se presentan entre muestras pertenecientes a diferentes tribus, es decir, las muestras de cera de *Bombus atratus* con todas las demás y la muestra de cera de *Apis mellifera* (africanizada) con todas las demás. No se encontraron diferencias significativas entre las muestras de cera de las especies pertenecientes a la tribu Meliponini. Con el análisis aplicado dentro de cada especie se encontró diferencias significativas en *Bombus atratus* entre la muestra de cría con la muestra de alimento e involucro; en las muestras de *Nanotrigona* sp. se encontraron diferencias significativas entre la muestra de cría con involucro y entre la muestra de entrada con involucro. Dentro de las demás especies no se encontraron diferencias significativas. No se encuentran valores de calores de combustión de ceras reportados previamente en literatura.

4.4 ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X

En literatura se reporta que la cera de abejas presenta alta cristalinidad[87] y uno de los valores reportados para la cera de *Apis mellifera* (africanizada) es de 56,7%[34] que corresponde a la parte cristalina de algunos ésteres e hidrocarburos. En este caso, la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) analizada en el presente trabajo tiene un porcentaje de cristalinidad mayor, esto puede presentarse por la composición química que tiene la muestra ya que en el análisis GC-MS se encontró que contiene una fracción alta en hidrocarburos entre C25 y C27 que tienen estructuras cristalinas y por lo tanto hacen que la muestra tenga aproximadamente 80% de cristalinidad; además, el resto de componentes que conforman esta muestra son ácidos y ésteres que también presentan estructuras cristalinas. Por otro lado, el patrón de difracción (

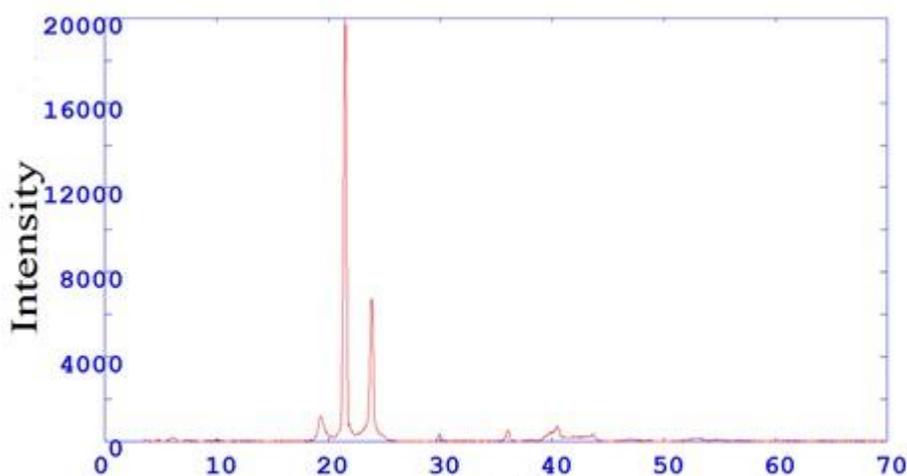


Figura 58) de esta muestra refleja un perfil altamente cristalino (cercano al 100%), que sirve como referencia para valores comparativos de cristalinidad de las demás muestras de cera. A partir de este porcentaje se puede calcular el porcentaje de cristalinidad de las otras muestras empleando la relación utilizada por Y. Gaillard y colaboradores[34]:

$$\%cris = \frac{\Delta_{fus}H_{cera}}{\Delta_{fus}H_{Apis}} \times \%cris_{Apis}$$

Ecuación 14. Porcentaje de cristalinidad a partir de la relación de las entalpías de fusión y el porcentaje de cristalinidad de referencia.

A partir del porcentaje de cristalinidad de la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) y mediante la Ecuación 14, se calculó el porcentaje de cristalinidad de las demás muestras de cera (Tabla 26). La Figura 62 muestra la tendencia de estos porcentajes vs muestra, y se destaca la separación de las muestras por tribus, presentándose mayor cristalinidad en la tribu Apini, luego en Meliponi y las que tienen menor cristalinidad de todas que son las muestras de *Bombus atratus*; las muestras pertenecientes a la misma especie tienden a mantenerse agrupadas presentando porcentajes similares de cristalinidad.

Tabla 26. Porcentaje de cristalinidad de las muestras de cera

Muestra	% cristalinidad	Muestra	Cristalinidad %
<i>A. Nanotrigona</i> sp.	70,83	<i>I. M. fuscipes</i>	54,51
<i>C. Nanotrigona</i> sp.	72,35	<i>A. T. angustula</i>	60,00
<i>I. Nanotrigona</i> sp.	72,69	<i>C. T. angustula</i>	48,98
<i>E. Nanotrigona</i> sp.	73,90	<i>I. T. angustula</i>	49,06
<i>A. M. favosa favosa</i>	67,26	<i>A. T. nigra paupera</i>	40,27
<i>C. M. favosa favosa</i>	65,95	<i>C. T. nigra paupera</i>	33,46
<i>I. M. favosa favosa</i>	72,89	<i>I. T. nigra paupera</i>	39,09
<i>I. M. compressipes</i>	63,12	<i>A. B. atratus</i>	6,12
<i>A. M. compressipes</i>	68,20	<i>C. B. atratus</i>	5,88
<i>C. M. compressipes</i>	69,00	<i>I. B. atratus</i>	7,48
<i>A. M. fuscipes</i>	50,54	<i>Apis mellifera</i> (africanizada)	100,00
<i>C. M. fuscipes</i>	44,93		

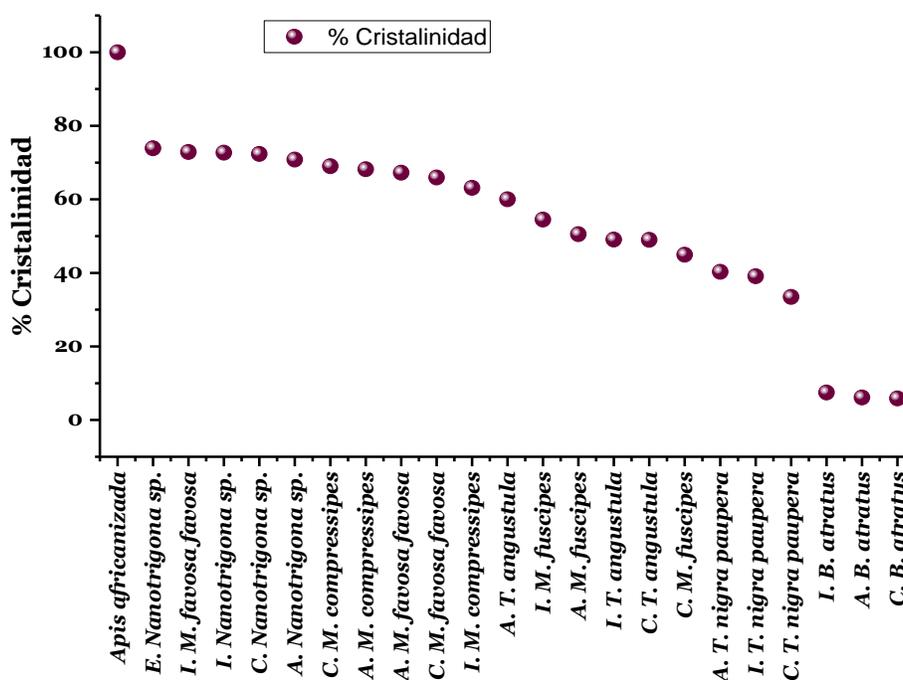


Figura 57. Porcentaje de cristalinidad. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

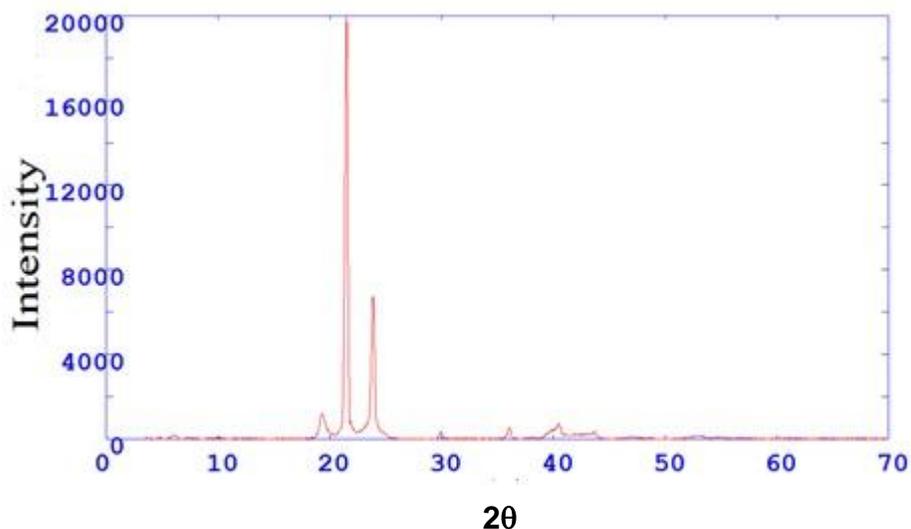


Figura 58. Difractograma de rayos X de la muestra de *Apis mellifera* (africanizada).

Acorde a la literatura, la estructura de la cera de abejas depende de su composición[88], y presenta dos formas de estructura cristalina, ortorrómbica y monoclinica, que se producen debido a la presencia de n-alcenos, ácidos grasos y ésteres[34] que presentan este tipo de estructuras cristalinas, algunas de sus capas pueden quedar desordenadas y esto le da carácter amorfo [89].

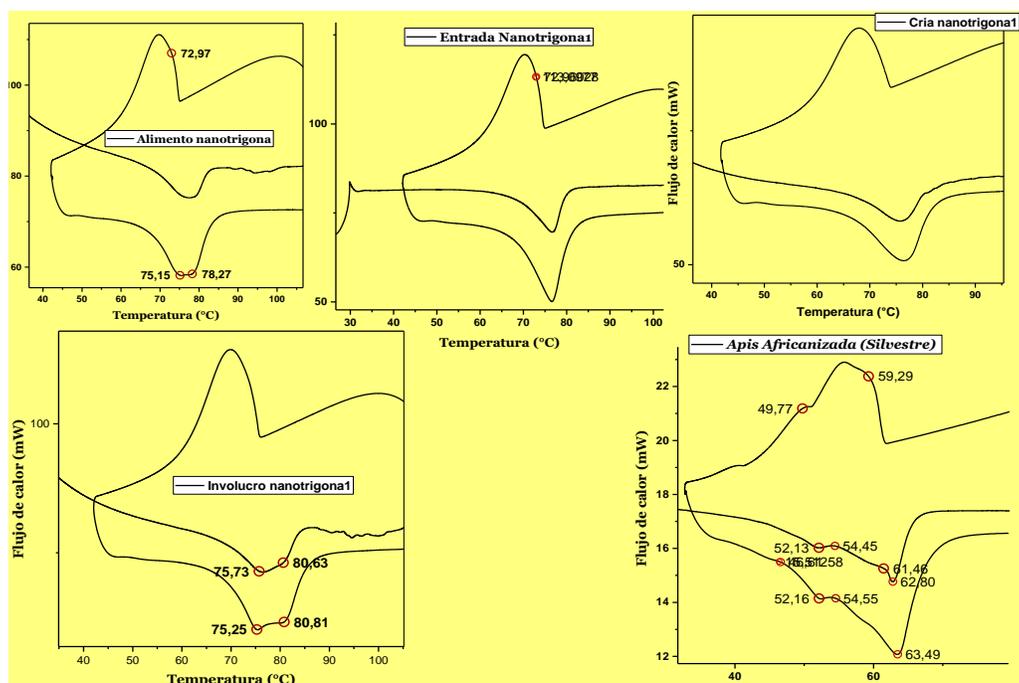


Figura 59. Transiciones polimórficas en la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) y *Nanotrigona* sp.

Las transiciones polimórficas (Figura 59) de la muestra de cera de *Apis mellifera* (africanizada), para el proceso de calentamiento, se observan a una temperatura de 52,13 °C, 54,45 °C y 61,46 °C; de acuerdo con la literatura, estas son transiciones ortorrómbico-rotator[34], ortorrómbico-hexagonal y sólido líquido[90]. Estas transiciones también se presentan en el enfriamiento y en el recalentamiento. En algunas ceras, no se observan estas transiciones en el proceso de calentamiento debido a que, se resuelven en ciclo tanto en enfriamiento como en recalentamiento.

En las muestras de *Nanotrigona* sp., se observan fluctuaciones en la señal de flujo de calor después del proceso de fusión durante el primer calentamiento; y se presentan debido a la pérdida de masa a estas temperaturas. En la muestra de cría, no se observan transiciones de fase diferentes a las de sólido-líquido, aunque en el proceso de enfriamiento se ensancha un poco el pico de fusión, pero no se alcanza a resolver para observar alguna transición. En el proceso de recalentamiento se observa claramente dos transiciones que están cercanas y es posible que estas transiciones no se deban a cambios de fase sólido-sólido sino, sólido-líquido de diferentes tipos de compuestos que funden a temperaturas cercanas y este mismo comportamiento se presenta para la muestra de involucro.

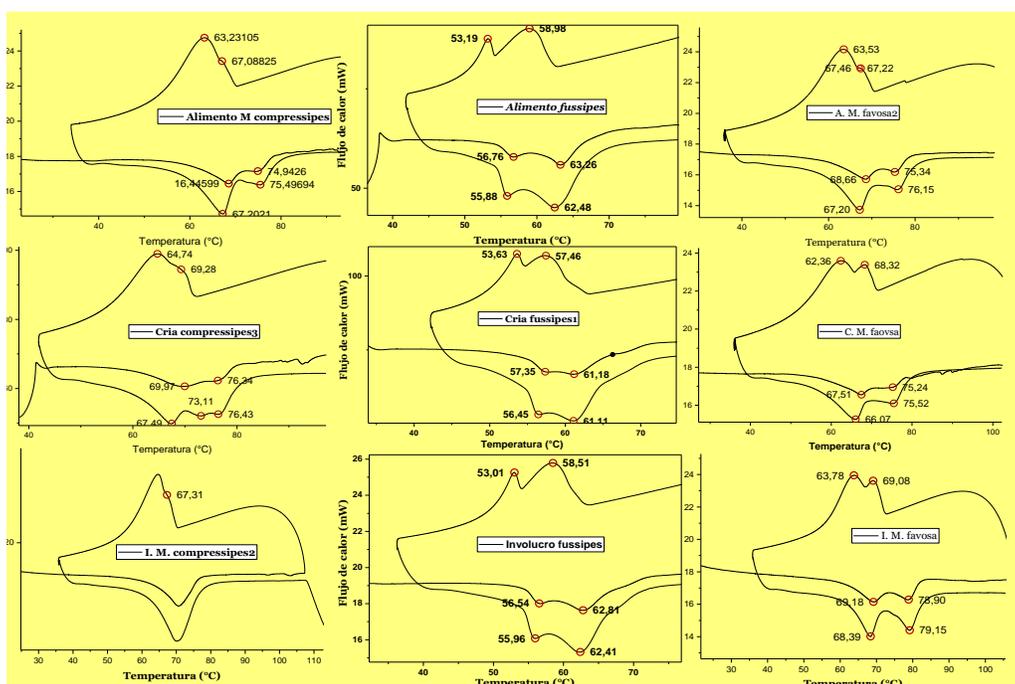


Figura 60. Transiciones polimórficas de las muestras de *Melipona compressipes*, *Melipona fuscipes* y *Melipona favosa favosa*.

En las muestras pertenecientes al género *Melipona* (Figura 60) también se observa fluctuaciones en la señal de flujo de calor debidas a la pérdida de masa, principalmente en las muestras de alimento y cría, estas fluctuaciones repercuten en la resolución de la señal y por ende pueden causar interferencia con las transiciones de cambios de fase. Las transiciones de estas muestras (cría y alimento) son similares excepto en la muestra de involucro de *Melipona compressipes*. Las transiciones se presentan a temperatura muy alta en la cual usualmente se reportan las transiciones de fase sólido-sólido; por lo que pueden deberse al

cambio de fase de compuestos que funden a diferentes temperaturas, cabe resaltar que estas muestras son las más complejas en cuanto a los componentes que contienen.

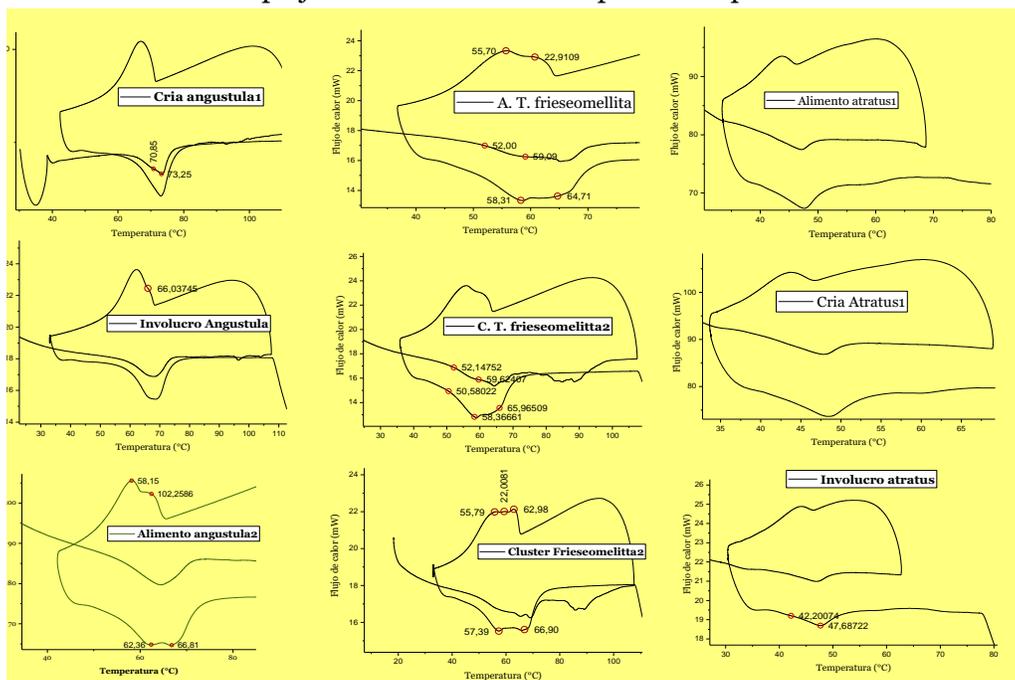


Figura 61. Transiciones polimórficas de las muestras de *Trigona angustula*, *Trigona nigra paupera* y *Bombus atratus*.

Las transiciones que presentan las muestras de cera de *Trigona angustula* (Figura 61), también se encuentran a temperaturas muy altas, y por lo tanto, se pueden deber a transiciones sólido-líquido de los diferentes compuestos que presentan las muestras. En cuanto a las muestras de cera de *Trigona nigra paupera*, la primera transición puede deberse a transiciones ortorrómbico-rotator y las otras a sólido-líquido. En la muestra de involucro de *Bombus atratus* se observa una transición diferente.

4.5 ANÁLISIS GENERAL

El clúster de la Figura 62 se realizó con los datos de todos los análisis térmicos y GC-MS, los valores que se utilizaron para este clúster son: calor de combustión, entalpía de fusión, temperatura de fusión, Temperatura inicial del proceso de fusión, Temperatura final del proceso de fusión, Temperatura del pico máximo del proceso de fusión, rango de fusión, pérdida de masa en el proceso de fusión, energía de activación del proceso de pirólisis, factor pre-exponencial del proceso de pirólisis, temperatura inicial del proceso de pirólisis, temperatura final del proceso de pirólisis, intervalo de temperatura del proceso de pirólisis, los valores del cambio en las funciones termodinámicas del proceso de pirólisis y las fracciones de los principales tipos de compuestos de las muestras. No se incluyó la muestra de cría de *Trigona angustula* ni la de entrada de *Nanotrigona* sp., debido a que no se analizaron por GC-MS.

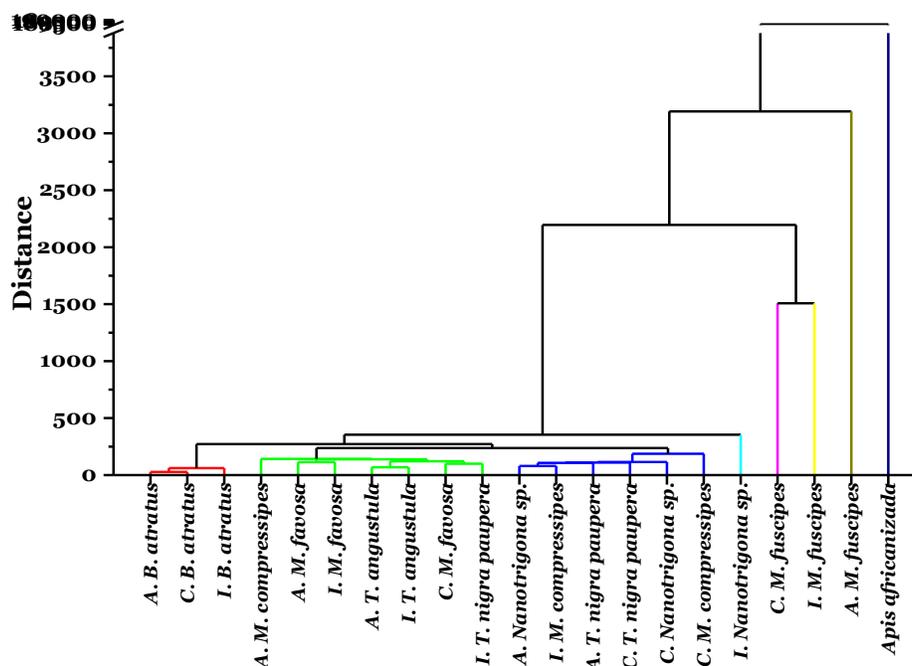


Figura 62. Clúster de los datos de los análisis térmicos y GC-MS. A: muestra de alimento; C: muestra de cría; I: muestra de involucro.

En este clúster, se evidencia el agrupamiento de las muestras de acuerdo con las tendencias presentadas en los resultados en cada uno de los análisis realizados. Se puede observar que están separadas en un grupo aparte las muestras pertenecientes a *Bombus atratus*, mostrando que existen claras diferencias entre estas con las demás muestras. De forma similar, la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) se aparta individualmente en un único grupo y la distancia euclídea a la cual se encuentra de las demás muestras en el clúster, no es comparable con las distancias a las que se encuentran conectadas las demás muestras.

Por otra parte, cada una de las muestras de *Melipona fuscipes* se encuentran en un único grupo ya que se hallan juntas con distancias euclídeas similares, lo que refleja que las muestras tienen más características similares entre ellas que con las demás muestras. Las muestras de *Nanotrigona* sp., se encuentran separadas entre ellas alternadas en otras muestras de la tribu Meliponini e incluso de las otras del mismo nido que se encuentran en otro grupo con muestras de *Melipona compressipes* y *Trigona nigra paupera*. Muy cercanas a estas. En otro grupo mayoritario se encuentran las muestras de *Trigona angustula*.

En cuanto a la correlación de todos los resultados entre las muestras, el clúster compila todos los parámetros térmicos determinados. De acuerdo con lo expuesto en el párrafo anterior, el análisis de los espectros infrarrojo concuerda con los resultados del clúster; ya que la tendencia que presentan las muestras en este clúster es similar a la que presentan en el análisis de componentes principales aplicado a los espectros infrarrojo que se muestra en la Figura 34.

Si bien los espectros infrarrojo y los resultados de los análisis térmicos reflejan el mismo comportamiento de las muestras, no se encontraron correlaciones lineales entre las propiedades y/o parámetros calculados de los análisis térmicos y las fracciones de los tipos de compuestos que conforman las muestras de cera detectados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, como tampoco con las fracciones de las bandas de grupos funcionales de los espectros infrarrojo. Sin embargo, a pesar que no se presentan correlaciones lineales, se observa que las muestras que tienen una proporción alta de hidrocarburos de alto peso molecular presentan mayor temperatura de fusión y entalpía de fusión; es posible que al correlacionar directamente la fracción de un tipo de compuestos vs alguna propiedad de la muestra todos los compuestos del mismo tipo no favorezcan la tendencia en el mismo sentido, por ejemplo: las muestras de *Bombus atratus* y *Apis mellifera* (africanizada) tienen fracciones de hidrocarburos mayores de 90% y mientras la muestra de *Apis mellifera* (africanizada) tiene punto de fusión y entalpía de fusión altos las muestras de *Bombus atratus* tienen puntos de fusión y entalpía de fusión con valores bajos; tanto así que en los resultados de los análisis realizados a las muestras de estas especies se encuentran en extremos diferentes (no son comparables).

5. CONCLUSIONES

La composición química de las ceras está relacionada básicamente con el comportamiento térmico y las propiedades térmicas de las ceras. Unos de los componentes que posiblemente determina las mayores diferencias de los resultados obtenidos entre estas muestras, son los hidrocarburos; ya que se observa que cuanto mayor es la fracción de estos en la cera, mayor es el contenido energético de estas y se requiere de mayor cantidad de energía para provocar un cambio o transformación.

La composición química de las muestras de cera de los potes de alimento y celdas de cría presenta mayor similitud entre ellas, que con la muestra de involucro.

Los espectros IR de las muestras de *Bombus atratus* difieren bastante de los espectros de las demás muestras, especialmente en las bandas de los enlaces O-H y C-O a 3395 cm^{-1} y 1050 cm^{-1} respectivamente. Los espectros de las muestras de cera de *Apis* son distintos de todas las demás. Los espectros IR de las muestras de la tribu Meliponini son similares en cuanto a que presentan las mismas bandas con relaciones similares entre ellas, cada una se caracteriza por algún cambio específico en la proporción de estas.

Los resultados revelaron que existen diferencias significativas entre especies de todos los géneros analizados, sin embargo, se mantiene una cercanía en los resultados de especies pertenecientes al mismo género; a excepción del género *Trigona*, ya que los resultados no muestran similitudes evidentes entre *Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera* y *Trigona (Tetragosnisca) angustula*.

La cinética del proceso de pirólisis es de orden 1 y se rige por la ecuación de Arrhenius que puede ajustarse con el modelo KAS.

Los resultados muestran que dentro de las especies no hay diferencias significativas en el comportamiento térmico de las muestras analizadas de *Melipona compressipes*, *Trigona (Frieseomelitta) nigra paupera*, *Trigona (Tetragosnisca) angustula*, y *Bombus atratus*. Se encontraron diferencias significativas dentro de la misma especie en *Melipona favosa favosa* y *Melipona fuscipes*.

Los valores de calor de fusión, temperatura de fusión y parámetros de Arrhenius de las especies del género *Apis* son los más altos, mientras que, los de las especies del género *Bombus* son los más pequeños y los de los de las muestras de la tribu Meliponini no presentan diferencias tan marcadas entre estas como si se evidencia entre tribus.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer un trabajo similar a éste, tomando muestras de diferentes colmenas de la misma especie, que estén ubicadas en sitios distantes una de la otra o en diferentes regiones.

Se sugiere realizar un análisis con microscopía electrónica de barrido aplicando una rampa de calentamiento que permita identificar las transiciones polimórficas de los compuestos cristalinos presentes en estas muestras.

Para complementar este trabajo se pueden determinar las propiedades mecánicas y eléctricas de estas muestras.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] M. nacional de medio Ambiente, Mecanismos de Información de Páramos, 2013. <http://www.paramo.org/files/recursos/politicabiodiversidad.pdf>.
- [2] C. de noticias ONU, Ban aboga por un crecimiento más verde e inclusivo, (2015). <http://www.un.org/spanish/News/story.asp?NewsID=31483#.WQfxrYWcHSF>.
- [3] G. Nates-Parra, V.H. Gonzalez, Las Abejas Silvestres De Colombia: Por Qué Y Cómo Conservarlas, *Acta Biológica Colomb.* 5 (2000) 33. <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/26678>.
- [4] M.D. Ordóñez, El TLC con Corea, (2015). <http://www.semana.com/opinion/articulo/miguel-duran-ordonez-el-tlc-con-corea/414893-3>.
- [5] C.D. Michener, A generic review of Dufoureae of the Western Hemisphere(Hymenoptera:Halictidae), *Entomol. Soc. Am.* 58 (1965) 321–326. doi:<https://doi.org/10.1093/aesa/58.3.321>.
- [6] C.D. MICHENER, L. GREENBERG, Ctenoplectridae and the origin of long-tongued bees*, *Zool. J. Linn. Soc.* 69 (1980) 183–203. doi:10.1111/j.1096-3642.1980.tb01122.x.
- [7] M.L. Winston, *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. David W. Roubik. Cambridge University Press, New York, 1989. x, 514 pp., illus. \$69.50. Cambridge Tropical Biology Series., *Science.* 248 (1990) 1026–1027. doi:10.1126/science.248.4958.1026.
- [8] F. Koch, Hanson, P. E. & Gauld, I. D. (1995): *The Hymenoptera of Costa Rica*. - Oxford University Press. 893 pages. Price: UM 380.-. ISBN 0-19-854905-9, *Dtsch. Entomol. Zeitschrift.* 44 (2008) 136–136. doi:10.1002/mmnd.19970440203.
- [9] G. Nates-Parra, *Abejas corbiculadas de Colombia*. Hymenoptera: Apidae, Bogotá, 2007.
- [10] H. Hepburn R., R. Bernard T.F., B. Davidson C., W. Muller J., P. Lloyd, S. Kurstjens P., S. Vincent L., Synthesis and secretion of beeswax in honeybees, *Apidologie.* 22 (1991) 21–36. <http://dx.doi.org/10.1051/apido:19910104>.
- [11] D.W. Roubik, Stingless bee nesting biology, *Apidologie.* 37 (2006) 124–143. doi:10.1051/apido.
- [12] J. javier G., Q. Éuan, *Biología y uso de las abejas sin aguijón de la península de Yucatán, México (Hymenoptera: Meliponini)*, 2005.
- [13] B. Fröhlich, J. Tautz, M. Riederer, Chemometric Classification of Comb and Cuticular Waxes of the Honeybee *Apis Mellifera Carnica*, *J. Chem. Ecol.* 26 (2000) 123–137. doi:10.1023/A:1005493512305.
- [14] M. Maia, F.M. Nunes, Authentication of beeswax (*Apis mellifera*) by high-temperature gas chromatography and chemometric analysis, *Food Chem.* 136 (2013) 961–968. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.003>.
- [15] A. Brockmann, C. Groh, B. Fröhlich, Wax perception in honeybees: contact is not necessary, *Naturwissenschaften.* 90 (2003) 424–427. doi:10.1007/s00114-003-0442-3.
- [16] A. Asperger, W. Engewald, G. Fabian, Analytical characterization of natural

- waxes employing pyrolysis–gas chromatography–mass spectrometry, *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 50 (1999) 103–115. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0165-2370\(99\)00031-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-2370(99)00031-5).
- [17] U. Knuutinen, A. Norrman, Wax Analysis in conservation objects by solubility studies, FTIR and DSC, (n.d.). <http://www.ndt.net/article/wcndt00/papers/idn555/idn555.htm>.
- [18] R. Buchwald, M.D. Breed, A.R. Greenberg, G. Otis, Interspecific variation in beeswax as a biological construction material, (2006) 3984–3989. doi:10.1242/jeb.02472.
- [19] A. Asperger, W. Engewald, G. Fabian, Thermally assisted hydrolysis and methylation – a simple and rapid online derivatization method for the gas chromatographic analysis of natural waxes, *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 61 (2001) 91–109. doi:10.1016/S0165-2370(01)00116-4.
- [20] A.M. Stearman, E. Stierlin, M.E. Sigman, D.W. Roubik, D. Dorrien, Stradivarius in the Jungle: Traditional Knowledge and the Use of “Black Beeswax” Among the Yuqu of the Bolivian Amazon, *Hum. Ecol.* 36 (2008) 149–159. doi:10.1007/s10745-007-9153-2.
- [21] M. Akaike, Data Recording Materials Made from Insect Wax: CERA RICA NODA, JAPAN CLOSE-UP. (2002). http://www.japanfs.org/en/takumi/takumi_id034096.html.
- [22] H. Soloway, Melting point tables of organic compounds, 2nd revised and supplemented edition, *Microchem. J.* 8 (1964) 210–211. doi:10.1016/0026-265X(64)90056-6.
- [23] A.P. Tulloch, The composition of beeswax and other waxes secreted by insects, *Lipids.* 5 (1969) 247–258. doi:10.1007/BF02532476.
- [24] G.E. Timbers, G.D. Robertson, T.A. Gochnauer, Thermal Properties of Beeswax and Beeswax-Paraffin Mixtures, *J. Apic. Res.* 16 (1977) 49–55. doi:10.1080/00218839.1977.11099860.
- [25] E.E. Southwick, Thermal conductivity of wax comb and its effect on heat balance in colonial honey bees (*Apis mellifera* L.), *Experientia.* 41 (1985) 1486–1487. doi:10.1007/BF01950051.
- [26] A.P. Tulloch, Beeswax: Structure of the esters and their component hydroxy acids and diols, *Chem. Phys. Lipids.* 6 (1971) 235–265. doi:10.1016/0009-3084(71)90063-6.
- [27] R. Aichholz, E. Lorbeer, Investigation of combwax of honeybees with high-temperature gas chromatography and high-temperature gas chromatography–chemical ionization mass spectrometry: I. High-temperature gas chromatography, *J. Chromatogr. A.* 855 (1999) 601–615. doi:10.1016/S0021-9673(99)00725-6.
- [28] R. Aichholz, E. Lorbeer, Investigation of combwax of honeybees with high-temperature gas chromatography and high-temperature gas chromatography–chemical ionization mass spectrometry, II: High-temperature gas chromatography–chemical ionization mass., *J. Chromatogr. A.* 883 (2000) 75–88. doi:10.1016/S0021-9673(00)00386-1.
- [29] S.P. Kurstjens, E. McClain, H.R. Hepburn, The proteins of beeswax, *Naturwissenschaften.* 77 (n.d.) 34–35. doi:10.1007/BF01131795.
- [30] J. Morgan, S. Townley, G. Kemble, R. Smith, Measurement of physical and

- mechanical properties of beeswax, *Mater. Sci. Technol.* 18 (2002) 463–467. doi:10.1179/026708302225001714.
- [31] G.J. Blomquist, D.W. Roubik, S.L. Buchmann, Wax chemistry of two stingless bees of the *Trigonisca* group (Apidae: Meliponinae), *Comp. Biochem. Physiol. Part B Comp. Biochem.* 82 (1985) 137–142. doi:http://dx.doi.org/10.1016/0305-0491(85)90142-7.
- [32] B. V Milborrow, J.M. Kennedy, A. Dollin, Composition of Wax Made by the Australian Stingless Bee *Trigona australis*, *Aust. J. Biol. Sci.* 40 (1987) 15–26. http://www.publish.csiro.au/paper/BI9870015.
- [33] D. Koedam, H. Jungnickel, J. Tentschert, G.R. Jones, E.D. Morgan, Production of wax by virgin queens of the stingless bee *Melipona bicolor* (Apidae, Meliponinae), *Insectes Soc.* 49 (2002) 229–233. doi:10.1007/s00040-002-8306-y.
- [34] Y. Gaillard, A. Mija, A. Burr, E. Darque-Ceretti, E. Felder, N. Sbirrazzuoli, Green material composites from renewable resources: Polymorphic transitions and phase diagram of beeswax/rosin resin, *Thermochim. Acta.* 521 (2011) 90–97. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2011.04.010.
- [35] E.Y.T. Mattos, Determinación de calores de combustión de seis especies de abejas nativas de Colombia, Universidad de pamplona, 2010.
- [36] F. Pinzón, A. Torres, W. Hoffmann, I. Lamprecht, Thermoanalytical and infrared spectroscopic investigations on wax samples of native Colombian bees living in different altitudes, *Eng. Life Sci.* 13 (2013) 520–527. doi:10.1002/elsc.201200103.
- [37] A. SKOOG Douglas, H. James, T.A. NIEMAN, Cromatografía de gases, in: McGraw-Hill (Ed.), *Principios Análisis Instrum.*, 5th ed., Madrid España, 2001: pp. 779–784.
- [38] A. SKOOG Douglas, H. James, T.A. NIEMAN, Espectrometría de masas molecular, in: McGraw-Hill (Ed.), *Principios Análisis Instrum.*, 5th ed., Madrid España, 2001: pp. 537–575.
- [39] F.G. Kitson, B.S. Larsen, C.N. McEwen, What Is GC/MS?, in: *Gas Chromatogr. Mass Spectrom.*, Elsevier, 1996: pp. 3–23. doi:10.1016/B978-012483385-2/50002-6.
- [40] M. Moeder, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, in: K. Dettmer-Wilde, W. Engewald (Eds.), *Pract. Gas Chromatogr. A Compr. Ref.*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2014: pp. 303–350. doi:10.1007/978-3-642-54640-2_9.
- [41] J. a Whitecavage, J.R. Stuff, Multidimensional GC Analysis of Complex Samples, (2005). http://www.gerstel.com/pdf/p-gc-an-2005-02.pdf.
- [42] A. SKOOG Douglas, H. James, T.A. NIEMAN, Espectrometría atómica de rayos X, in: McGraw-Hill (Ed.), *Principios Análisis Instrum.*, 5th ed., Madrid España, 2001: pp. 291–318.
- [43] Y. Waseda, E. Matsubara, K. Shinoda, Diffraction from Polycrystalline Samples and Determination of Crystal Structure, in: *X-Ray Diffr. Crystallogr. Introd. Examples Solved Probl.*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2011: pp. 107–167. doi:10.1007/978-3-642-16635-8_4.
- [44] G.W.H. Höhne, W.F. Hemminger, H.-J. Flammersheim, Types of Differential Scanning Calorimeters and Modes of Operation, in: *Differ. Scanning Calorim.*,

- Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2003: pp. 9–30. doi:10.1007/978-3-662-06710-9_2.
- [45] P. Starzewski, W. Zielenkiewicz, DSC-TG studies of coal structure modification by the inert gas helium, *Thermochim. Acta.* 160 (1990) 215–222. doi:10.1016/0040-6031(90)80261-V.
- [46] R. Buchwald, M.D. Breed, A.R. Greenberg, The thermal properties of beeswaxes: unexpected findings, *J. Exp. Biol.* 211 (2007) 121–127. <http://jeb.biologists.org/content/211/1/121.abstract>.
- [47] P. Larkin, P. Larkin, Chapter 1 – Introduction: Infrared and Raman Spectroscopy, in: *Infrared Raman Spectrosc.*, 2011: pp. 1–5. doi:10.1016/B978-0-12-386984-5.10001-1.
- [48] X. Huang, J.-P. Cao, X.-Y. Zhao, J.-X. Wang, X. Fan, Y.-P. Zhao, X.-Y. Wei, Pyrolysis kinetics of soybean straw using thermogravimetric analysis, *Fuel.* 169 (2016) 93–98. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2015.12.011>.
- [49] M. Van de Velden, J. Baeyens, A. Brems, B. Janssens, R. Dewil, Fundamentals, kinetics and endothermicity of the biomass pyrolysis reaction, *Renew. Energy.* 35 (2010) 232–242. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2009.04.019>.
- [50] S. Mallakpour, M. Taghavi, Molten tetrabutylammonium bromide as eco-friendly media for the synthesis of optically active and thermal stable polyamides under microwave irradiation, *Polym. J.* 40 (2008) 1049–1059. doi:10.1295/polymj.PJ2008056.
- [51] F. Haloua, B. Hay, E. Foulon, Uncertainty analysis of theoretical methods for adiabatic temperature rise determination in calorimetry, *J. Therm. Anal. Calorim.* 111 (2013) 985–994. doi:10.1007/s10973-012-2342-2.
- [52] D.R. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 90th Edition, Taylor & Francis, 2009. <https://books.google.com.co/books?id=OmkbNgAACAAJ>.
- [53] J.R. Loften, J.G. Linn, J.K. Drackley, T.C. Jenkins, C.G. Soderholm, A.F. Kertz, Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows, *J. Dairy Sci.* 97 (2014) 4661–4674. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2014-7919>.
- [54] M.W. Gregg, Organic Residues, in: A.S. Gilbert (Ed.), *Encycl. Geoarchaeology*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2017: pp. 555–566. doi:10.1007/978-1-4020-4409-0_36.
- [55] I. Bonaduce, M.P. Colombini, Characterisation of beeswax in works of art by gas chromatography–mass spectrometry and pyrolysis–gas chromatography–mass spectrometry procedures, *J. Chromatogr. A.* 1028 (2004) 297–306. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2003.11.086>.
- [56] A.A. Righi, G. Negri, A. Salatino, Comparative chemistry of propolis from eight brazilian localities, *Evidence-Based Complement. Altern. Med.* 2013 (2013). doi:10.1155/2013/267878.
- [57] K.-J.J. Kim, T.-J.J. Eom, Chemical characteristics of degraded beeswax in the waxed volume of the annals of King Sejong in the Joseon Dynasty, *J. Cult. Herit.* 16 (2015) 919–922. doi:10.1016/j.culher.2015.03.012.
- [58] C.-C. Lin, K.A. Prokop-Prigge, G. Preti, C.J. Potter, Food odors trigger *Drosophila* males to deposit a pheromone that guides aggregation and female oviposition decisions., *Elife.* 4 (2015). doi:10.7554/eLife.08688.
- [59] J. Serra Bonvehi, F.J. Orantes Bermejo, Detection of adulterated commercial Spanish beeswax, *Food Chem.* 132 (2012) 642–648.

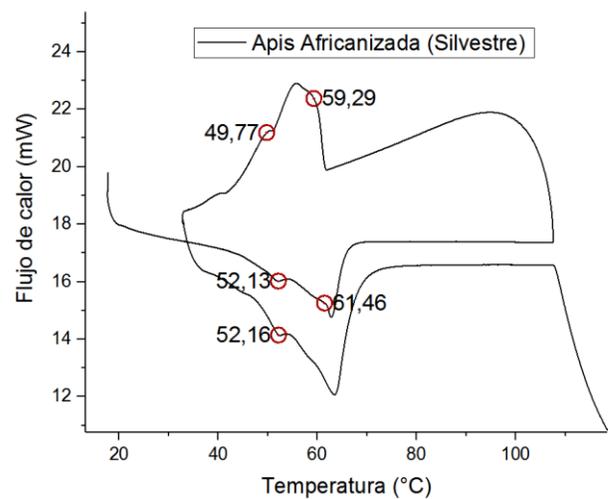
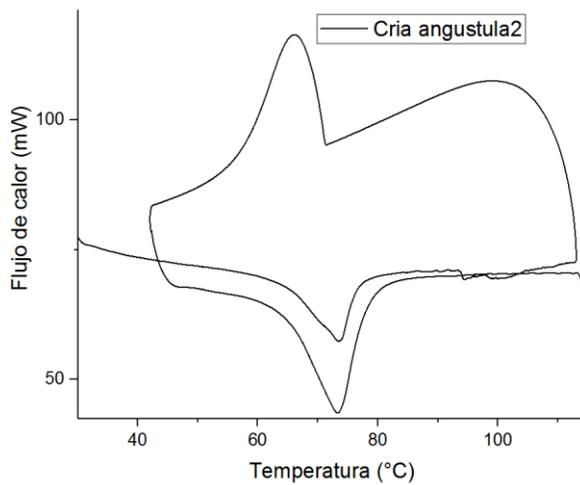
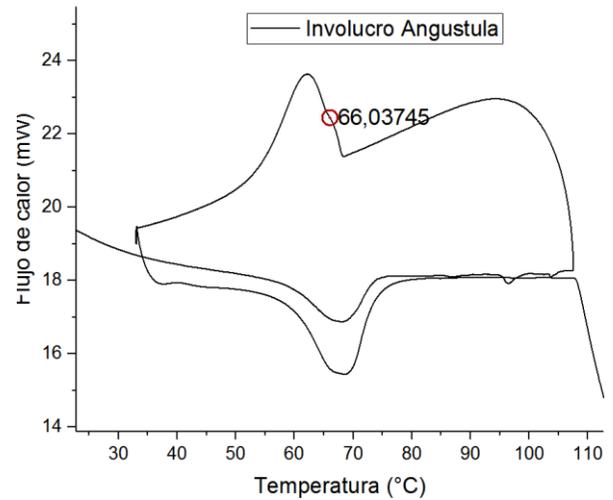
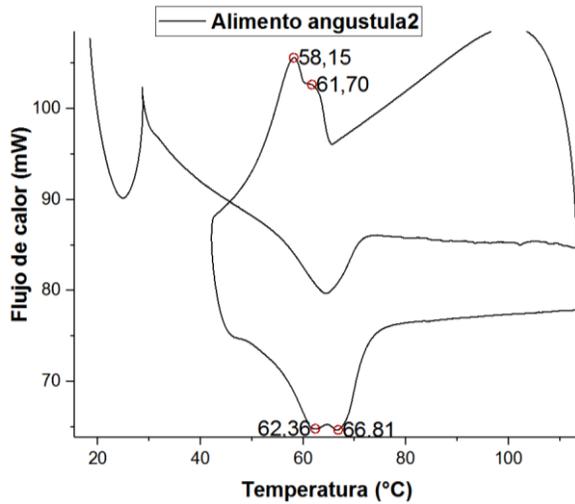
- doi:10.1016/j.foodchem.2011.10.104.
- [60] M. Regert, S. Colinart, L. Degrand, O. Decavallas, Chemical Alteration and Use of Beeswax Through Time: Accelerated Ageing Tests and Analysis of Archaeological Samples from Various Environmental Contexts, *Archaeometry*. 43 (2001) 549–569. doi:10.1111/1475-4754.00036.
- [61] J.J. Jiménez, J.L. Bernal, S. Aumente, M.J. Del Nozal, M.T. Martín, J. Bernal, Quality assurance of commercial beeswax: Part I. Gas chromatography-electron impact ionization mass spectrometry of hydrocarbons and monoesters, *J. Chromatogr. A*. 1024 (2004) 147–154. doi:10.1016/j.chroma.2003.10.063.
- [62] J.J. Jiménez, J.L. Bernal, S. Aumente, L. Toribio, J. Bernal, Quality assurance of commercial beeswax: II. Gas chromatography-electron impact ionization mass spectrometry of alcohols and acids, *J. Chromatogr. A*. 1007 (2003) 101–116. doi:10.1016/S0021-9673(03)00962-2.
- [63] N. Abdel-Raouf, N.M. Al-Enazi, A.A. Al-Homaidan, I.B.M. Ibraheem, M.R. Al-Othman, A.A. Hatamleh, Antibacterial β -amyryn isolated from *Laurencia microcladia*, *Arab. J. Chem.* 8 (2015) 32–37. doi:10.1016/j.arabjc.2013.09.033.
- [64] B. V Milborrow, J.M. Kennedy, A. Dollin, Composition of Wax Made by the Australian Stingless Bee *Trigona australis*, *Aust. J. Biol. Sci.* 40 (1987) 15–26. doi:https://doi.org/10.1071/BI9870015.
- [65] A. Talevi, M.S. Cravero, E.A. Castro, L.E. Bruno-Blanch, Discovery of anticonvulsant activity of abietic acid through application of linear discriminant analysis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 1684–1690. doi:https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.12.098.
- [66] M.A. González, D. Pérez-Guaita, J. Correa-Royero, B. Zapata, L. Agudelo, A. Mesa-Arango, L. Betancur-Galvis, Synthesis and biological evaluation of dehydroabietic acid derivatives, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 811–816. doi:https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.10.010.
- [67] J. Kim, Y.-G. Kang, J. Lee, D. Choi, Y. Cho, J.-M. Shin, J.S. Park, J.H. Lee, W.G. Kim, D.B. Seo, T.R. Lee, Y. Miyamoto, K.T. No, The natural phytochemical dehydroabietic acid is an anti-aging reagent that mediates the direct activation of SIRT1, *Mol. Cell. Endocrinol.* 412 (2015) 216–225. doi:https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.05.006.
- [68] J.L. Ríos, M.C. Recio, S. Mañáñez, R.M. Giner, Natural Triterpenoids as Anti-Inflammatory Agents, in: *Stud. Nat. Prod. Chem.*, 2000: pp. 93–143. doi:10.1016/S1572-5995(00)80024-1.
- [69] D. López, L. Cherigo, C. Spadafora, M.A. Loza-Mejía, S. Martínez-Luis, Phytochemical composition, antiparasitic and α -glucosidase inhibition activities from *Pelliciera rhizophorae*, *Chem. Cent. J.* 9 (2015) 53. doi:10.1186/s13065-015-0130-3.
- [70] N. Bailón-Moscoso, J.C. Romero-Benavides, M. Sordo, J. Villacís, R. Silva, L. Celi, M. Martínez-Vázquez, P. Ostrosky-Wegman, Phytochemical study and evaluation of cytotoxic and genotoxic properties of extracts from *Clusia latipes* leaves, *Rev. Bras. Farmacogn.* 26 (2016) 44–49. doi:https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.014.
- [71] L. WU, Z.-L. CHEN, Y. SU, Q.-H. WANG, H.-X. KUANG, Cycloartenol triterpenoid saponins from *Cimicifuga simplex* (Ranunculaceae) and their

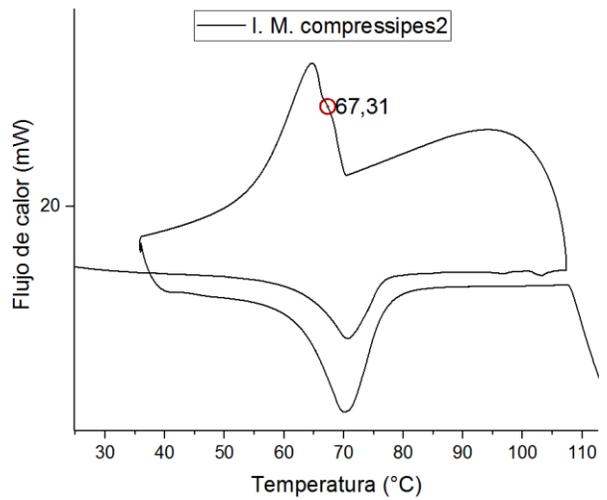
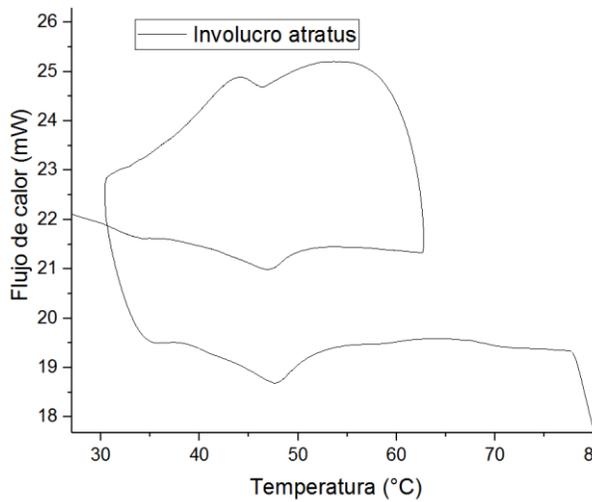
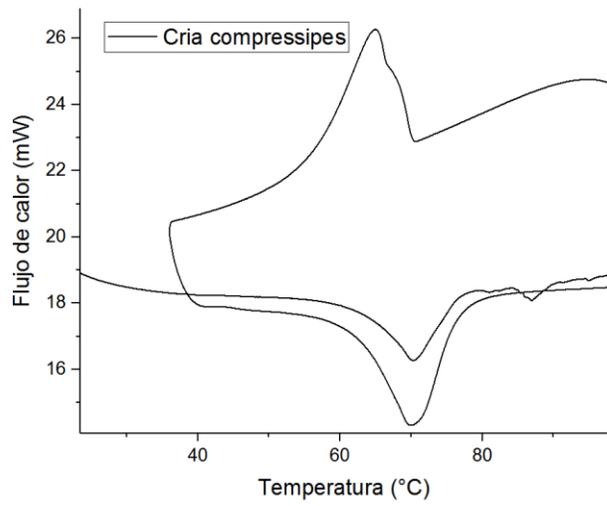
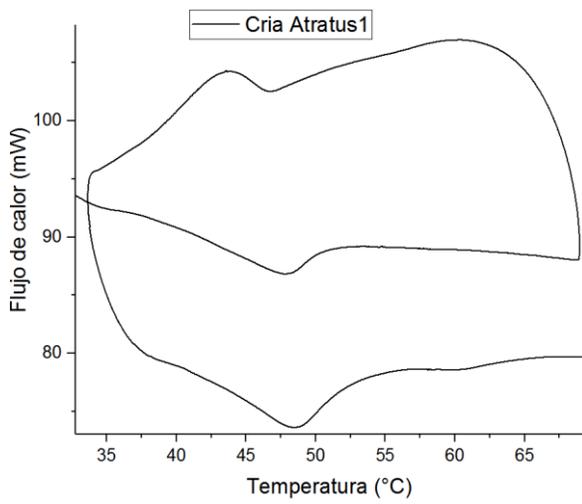
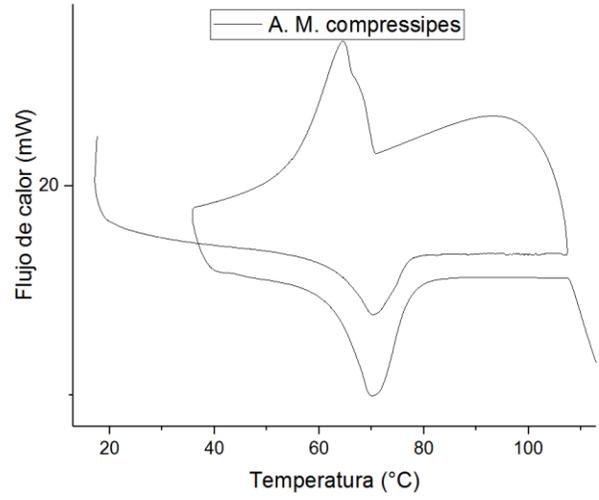
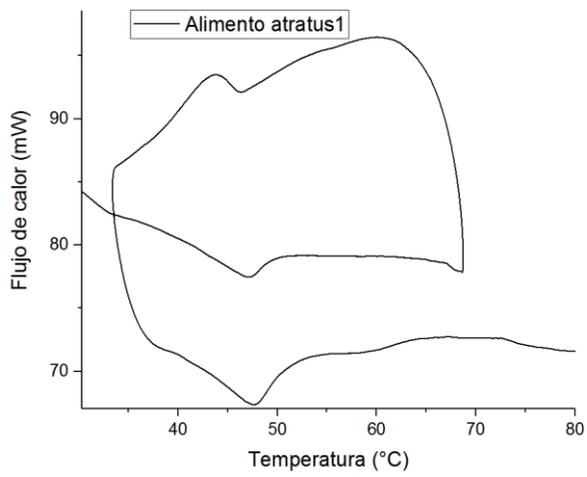
- biological effects, *Chin. J. Nat. Med.* 13 (2015) 81–89. doi:[https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)60011-5](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)60011-5).
- [72] A. Peramo, S. Mura, S.O. Yesylevskyy, B. Cardey, D. Sobot, S. Denis, C. Ramseyer, D. Desmaële, P. Couvreur, Squalene versus cholesterol: Which is the best nanocarrier for the delivery to cells of the anticancer drug gemcitabine?, *Comptes Rendus Chim.* (2018). doi:<https://doi.org/10.1016/j.crci.2018.02.008>.
- [73] S. Ishiai, H. Kondo, T. Hattori, M. Mikami, Y. Aoki, S. Enoki, S. Suzuki, Hordenine is responsible for plant defense response through jasmonate-dependent defense pathway, *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 96 (2016) 94–100. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2016.10.003>.
- [74] C.L. Cantrell, S.G. Franzblau, N.H. Fischer, Antimycobacterial plant terpenoids., *Planta Med.* 67 (2001) 685–694. doi:10.1055/s-2001-18365.
- [75] D.L. Lucetti, E.C.P. Lucetti, M.A.M. Bandeira, H.N.H. Veras, A.H. Silva, L.K.A.M. Leal, A.A. Lopes, V.C.C. Alves, G.S. Silva, G.A. Brito, G.B. Viana, Anti-inflammatory effects and possible mechanism of action of lupeol acetate isolated from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel, *J. Inflamm. (Lond.)* 7 (2010) 60. doi:10.1186/1476-9255-7-60.
- [76] P.K. Chaturvedi, K. Bhui, Y. Shukla, Lupeol: Connotations for chemoprevention, *Cancer Lett.* 263 (2008) 1–13. doi:<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.01.047>.
- [77] W. Kaialy, U. Khan, S. Mawlud, Influence of mannitol concentration on the physicochemical, mechanical and pharmaceutical properties of lyophilised mannitol, *Int. J. Pharm.* 510 (2016) 73–85. doi:10.1016/j.ijpharm.2016.05.052.
- [78] Y. Sun, D. Zhou, F. Shahidi, Antioxidant properties of tyrosol and hydroxytyrosol saturated fatty acid esters, *Food Chem.* 245 (2018) 1262–1268. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.051>.
- [79] D.-Y. Zhou, Y.-X. Sun, F. Shahidi, Preparation and antioxidant activity of tyrosol and hydroxytyrosol esters, *J. Funct. Foods.* 37 (2017) 66–73. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.06.042>.
- [80] J. Cremer, V. Vatou, I. Braveny, 2,4-(hydroxyphenyl)-ethanol, an antioxidative agent produced by *Candida* spp., impairs neutrophilic yeast killing in vitro., *FEMS Microbiol. Lett.* 170 (1999) 319–325.
- [81] P. Dewapriya, S.W.A. Himaya, Y.-X. Li, S.-K. Kim, Tyrosol exerts a protective effect against dopaminergic neuronal cell death in in vitro model of Parkinson's disease, *Food Chem.* 141 (2013) 1147–1157. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.004>.
- [82] L. Svečnjak, G. Baranović, M. Vinceković, S. Prđun, D. Bubalo, I.T. Gajger, N approach for routine analytical detection of beeswax adulteration using ftir-atr spectroscopy, *J. Apic. Sci.* 59 (2015) 37–49. doi:10.1515/JAS-2015-0018.
- [83] A.P. Tulloch, Beeswax—Composition and Analysis, *Bee World.* 61 (1980) 47–62. doi:10.1080/0005772X.1980.11097776.
- [84] Y. Gaillard, M. Girard, G. Monge, A. Burr, E.D. Ceretti, E. Felder, Superplastic behavior of rosin/beeswax blends at room temperature, *J. Appl. Polym. Sci.* 128 (2013) 2713–2719. doi:10.1002/app.38333.
- [85] Y.-F. Huang, P.-T. Chiueh, W.-H. Kuan, S.-L. Lo, Microwave pyrolysis of lignocellulosic biomass: Heating performance and reaction kinetics, *Energy.*

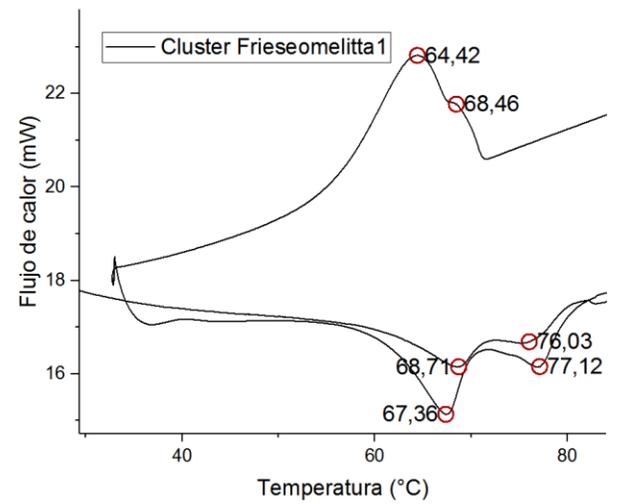
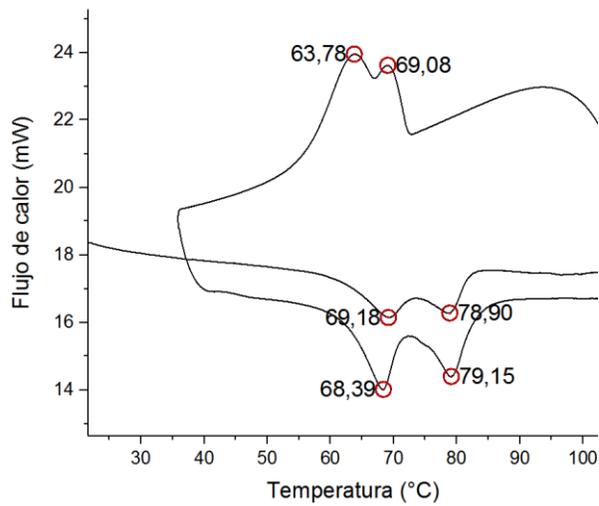
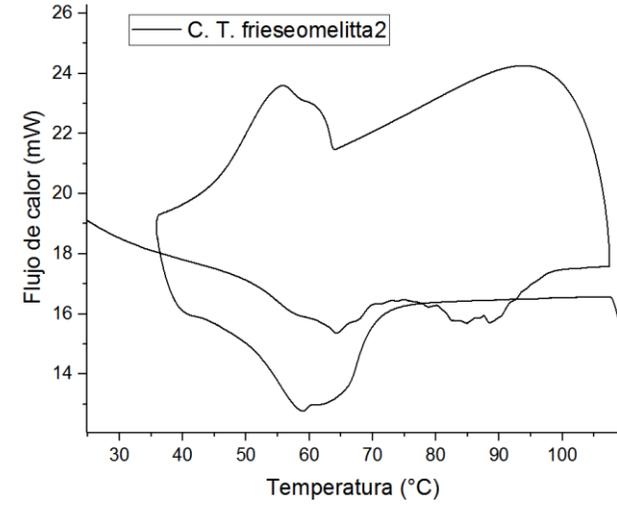
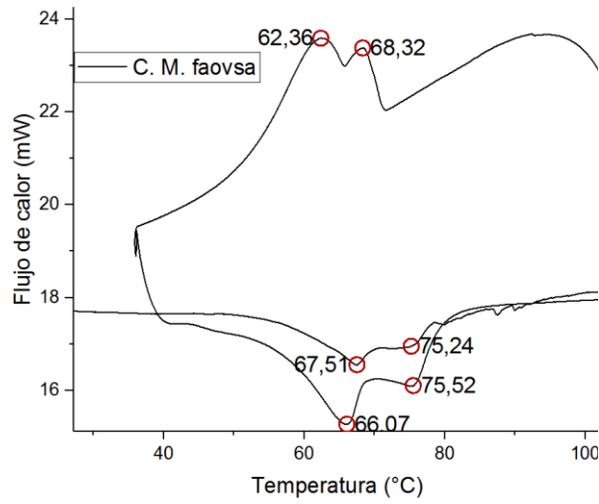
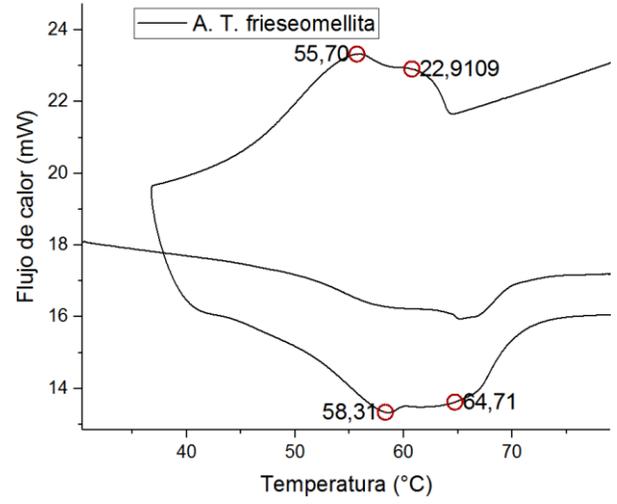
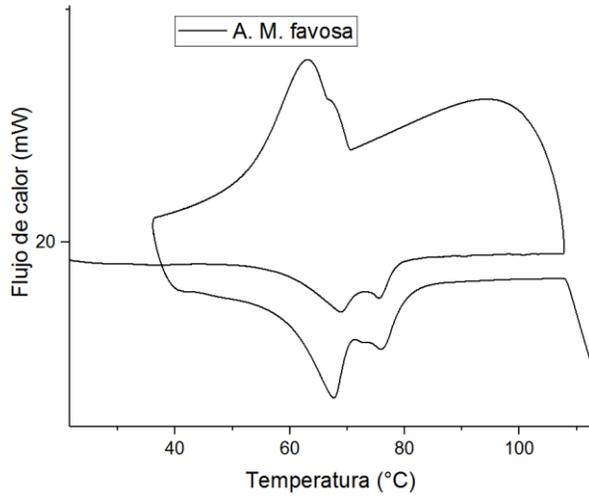
- 100 (2016) 137–144. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2016.01.088>.
- [86] K.H. Lee, S.C. Oh, Kinetics of the thermal degradation of wax materials obtained from pyrolysis of mixed waste plastics, *Korean J. Chem. Eng.* 27 (2010) 139–143. doi:[10.1007/s11814-009-0305-5](https://doi.org/10.1007/s11814-009-0305-5).
- [87] A.A. Attama, C.C. Müller-Goymann, Effect of beeswax modification on the lipid matrix and solid lipid nanoparticle crystallinity, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 315 (2008) 189–195. doi:[10.1016/j.colsurfa.2007.07.035](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.07.035).
- [88] S. Martini, C.Y. Tan, S. Jana, Physical Characterization of Wax/Oil Crystalline Networks, *J. Food Sci.* 80 (2015) C989–C997. doi:[10.1111/1750-3841.12853](https://doi.org/10.1111/1750-3841.12853).
- [89] M. Mellema, Co-crystals of Beeswax and Various Vegetable Waxes with Sterols Studied by X-ray Diffraction and Differential Scanning Calorimetry, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86 (2009) 499–505. doi:[10.1007/s11746-009-1385-4](https://doi.org/10.1007/s11746-009-1385-4).
- [90] B. Flaherty, Characterisation of waxes by differential scanning calorimetry, *J. Appl. Chem. Biotechnol.* 21 (1971) 144–148. doi:[10.1002/jctb.5020210507](https://doi.org/10.1002/jctb.5020210507).

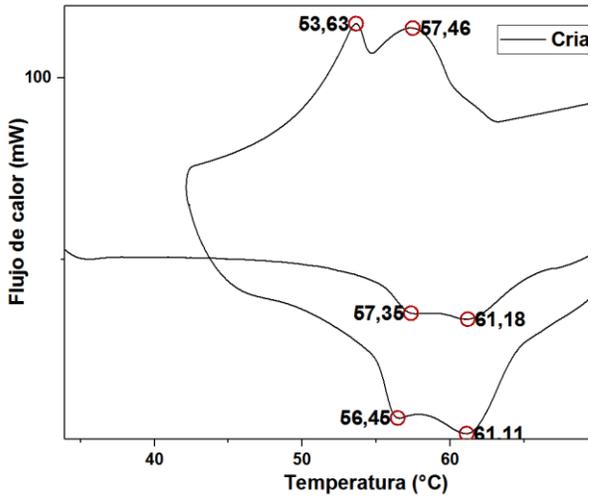
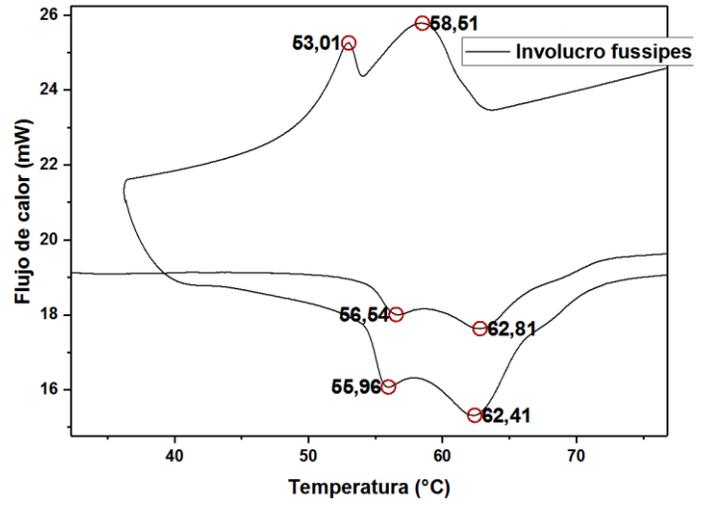
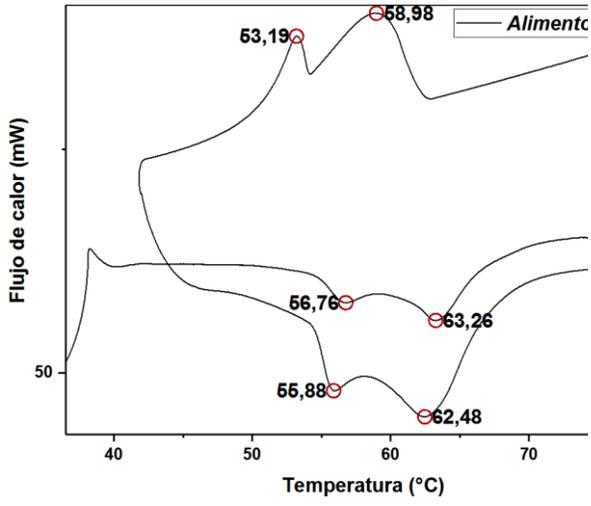
8 ANEXOS

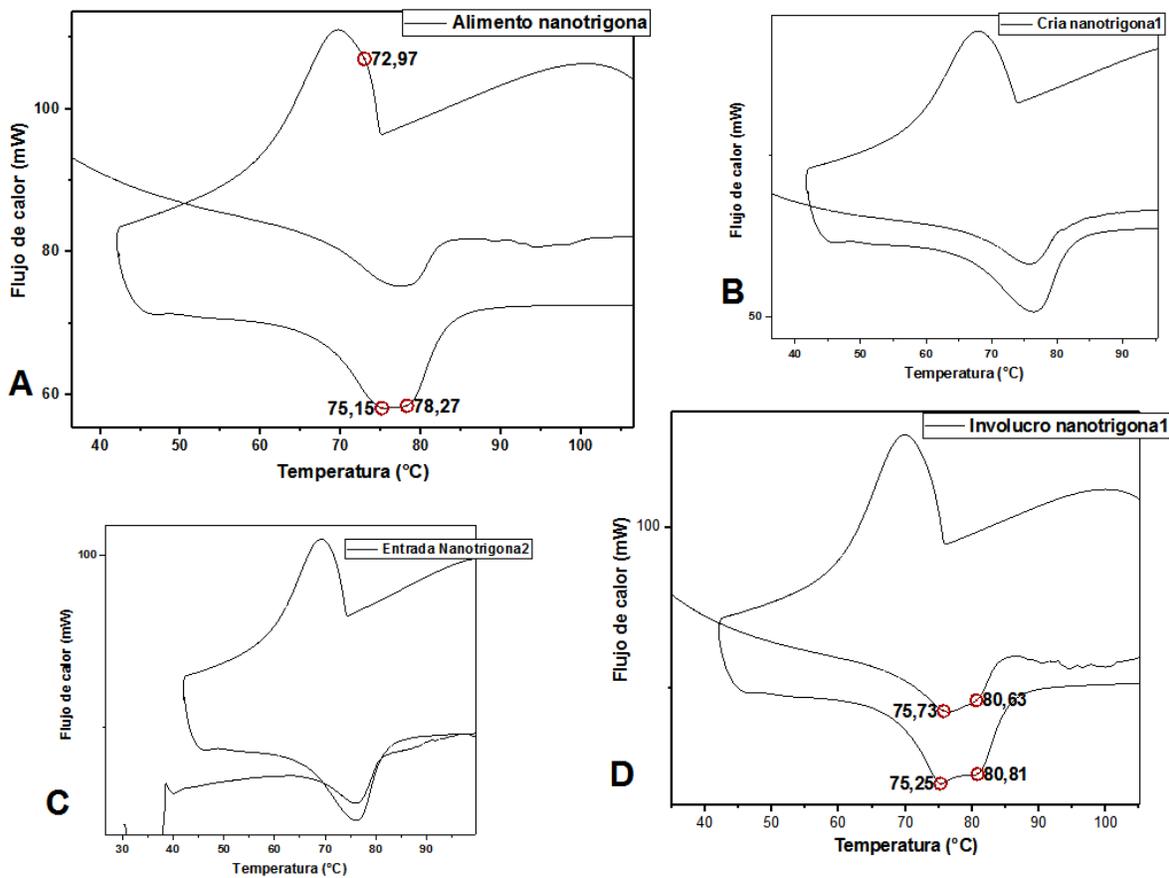
Anexo A: Termogramas TGA-DSC del proceso de fusión











Anexo B: Datos de combustión

Datos calibración Bomba de combustión.

Muestra	h1	h2	Δh	mc (g)
A.B.1	7,36E-04	0,011	0,011	0,015
A.B.2	6,60E-04	0,010	0,009	0,016
A.B.3	6,37E-04	0,010	0,009	0,015
A.B.4	2,04E-04	0,016	0,016	0,015
A.B.4	2,04E-04	0,016	0,016	0,015
A.B.5	5,54E-04	0,013	0,013	0,016
A.B.6	6,54E-04	0,017	0,016	0,018

Datos de combustión de las muestras de *Nanotrigona* sp.

Muestra	h1	h2	dh	Masa muestra (g)	Masa Cápsula (g)
Ali nanotrigona1	7,10E-04	0,01615	1,54E-02	0,0173	1,67E-02
Ali nanotrigona2	-1,23E-04	0,01335	1,35E-02	0,0133	1,65E-02
Ali nanotrigona3	5,97E-04	0,01421	1,36E-02	0,0153	1,60E-02
Cria nanotrigona1	4,78E-04	0,01097	1,05E-02	0,0106	1,55E-02
Cria nanotrigona2	2,69E-04	0,01292	1,27E-02	0,0136	1,53E-02
Cria nanotrigona3	8,98E-04	0,01293	1,20E-02	0,0118	1,73E-02
Inv Nanotrigona1	0,00148	0,01434	1,29E-02	0,0161	1,30E-02
Inv Nanotrigona2	0,00101	0,01081	9,80E-03	0,0083	1,78E-02
Inv Nanotrigona3	3,60E-04	0,00905	8,69E-03	0,0074	1,64E-02
Ent Nanotrigona1	1,53E-04	0,0132	1,30E-02	0,0141	1,36E-02
Ent Nanotrigona2	9,99E-04	0,01249	1,15E-02	0,0122	1,26E-02

Datos de combustión de las muestras de *Melipona fuscipes*.

	h1	h2	dh	Masa Muestra (g)	Masa Cápsula (g)
Ali Fuscipes1	7,31E-04	0,00721	6,48E-03	0,0055	1,48E-02
Ali Fuscipes2	0,00144	0,01796	1,65E-02	0,0196	0,016
Ali Fuscipes3	6,86E-04	0,01433	1,36E-02	0,0155	1,51E-02
Cria fuscipes1	4,63E-04	0,01014	9,68E-03	0,0095	1,52E-02
Cria fuscipes2	0,00116	0,01208	1,09E-02	0,01	1,68E-02
Cria fuscipes3	7,60E-04	0,01334	1,26E-02	0,0145	1,30E-02
Cria fuscipes4	0,00123	0,01428	1,31E-02	0,0139	1,58E-02
Inv fuscipes1	2,83E-04	0,0103	1,00E-02	0,0102	1,38E-02
Inv fuscipes2	5,35E-04	0,00893	8,40E-03	0,0088	1,43E-02
Inv fuscipes3	0,001	0,01271	1,17E-02	0,0147	1,42E-02
Inv fuscipes11	1,84E-04	0,00898	8,80E-03	0,0077	1,48E-02
Inv fuscipes22	7,90E-04	0,01044	9,65E-03	0,0092	1,56E-02

Datos de combustión de las muestras de *Trigona nigra paupera*.

Muestra	h1	h2	dh	Masa muestra (g)	Masa Cápsula (g)
Ali frieseomalitta1	5,49E-04	0,01098	1,04E-02	0,0097	1,60E-02

Ali frieseomalitta2	6,27E-04	0,01827	1,76E-02	0,0202	1,55E-02
Ali frieseomalitta3	6,21E-04	0,01222	1,16E-02	0,0125	1,31E-02
Cria frieseomlitta1	1,35E-04	0,01123	1,11E-02	0,0126	1,34E-02
Cria frieseomlitta2	4,00E-05	0,01121	1,12E-02	0,0136	1,23E-02
Cria frieseomlitta3	-1,16E-04	0,01042	1,05E-02	0,0114	1,16E-02
Inv frieseomelitta1	0,00137	0,01346	1,21E-02	0,012	1,68E-02
Inv frieseomelitta2	9,11E-04	0,01719	1,63E-02	0,0168	1,60E-02

Datos de combustión de las muestras de *Melipona favosa favosa*.

Muestra	h1	h2	dh	Masa muestra (g)	Masa Cápsula (g)
Ali favosa1	2,47E-04	0,01437	1,41E-02	0,0168	1,38E-02
Ali favosa2	0,00143	0,01492	1,35E-02	0,016	0,0145
Ali favosa3	7,94E-04	0,01518	1,44E-02	0,0158	1,58E-02
Cria favosa1	-1,31E-04	0,01295	1,31E-02	0,015	1,29E-02
Cria favosa2	5,85E-04	0,01591	1,53E-02	0,0169	1,66E-02
Cria favosa3	1,02E-04	0,01562	1,55E-02	0,0183	1,52E-02
Inv favosa1	-5,25E-04	0,01091	1,14E-02	0,0133	1,39E-02
Inv favosa2	0,00198	0,00968	7,70E-03	0,0095	1,33E-02
Inv favosa3	5,35E-04	0,01178	1,12E-02	0,0141	1,23E-02

Datos de combustión de las muestras de *Melipona compressipes*.

Muestra	h1	h2	dh	Masa muestra (g)	Masa cápsula (g)
Ali compressipes1	5,05E-04	0,0111	1,06E-02	0,0103	1,44E-02
Ali compressipes2	0,00136	0,01401	1,27E-02	0,0142	0,0143
Ali compressipes3	7,14E-04	0,01448	1,38E-02	0,0161	1,35E-02
Cria compressipes1	0,00167	0,01397	1,23E-02	0,0132	0,0149
Cria compressipes2	0,00125	0,01109	9,84E-03	0,0128	1,21E-02
Cria compressipes3	-1,13E-04	0,00887	8,98E-03	0,0111	1,38E-02
Cria compressipes4	7,21E-04	0,01227	1,15E-02	0,0122	1,58E-02

Inv compressipes1	0,00109	0,01235	1,13E-02	0,0117	1,43E-02
Inv compressipes2	0,00157	0,01407	1,25E-02	0,0135	1,39E-02
Inv compressipes3	9,97E-04	0,01338	1,24E-02	0,0133	1,37E-02

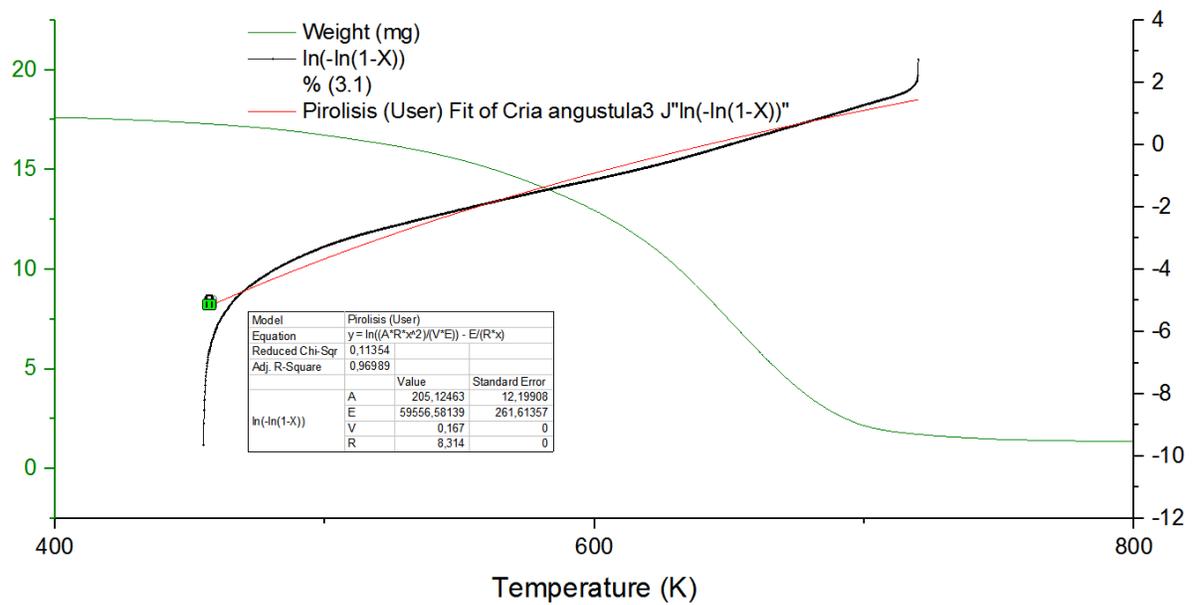
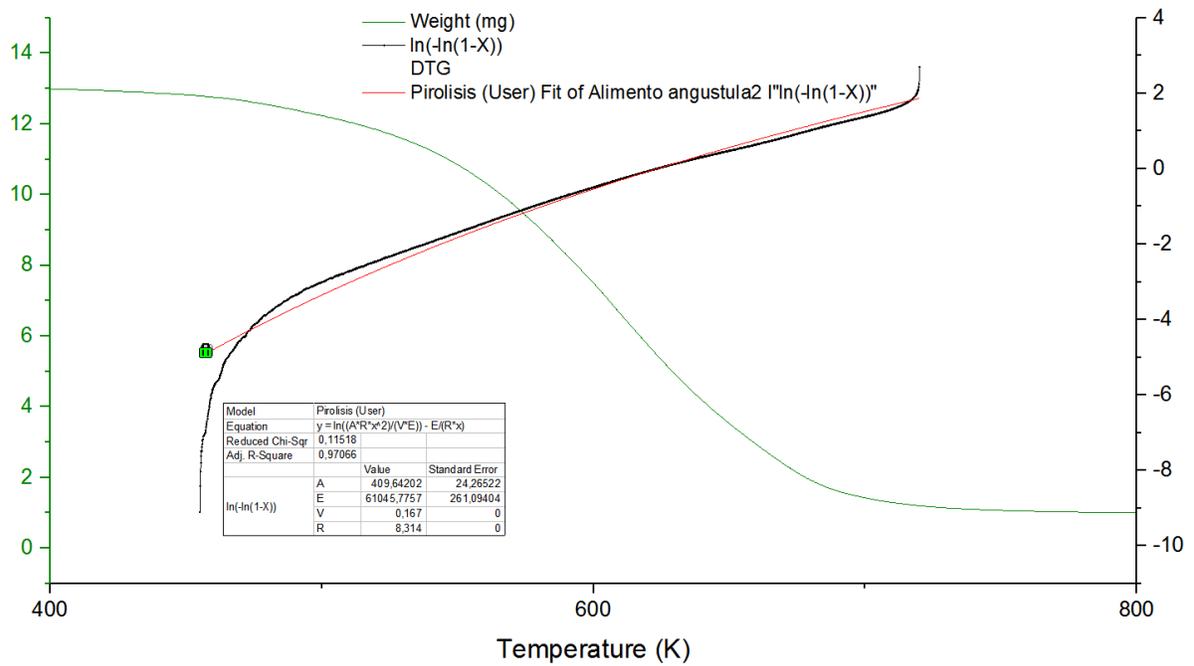
Datos de combustión de las muestras de *Bombus atratus*.

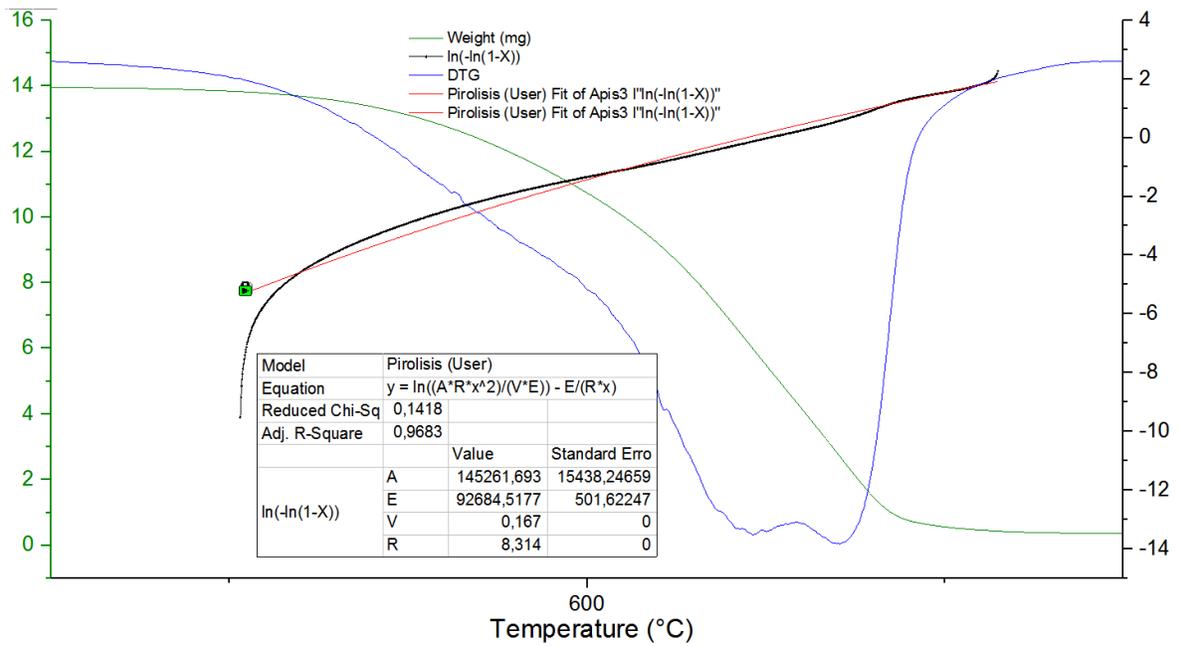
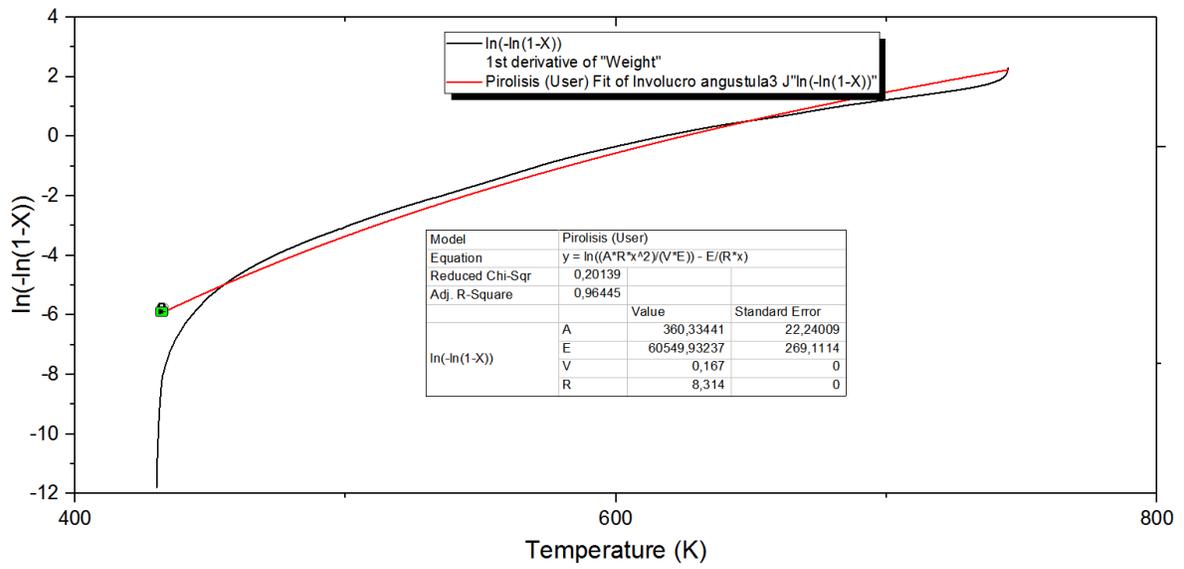
Muestras	h1	h2	dh	Masa muestra	Masa cápsula
Ali atratus1	7,04E-04	0,00862	7,92E-03	0,0113	1,48E-02
Ali atratus2	3,92E-04	0,00827	7,88E-03	0,0114	1,46E-02
Cria atratus1	-4,33E-05	0,00796	8,00E-03	0,0097	1,39E-02
Cria atratus2	1,63E-04	0,00822	8,06E-03	0,01	1,28E-02
Inv atratus1	0,00242	0,01401	1,16E-02	0,0211	1,63E-02
Inv atratus2	0,00194	0,0117	9,76E-03	0,016	1,55E-02

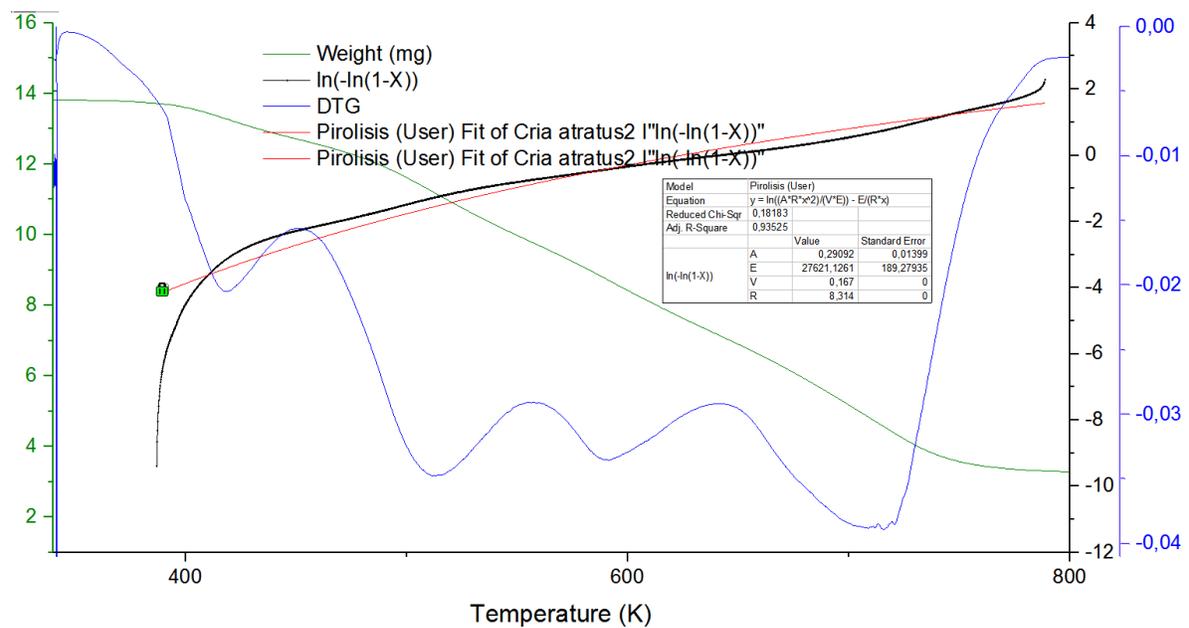
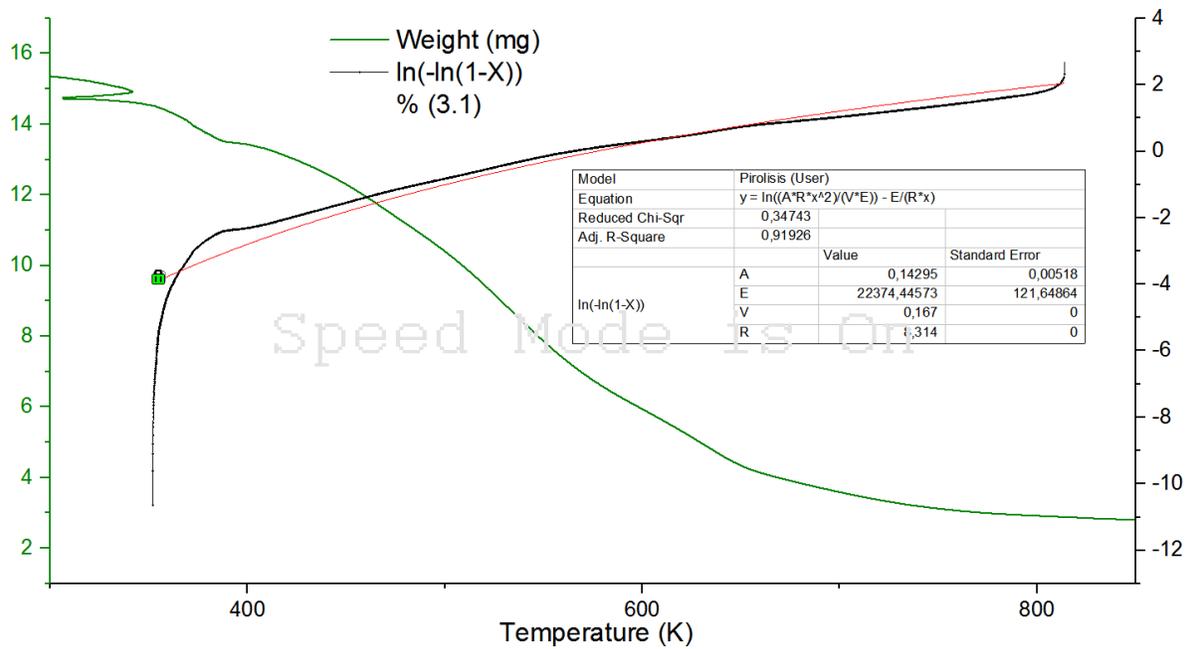
Datos de combustión de las muestras de *Trigona angustula*.

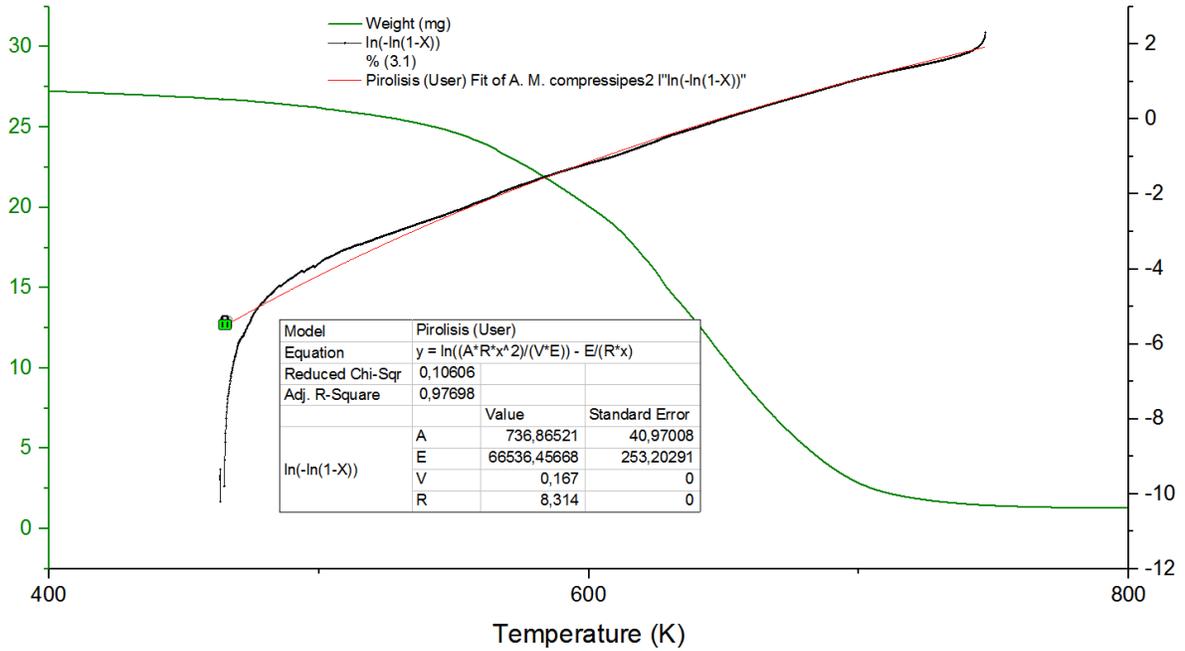
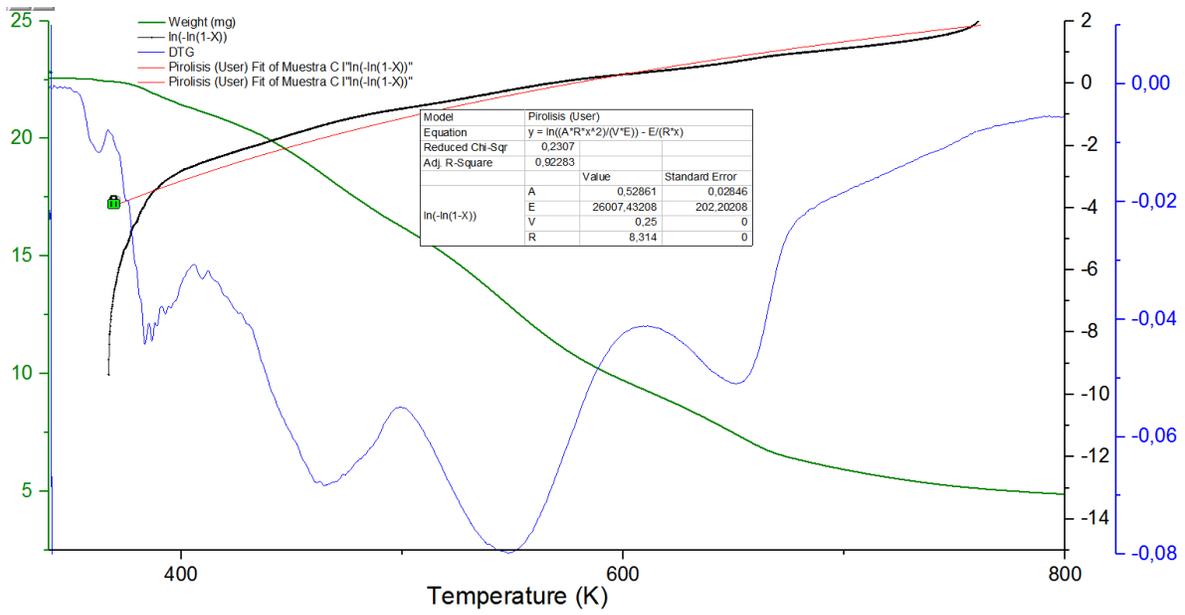
Muestras	h1	h1	dh	Masa muestra (g)	Masa cápsula (g)
Ali angustula1	3,31E-04	0,01041	1,01E-02	0,0111	1,34E-02
Ali angustula2	3,13E-04	0,01269	1,24E-02	0,0147	1,43E-02
Ali angustula3	3,25E-04	0,01505	1,47E-02	0,0168	1,49E-02
Cria angustula1	4,41E-04	0,0143	1,39E-02	0,0167	1,66E-02
Cria angustula2	-4,89E-05	0,01083	1,09E-02	0,0128	1,34E-02
Cria angustula3	5,73E-04	0,01256	1,20E-02	0,0139	1,58E-02
Cria angustula4	-5,22E-05	0,01083	1,09E-02	0,0128	1,34E-02
Inv angustula1	0,0021	0,01134	9,24E-03	0,009	1,46E-02
Inv angustula2	7,87E-04	0,01071	9,92E-03	0,0101	1,52E-02

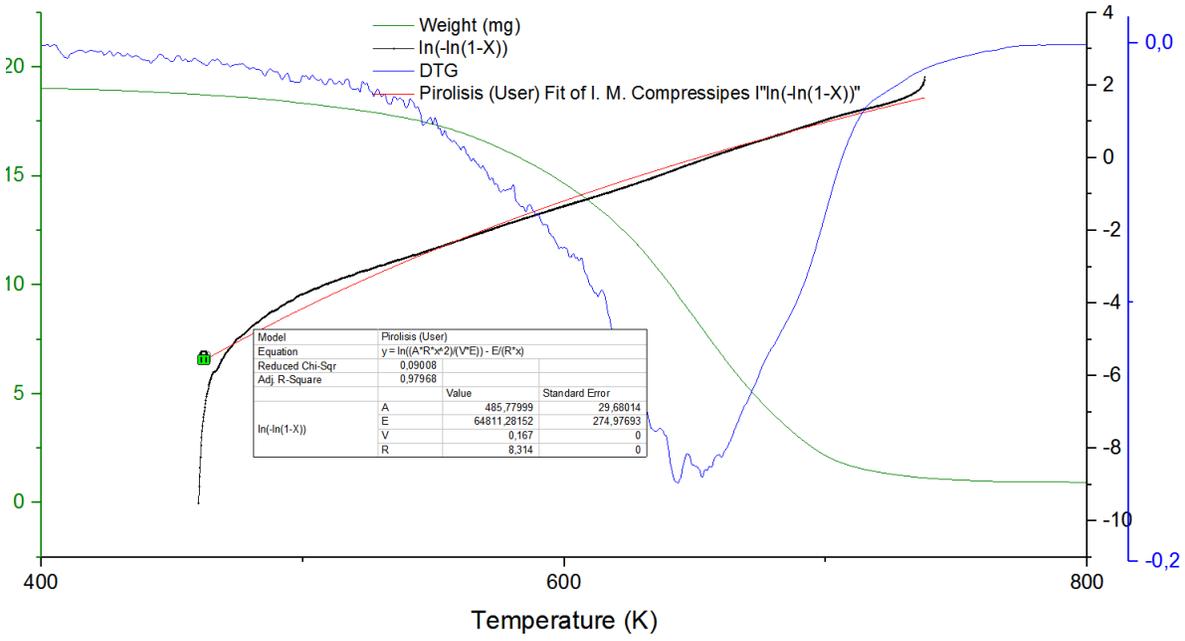
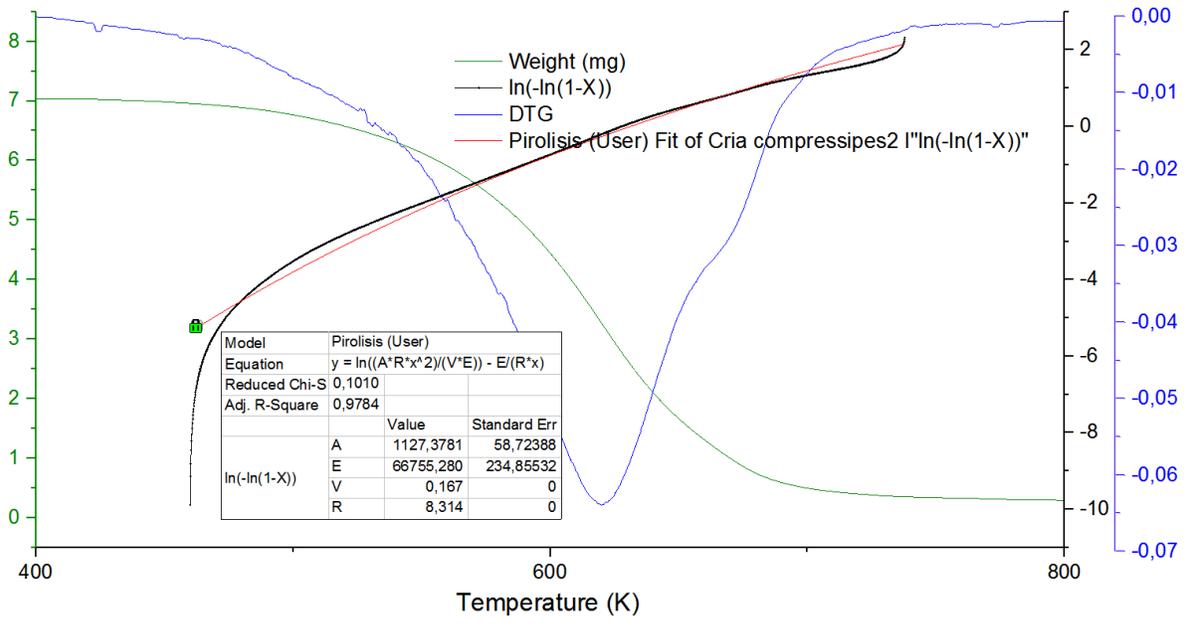
Anexo C: ajuste lineal del proceso de pirólisis.

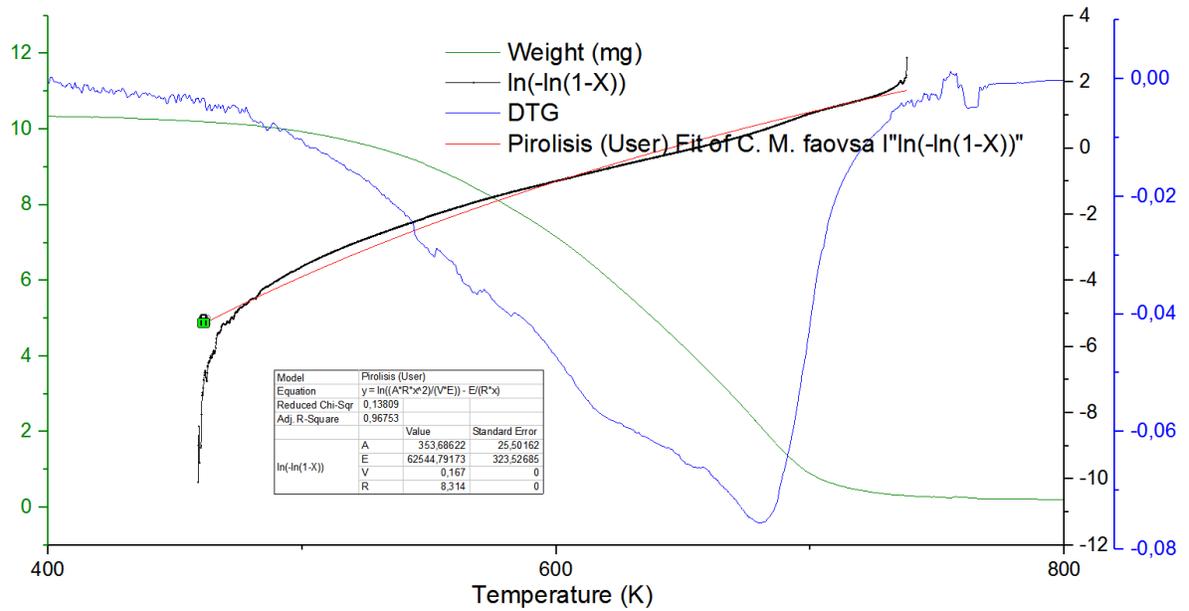
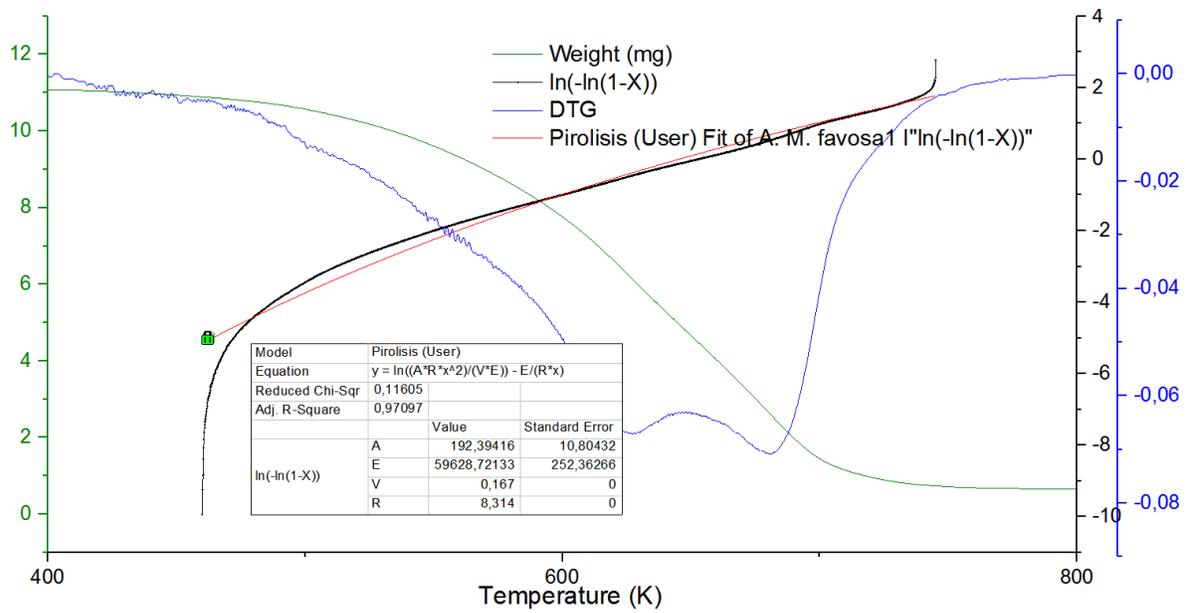


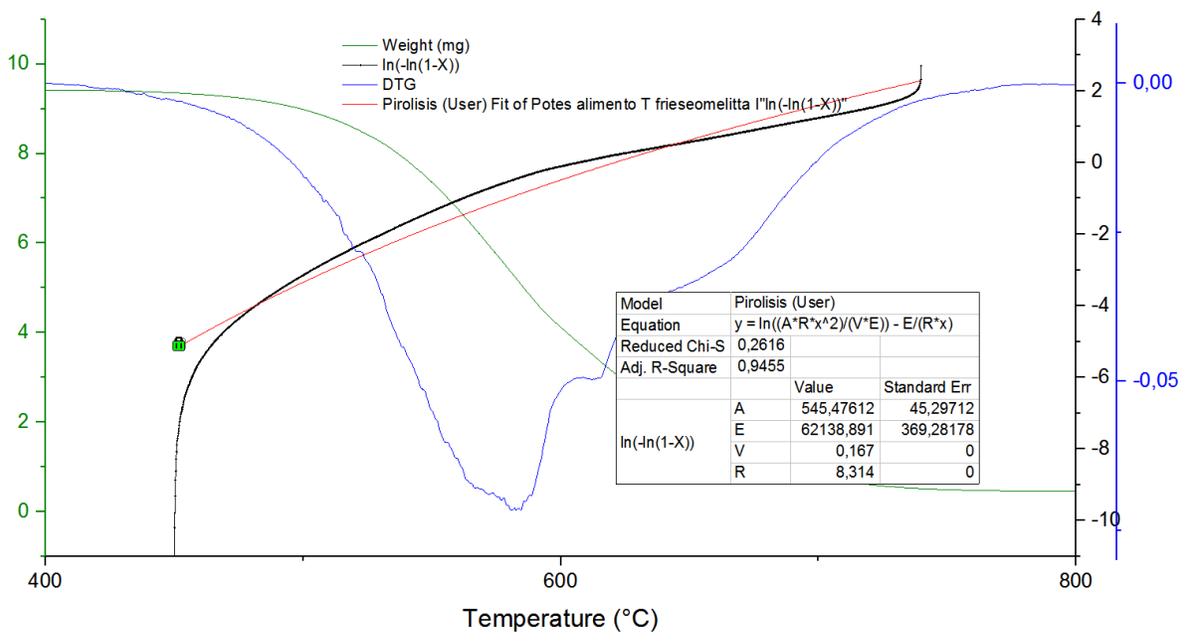
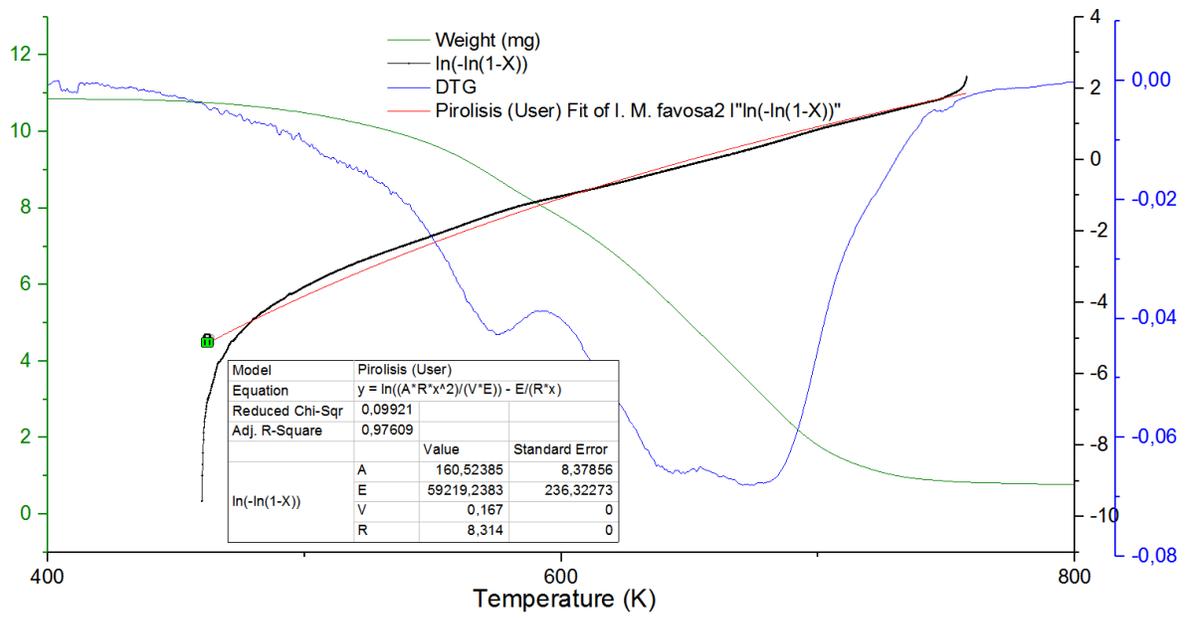


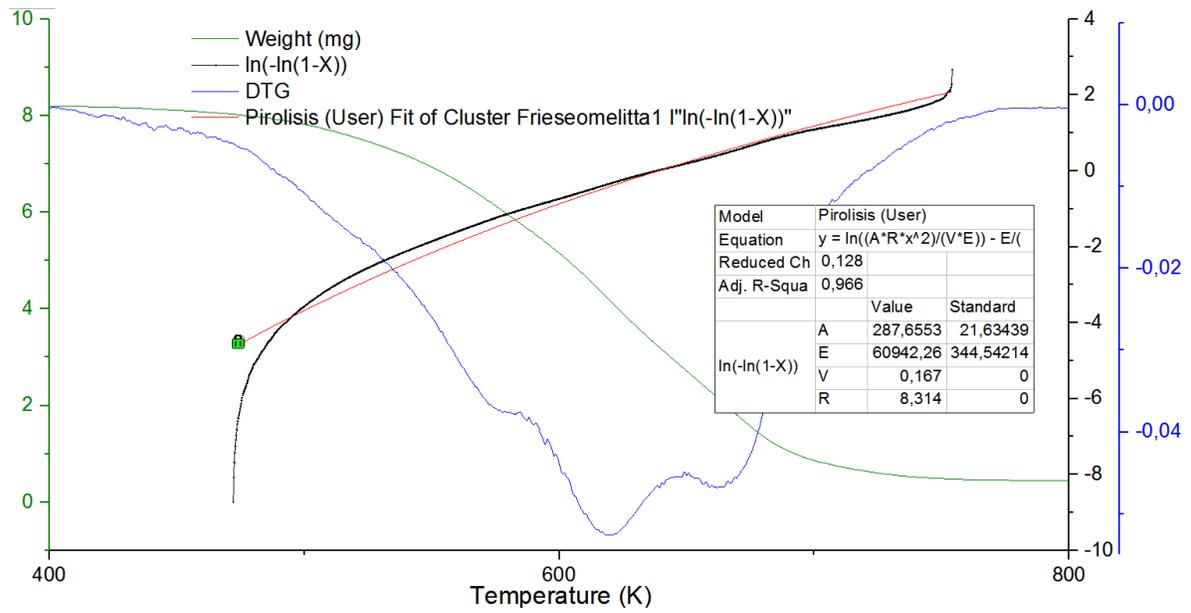
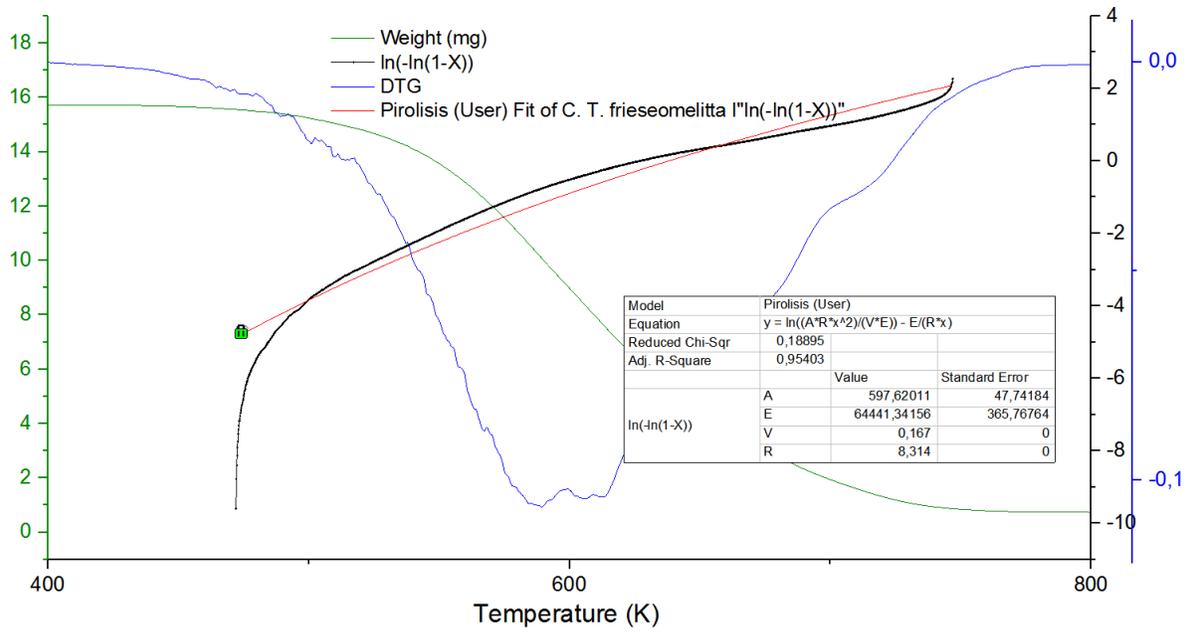


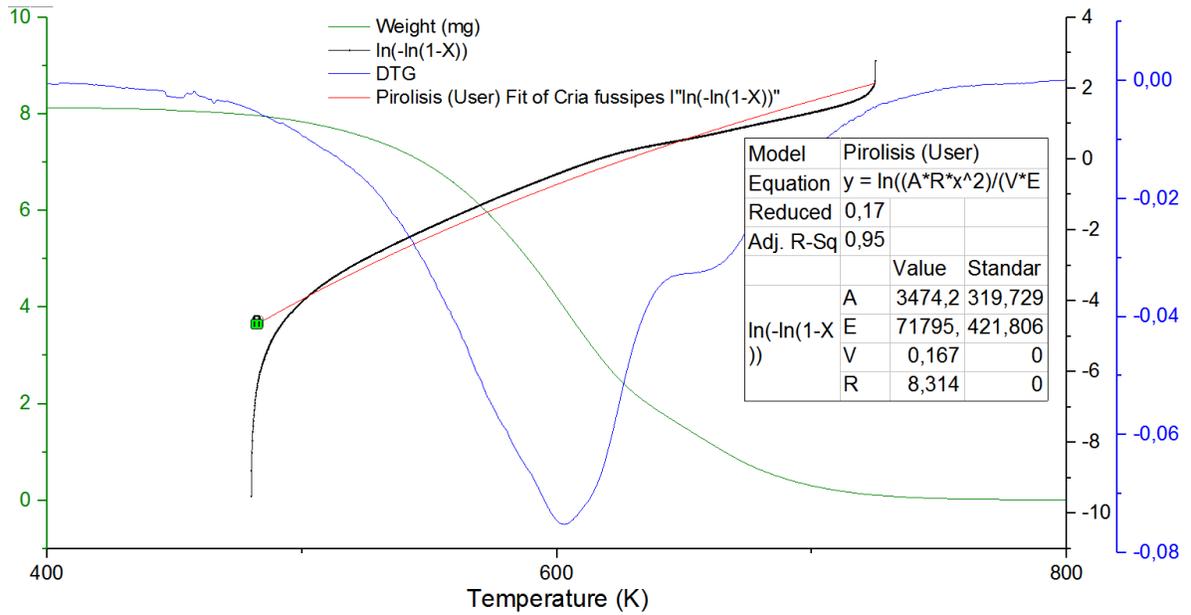
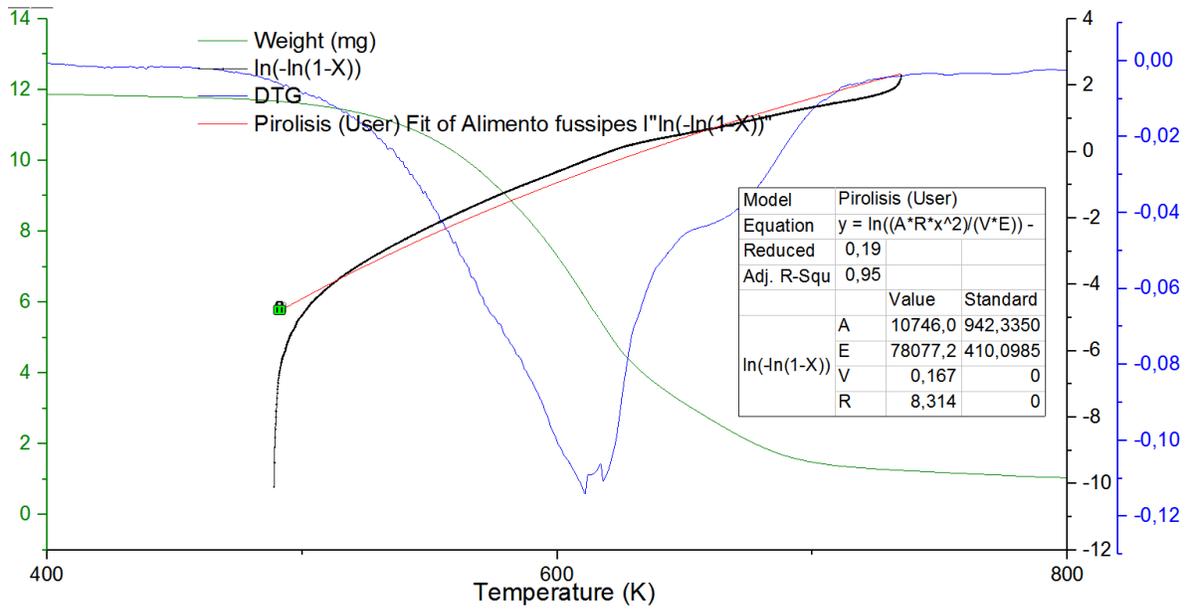


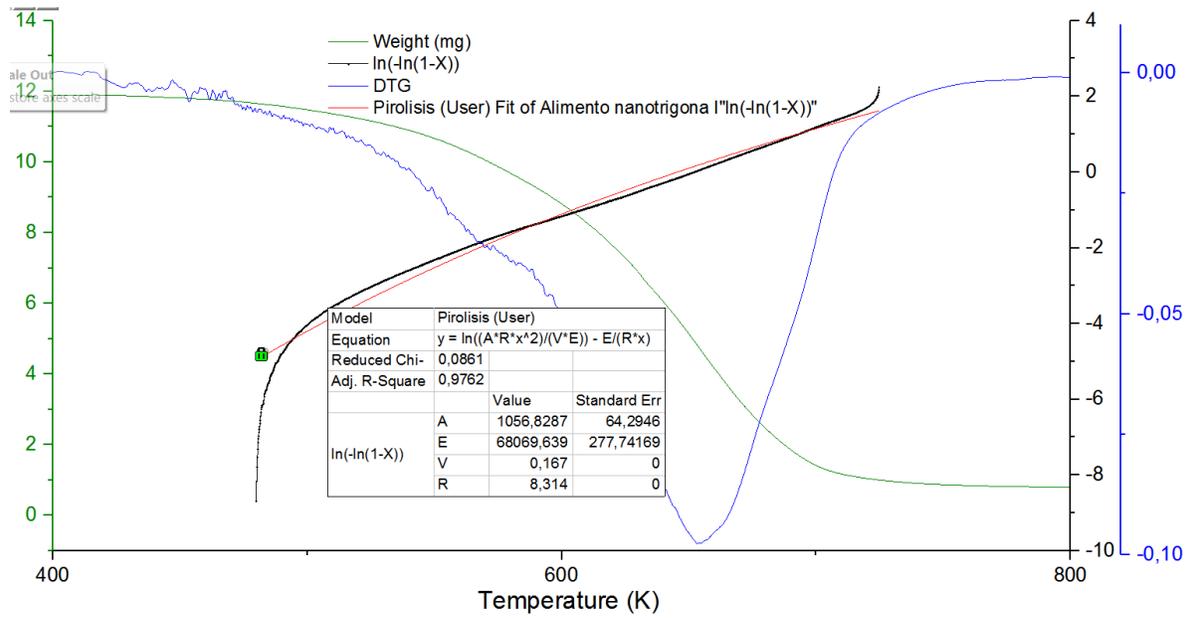
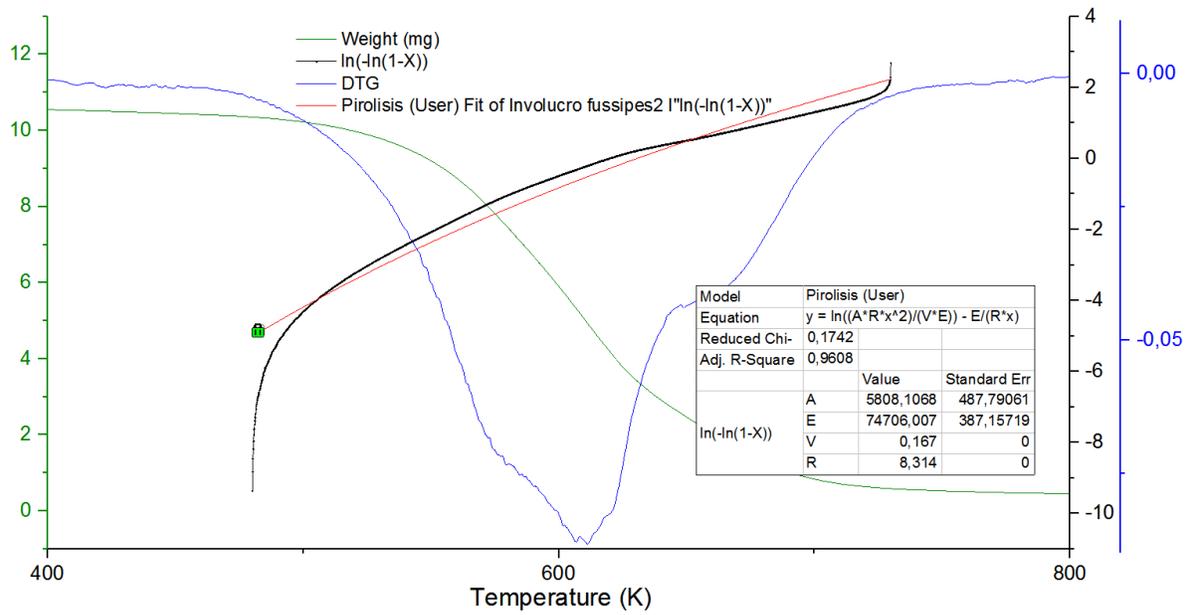


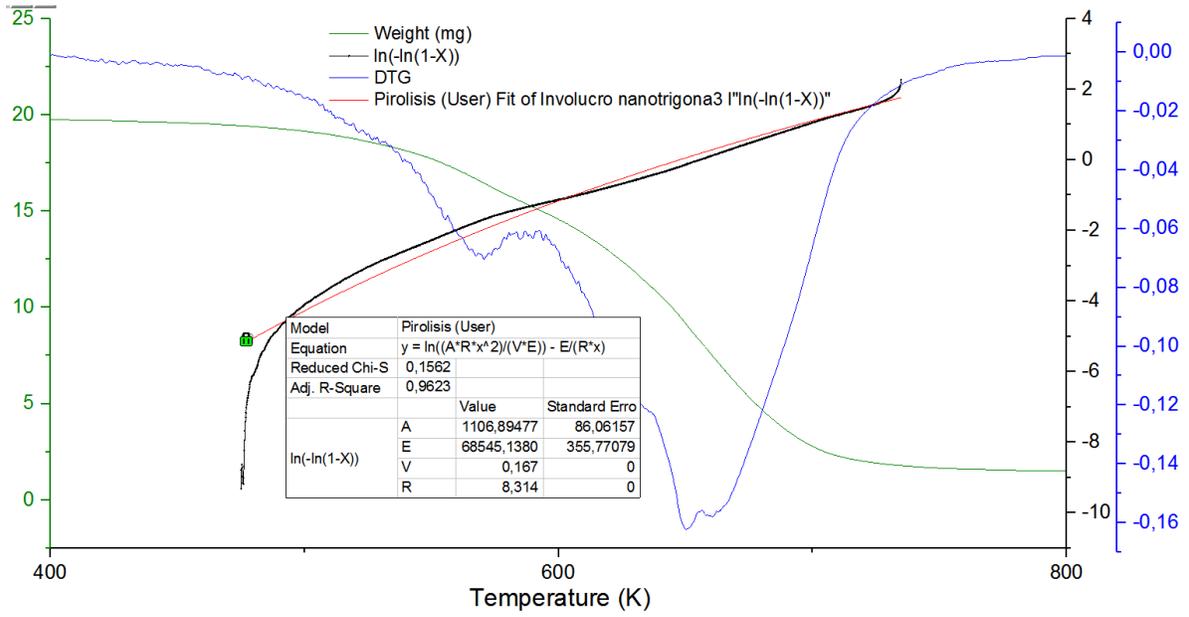
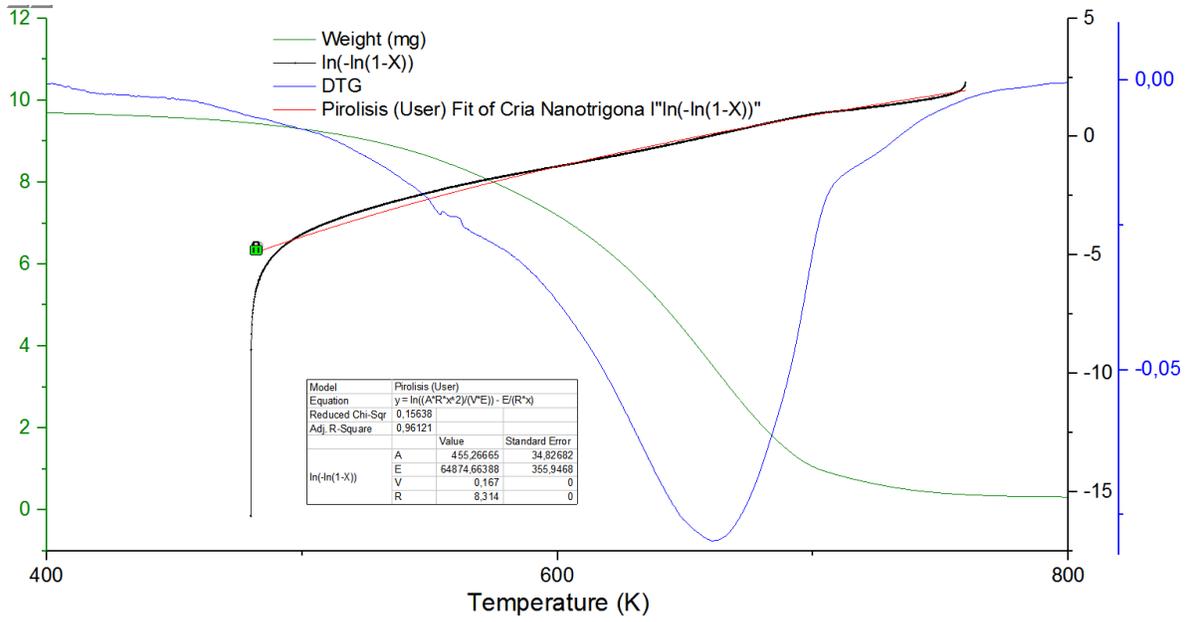


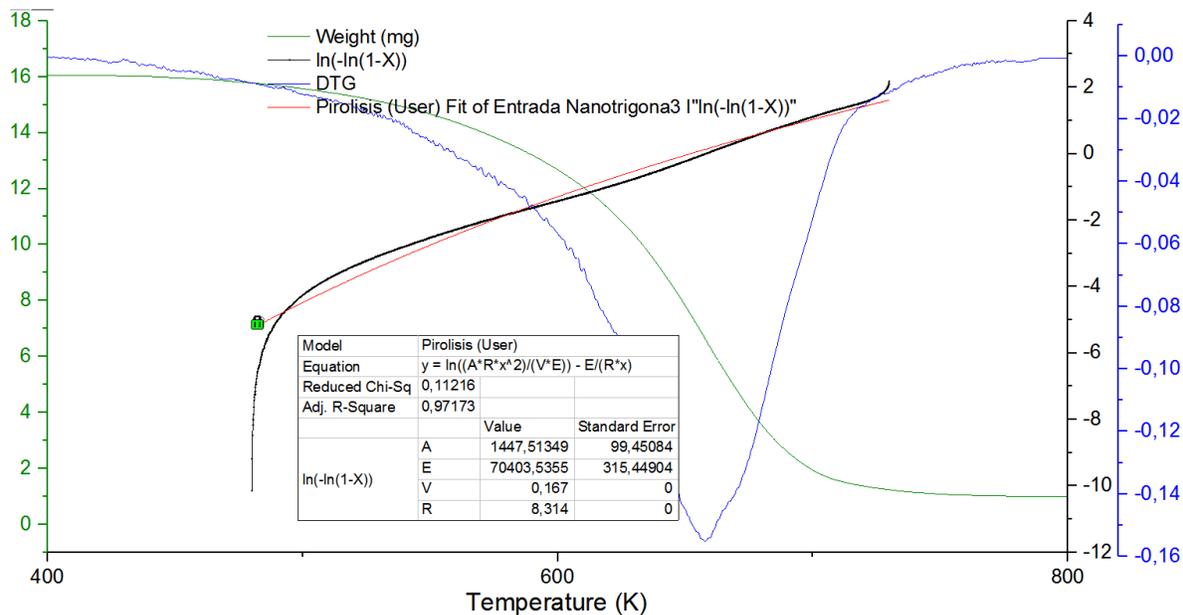












Anexo D: Perfiles de difracción de rayos X

