

## HET SMELTGEDRAG VAN BIJENWAS ALS KWALITEITSCONTROLE

Eric Goethals\* en Bernhard De Meyer

*Vandaag is de jaarlijkse wereldproductie van bijenwas om en bij de 60.000 ton met India als grootste producent. Toepassingen zijn er in de farmacie, de cosmetica en de voedingsnijverheid (onder de naam E901). Voor de kaarsproductie is bijenwas grotendeels vervangen door stearine, een product afkomstig van dierlijke vetten, en paraffine, een petroleum derivaat. Uiteraard is bijenwas ook een belangrijk product voor de imker die er waswafels meemaakt. Imkers die onvoldoende was recupereren uit eigen productie, halen waswafels bij gespecialiseerde handelaars. Nu blijkt dat sommige van deze aangeboden wassen 'vervalst' zijn door toevoeging van andere (goedkope) wasachtige producten. Hierbij wordt in de eerst plaats gedacht aan die producten die ook voor de kaarsfabricage dienen: stearine en paraffine.*

Er bestaat geen wetgeving betreffende kwaliteitscontrole voor bijenwas bestemd voor imkers, in tegenstelling tot de kwaliteitscontrole van was bestemd voor farmaceutische, cosmetische en voedingstoepassingen. Voor het maken van wafels mag gelijk welk product gebruikt worden, als de bijen daar maar tevreden mee zijn. Er werden materialen ontworpen die helemaal geen bijenwas bevatten (zie bvb: Remon 2003). Er worden ook kunststofwafels in de handel aangeboden. Deze zijn gemaakt van PVC of polypropyleen. De bijen accepteren deze niet altijd, maar door ze te bedekken met een dun laagje echte was, worden ze wel aanvaard. Een voordeel van het gebruik van kunststof is dat na 'gebruik' de opgebouwde was kan afgeschraapt worden of afgesmolten. Een leerrijke discussie tussen voor- en tegenstanders van kunststofwafels is te vinden op Google onder 'Plastic bees foundations'. Voor de bijen is was in de eerste plaats het 'constructiemateriaal' van de bijenwoning en dus zijn de fysisch-mechanische eigenschappen over een temperatuursgebied 0-50°C ervan heel belangrijk. In een actief bijenvolk bedraagt de temperatuur rond de 34°C maar in de broedzone is dit 35-36°C. Volgens recente onderzoeken (Bujok 2002) loopt de temperatuur rond vers broed lokaal zelfs op tot 40°C. De reden waarom deze hoge temperatuur

door de werksters gegenereerd wordt heeft waarschijnlijk te maken met de noodzakelijke plasticiteit (kneedbaarheid) van de was bij de raatopbouw. Dit fysisch-mechanisch gedrag wordt zeer beïnvloed door de kristalliniteit en bijgevolg zou een preciese meting van die kristalliniteit in functie van de temperatuur een interessante parameter kunnen zijn voor de kwaliteit van het materiaal.

### Hoe wordt de kwaliteit van bijenwas gecontroleerd?

De criteria die het meest gebruikt worden zijn die welke door de European Pharmacopea vastgelegd zijn: dichtheid, brekingsindex, smeltpunt, zuurgetal, verzepingsgetal, verhouding ester/zuur. ('Cera alba', 2008). In Tabel 1 staan de grenswaarden voor deze criteria vermeld. Zoals men kan zien is er voor ieder criterium een marge. Dit heeft te maken met het feit dat

bijenwas een natuurproduct is waarvan de samenstelling kan variëren met de klimatologische omstandigheden, de toestand van het bijenvolk, de (bijenweide) omgeving, enz. Bovendien kunnen deze criteria anders zijn voor andere bijensoorten.

Tulloch (Tulloch 1980) heeft bijenwassen van verschillende rassen vergeleken door chromatografische analyses en daaruit blijkt dat er duidelijke verschillen in samenstelling bestaan tussen enerzijds de Europees-Afrikaanse mellifera en adansoni (Afrikaanse bij) en de Aziatische dorsata, cerana en florea anderzijds.

In zijn basisboek over bijenwas vermeldt ook Bogdanov (Bogdanov 2016) dat de was van Aziatische soorten een hogere ester/zuur verhouding (8 - 9) heeft dan die van de Europese (3,0 - 4,3). Nochtans blijven de andere criteria geldig voor alle soorten. Hij voegt er

| Eigenschap               | Grenswaarden      |
|--------------------------|-------------------|
| Relatieve dichtheid      | Ongeveer 0.960    |
| Brekingsindex            | 1.4398 - 1.4457   |
| Smeltpunt ('drop point') | 61 – 66°C         |
| Zuurgetal                | 17 - 24 mg KOH/g  |
| Verzepingsgetal          | 87 – 104 mg KOH/g |
| Esterwaarde              | 70 – 80 mg KOH/g  |
| Ester/zuur verhouding*   | 3.00 – 4.30       |

\*eric.goethals@UGent.be

aan toe dat de Aziatische wassoorten (ook bekend onder de naam Ghedda) niet gebruikt kunnen worden voor mellifera bijenvolken.

### Het smeltpunt van bijenwas

In wat volgt, willen we graag dieper ingaan op één van de criteria uit de Pharmacopea: het smeltpunt. Deze belangrijke karakteristiek wordt in de Pharmacopea aangeduid met 'drop point' letterlijk vertaald het 'druippunt' of 'druppelpunt'. Dit hangt samen met de manier waarop dit punt bepaald wordt: de glas capillair methode. De te meten stof wordt in een glazen buisje geplaatst en dit buisje wordt langzaam opgewarmd. De temperatuur waarbij de inhoud uit het buisje druppelt is het druippunt. In een variëte wordt de temperatuur geregistreerd waarbij de stof in het buisje doorzichtig wordt. Zoals in Tabel 1 vermeld, moet, volgens de Pharmacopea, het smeltpunt van bijenwas tussen 61 en 66°C liggen.

De meeste stoffen hebben een scherp smeltpunt. Water, bv., heeft een smeltpunt van 0°C en azijnzuur (ijsazijn) van 17°C. Scherpe smeltpunten zijn karakteristiek voor zuivere stoffen. Mengsels van stoffen vertonen een meer gecompliceerd smeltgedrag. Het smeltpunt van een mengsel van water en azijnzuur, bv., verandert met de samenstelling en varieert tussen +17°C en -28°C (voor het zgn. eutectisch mengsel). Nu is bijenwas een mengsel van meer dan tweehonderd stoffen en het spreekt eigenlijk vanzelf dat dergelijk mengsel geen scherp smeltpunt kan vertonen. Iedere imker weet dat was bij lage temperatuur hard en bros is, rond de 30°C mals en kneedbaar wordt en bij 61-65°C volledig vloeibaar. Bijenwas vertoont dus geen smeltpunt maar een smelttraject. Dat smelttraject kan door Differentiaal

Scanning Calorimetrie (DSC) gevisualiseerd worden. D.m.v. DSC wordt via de benodigde energietoever het smeltproces in functie van de temperatuur uitgetekend. Een literatuuronderzoek leerde ons dat DSC reeds eerder gebruikt werd in was-onderzoek.

Reeds in 1977 gebruikten Timbers *et al.* DSC om vervalsing van bijenwas met paraffine (toen reeds!) aan te tonen (Timbers 1977).

Buchwald *et al.* (Buchwald 2008) beklemtoonden dat 'standaard smeltpuntbepalingen' zoals beschreven in de Pharmacopea onderwets zijn en een onnauwkeurige beschrijving van het smeltproces geven. Zij bestudeerden wassen van bijen en hommels met DSC. Eén van hun bevindingen was dat alle onderzochte *Apis mellifera's*, niettegenstaande hun verschillende habitats, slechts weinig verschillen in thermogrammen vertonen.

In dit onderzoek(je) willen we nagaan of DSC als snelle analysemethode voor de kwaliteit van was zou kunnen dienen. Niet alleen voor het opsporen van vervalsing maar ook bv. om te weten in hoeverre (te) langdurige zuurbehandeling of (te) hoge temperatuurbehandeling het smeltgedrag (en daarmee gepaard de mechanische eigenschappen) beïnvloeden. Hieronder onze eerste resultaten.

### Experimentele gegevens

De metingen werden uitgevoerd met een Mettler-Toledo Differential Scanning Calorimetry toestel type DSC1/700 voorzien van koeling met vloeibare stikstof. Voor iedere meting wordt ongeveer 7 mg nauwkeurig afgewogen in een aluminium pannetje dat in het toestel geplaatst wordt. Iedere meting gebeurt met een identieke temperatuursvariatie: opwarming van 20

Het te onderzoeken monster en een inerte referentie worden geplaatst in identieke meetcellen die van elkaar gescheiden zijn opgesteld binnen een op vaste temperatuur gehouden metalen blok. Beide meetcellen bevatten een interne verwarming én een temperatuurmetering. Ze worden met identieke constante snelheid van temperatuur veranderd, terwijl het temperatuurverschil tussen de meetcellen door een regelsysteem zo klein mogelijk wordt gehouden. Als nu in de meetcel van het monster een reactie plaatsvindt, die extra energie nodig heeft of waarbij er energie vrijkomt waardoor minder energie nodig is, zal een verschil in temperatuur tussen monster en referentie ontstaan. Maar het regelsysteem corrigeert dat verschil door meer of minder energie aan de monstermeetcel te verstrekken. Deze energiecorrectie wordt geregistreerd en levert aldus een zgn. thermogram dat het energieverval (in milliWatt) in functie van de tijd weergeeft.

Aangezien smelten energie vraagt (en stollen energie afgeeft) is deze methode zeer geschikt om smelt- en stollingprocessen te meten. De oppervlakte onder de curve geeft ons de smeltwarmte (in cal/g) wat een maat is voor de kristallisatiegraad van het monster. De moderne toestellen laten toe de temperatuur te laten variëren van -150 tot +700°C met opwarmingssnelheden tussen 0,02 en 300°C per minuut. Voor één meting is tussen 1 en 10 mg materiaal nodig. Een DSC toestel kost ongeveer 50.000 Euro.

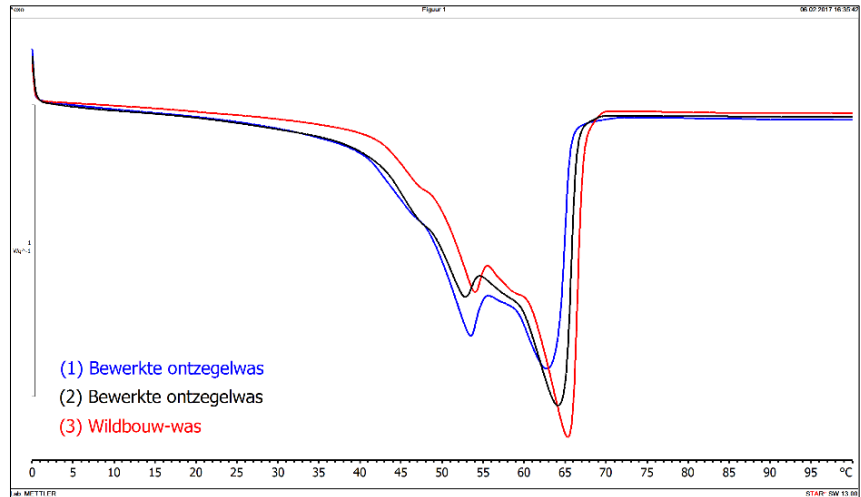


tot 100°C aan 5°C per minuut ('first heating') gevolgd door een korte rustperiode (2 min.) en dan een afkoeling aan 5°C per minuut tot 20°C. Na een rustperiode van 2 min. wordt weer een opwarming van 20 tot 100°C aan 5°C per minuut geprogrammeerd. Het zijn deze 'second heatings' die in de figuren getoond worden. Deze methodiek wordt gevolgd om zeker te zijn dat alle monsters een identieke 'thermische voorgeschiedenis' hebben.

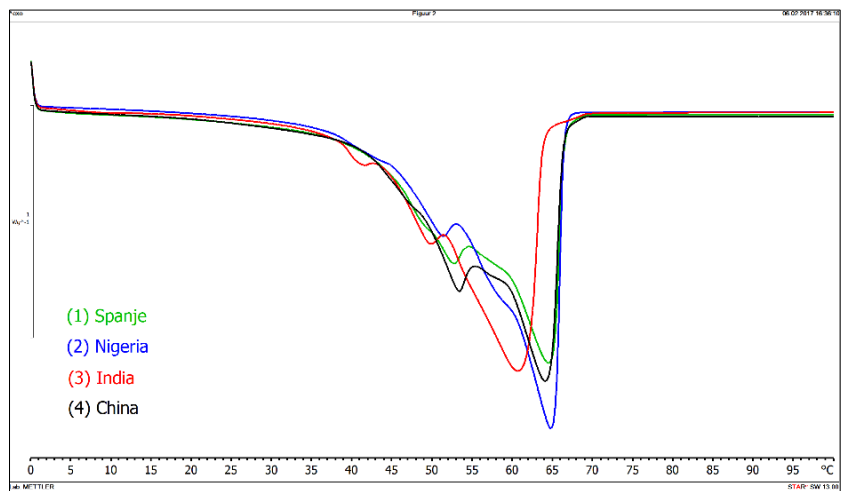
### Onze resultaten

Het eerste wat nagegaan werd is of bijenwassen geproduceerd door 'onze' bijen specifieke, reproduceerbare thermogrammen vertonen. In figuur 1 staan drie thermogrammen van (1) waswafel gemaakt uit eigen ontzegelwas, (2) idem van een West-Vlaamse collega-imker en (3) een was uit een wildbouwraat (dus compleet onbewerkt). We zien dat de thermogrammen gelijkaardig zijn. In alle gevallen begint de stijging van de curve bij 30 - 35°C en er zijn steeds twee 'pieken' te zien: een kleinere met maximum bij 50 - 52°C en een hoofdpijk met maximum bij 62 - 65°C. De curve van de was van de wildbouwraat ligt ongeveer één graad hoger dan de twee andere.

In een tweede onderzoekje werden thermogrammen van wassen van verschillende oorsprong vergeleken. Daarvoor gingen we te rade bij dr. Reybroeck van het Instituut voor Landbouw en Visserij Onderzoek (ILVO) te Melle. Daar kregen we monsters van was uit China, India, Nigeria en Spanje. De thermogrammen staan in figuur 2. We zien dat drie van de vier wassen (Spanje, Nigeria, China) het zelfde patroon vertonen als onze lokale wassen maar dat het vierde monster duidelijk verschilt: de was uit India. Het ganse thermogram is



Figuur 1: Thermogrammen van drie 'lokale' wassen. (1) en (2) bewerkte ontzegelwas en (3) wildbouwwas. Alle van carnica's.



Figuur 2: Thermogrammen van buitenlandse wassen: (1) Spanje, (2) Nigeria, (3) India, (4) China.

met een paar graden naar lagere waarden verschoven. Spijtig genoeg weten we niet door welke bijensoorten deze wassen geproduceerd werden, maar het is niet onwaarschijnlijk dat de Indische was afkomstig is van de ceranabij ('Indische bij'). Zoals reeds hoger vermeld, wordt zulke was door onze mellifera's niet aanvaard (Bogdanov 2008).

Ten slotte werden twee 'verdachte' wassen uit de handel vergeleken met onze zuivere was (fig. 3). De eerste is een was (afkomstig van een collega imker) die duidelijk aanleiding gegeven heeft aan hagschot (lotnr. 212822). Het ther-

mogram (rood, fig. 3) is duidelijk verschillend van het 'normaal' thermogram: de kleine piek is hier hoofdpijk en die ligt bovendien bijna 10° lager dan bij onze was. Ook de rest van het thermogram is naar lagere temperatuur verschoven.

Het tweede monster (groen fig. 3) werd ons ter analyse aangeboden door een leverancier. Het smeltraject is analoog met die van 'onze' wassen maar met een 5-tal graden verschoven naar lagere temperaturen. Wij vermoeden dat het hier om Indische was gaat, want, zoals getoond in figuur 4, zijn de thermogrammen van dit monster en

van Indische was praktisch identiek.

### Besluit

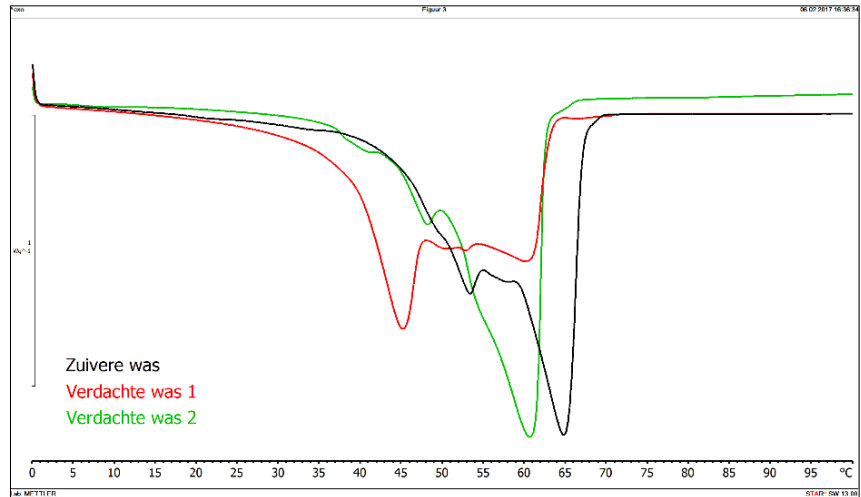
De eerste resultaten van dit onderzoek wijzen er op dat DSC een analysemethode kan zijn voor de kwaliteitscontrole van bijenwas. Er werd aangetoond dat 'goede' wasen een specifiek smeltpatroon vertonen, dat een staal van 'slechte' was een duidelijk afwijkend smeltpatroon vertoont en dat een ander monster (van ons onbekende oorsprong) waarschijnlijk Ghedda-was is, en dus niet acceptabel voor onze mellifera's. In een nu lopend onderzoek wordt nagegaan of vervalsingen kunnen aangetoond worden en of (chemische en/of thermische) behandelingen van was een invloed hebben op het smeltdrag.

### Dankwoord

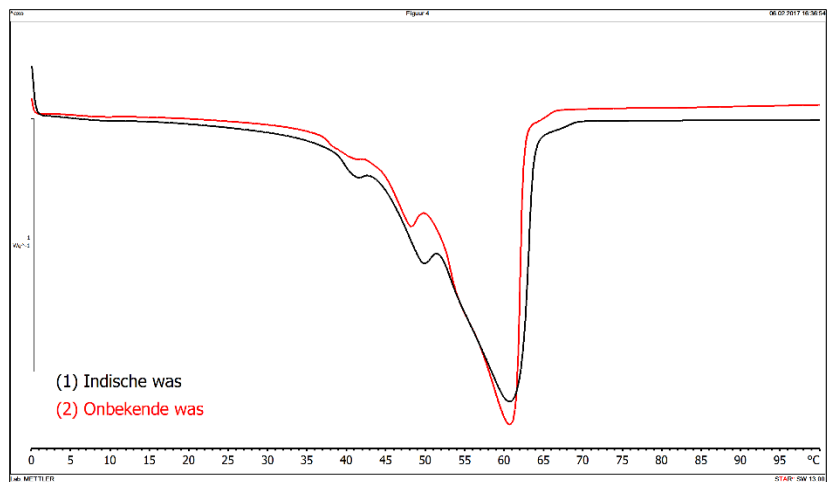
Prof. Filip Du Prez (Dept. Org. & Macromol. Chem., UGent) wordt bedankt voor de ter beschikkingstelling van de DSC apparatuur. Dr. Wim Reybroeck (ILVO) danken we voor de wasmonsters en de nuttige informatie en raadgevingen.

### Literatuur

Bogdanov S.: Online Beeswax Book: Chapter 2, [www.bee-hexagon.net](http://www.bee-hexagon.net) (2016).  
Buchwald R., Breed M.D., Greenberg A.R.: The thermal properties of beeswaxes: unexpected findings; The Journal of Experimental Biology, 211, 121-127 (2008).



Figuur 3: Thermogrammen van zuivere was en van twee "verdachte" wasen.



Figuur 4: Superpositie van (1) Indische was en een (2) onbekende was: praktisch identiek.

Bujok B., Kleinhenz M., Fuchs S.: Hot spots in the bee hive; Naturwissenschaften, 89, 299 (2002).  
'Cera alba' en 'Cera flava', European Pharmacopea, 6th Edition (2008).  
Remon J.P., Jacobs F.F.: Beeswax mimetic substances and methods of operating beehives, US pat. 6,585,557 (2003).

Timbers G. E., Robertson G.D., Goch-nauer T.A.: Thermal Properties of Beeswax and Beeswax-Paraffin Mixtures; Journal of Apicultural Research, 16, 49 (1977).  
Tulloch A.P.: Beeswax – Composition and Analysis; Bee World, 61, 47 (1980).