

# Couvain en mosaïque

## et adultération des cires

■ Etienne BRUNEAU

Le problème de couvain en mosaïque auquel ont été confrontés les apiculteurs l'an dernier a mis à jour une série de problèmes au niveau des cires d'abeilles. L'adultération touche également ce produit de la ruche. Les résultats d'analyses sont d'ailleurs assez surprenants.



Au cours de l'été 2016 plusieurs apiculteurs ont mis en évidence un problème lié aux nouvelles cires qu'ils avaient utilisées. Le couvain présent dans ces cires n'arrivait pas toujours à maturité et donnait une apparence de couvain en mosaïque. Les apiculteurs expérimentés ont vite constaté que le problème observé au niveau de leur couvain ne concernait que les nouvelles cires. Quelle est l'origine de ces phénomènes ? De nombreux pays sont ou ont été concernés par les problèmes de cire : Pays-Bas, Allemagne, France, Espagne, Belgique, Pologne. Suite aux plaintes des apiculteurs belges, en septembre, le SPF économie et l'AFSCA ont organisé une réunion avec les apiculteurs. Elle a été suivie d'un avis qui officialisait le problème et retirait de la vente des lots dont provenaient les cires concernées. En fin d'année, un second communiqué signalait que les diverses analyses réalisées mettaient en évidence des problèmes (e. a. des résidus de pesticides et de détergents, teneur élevée en acide stéarique, indices d'acides et d'esters non conformes, acidité,...). Vu l'absence de données scientifiques disponibles, ils ne peuvent se prononcer sur l'origine du phénomène qui pourrait être lié à une combinaison de facteurs dont des facteurs environnementaux (climat, environnement local). Vu l'impact important dans le secteur apicole, les apiculteurs sont conscients aujourd'hui que les cires présentes sur le marché sont le plus souvent d'une qualité qui laisse à désirer.

### Statut de la cire d'abeilles

Si la cire d'abeille n'a pas de statut spécifique dans la réglementation européenne, elle est cependant un **sous-produit animal** et à ce titre doit répondre à la législation européenne établissant les règles applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine (Rgl (CE) n° 142/2011 et son arrêté d'application Rgl (CE) n° 1069/2009). Elle y est classée dans la catégorie des sous-produits animaux présentant le moins de risques pour la santé publique. Officiellement, les criers doivent donc avoir un agrément spécifique et ils doivent mettre en évidence qu'ils répondent aux principes HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point). En dehors du cadre apicole, ce produit peut être utilisé comme un additif alimentaire. La cire d'abeilles est définie comme un additif alimentaire par la FAO (Compendium of food additive specifications). « Elle est définie comme un produit obtenu à partir des cadres d'abeilles (Fam *Apidae*, par exemple *Apis mellifera* L) après que le miel ait été extrait par pressage ou par centrifugation. Les cadres sont fondus avec de l'eau chaude, de la vapeur ou de la chaleur solaire. Le produit fondu est filtré et coulé dans des pains de cire d'abeille jaune. La cire

d'abeille blanche est obtenue en blanchissant la cire d'abeille jaune avec des agents oxydants, par ex. le peroxyde d'hydrogène, l'acide sulfurique ou les rayons du soleil. La cire d'abeille se compose d'un mélange d'esters d'acides gras et d'alcools gras, d'hydrocarbures et d'acides gras libres. Des quantités mineures d'alcools gras libres sont également présentes. » (FAO) Son numéro CAS (numéro d'enregistrement unique auprès de la banque de données de Chemical Abstracts Service) est le 8006-40-4 (cire jaune), 8012-89-3 (cire blanche), 8006-40-4 (cire d'abeille jaune) et 8012-89-3 (cire d'abeille blanche). « On entend par cire d'abeille jaune, le solide jaune ou brun clair qui est un peu fragile au froid et présente une fracture terne, granuleuse et non cristalline lorsqu'il est brisé. Il devient pliable à environ 35°C. Il a une odeur caractéristique de miel. Cire d'abeille blanche est un solide blanc ou blanc jaunâtre (les couches minces sont translucides) ayant une odeur faible et caractéristique de miel. » (FAO) La cire est utilisée au niveau alimentaire comme vitrificateur, agent de libération, stabilisateur, texturant pour base de gomme à mâcher, support pour additifs alimentaires (y compris les arômes et les couleurs), agent de trouble. La FAO signale une série de tests permettant de pouvoir s'assurer de la qualité de la cire.

La cire peut également entrer dans la **composition de médicament** et se retrouve à ce titre dans la pharmacopée européenne qui définit également des critères de pureté.

## Comment détecter l'adultération ?

La cire d'abeille est un produit complexe ( $\pm 300$  composés dont 74 éléments présents à plus de 1 %), constituée principalement de 14 % d'hydrocarbures, 35 % de monoesters (principalement des palmitates), 14 % de diester et 12 % d'acides libres. De nombreuses techniques sont utilisées pour rechercher les cires d'origine étrangères dans la cire d'abeilles. Les tests assez simples proposés par la FAO cherchent à vérifier la présence de composants étrangers comme la paraffine, la cérésine, la cire de carnauba, les graisses, la cire du Japon, le colophane, le savon, le glycérol et d'autres polyols.

Niveau d'adultération	Paraffine (%)	Echantillons (n) (%)	Echantillons
Haut	>70	12+7+8=27	11,8
Moyen à haut	45-70	14+3+1=18	7,9
Bas à moyen	20-45	6+6+7=19	8,3
Bas	5-20	28+32+58=128	56,1
Cire vierge	<5	11+14+31=56	24,6
<b>Total</b>		<b>61+62+105=228</b>	<b>100 %</b>

Les cires d'abeilles doivent répondre à un certain nombre de critères :

Point de fusion : 62 - 65°C

Indice d'acide : 17 - 24

Indice de peroxyde : < 5

Valeur de saponification : 87 - 104

Absence de cires étrangères : par ex. < 0,5 % glycérol et autres polyols

On sait que les test physico-chimiques comme le point de fusion ne permettent cependant pas de détecter toutes les adultérations.

Aujourd'hui les techniques chromatographiques (en phase gazeuse couplées à la spectrométrie de masse) permettent d'analyser les différents éléments présents dans les cires naturelles d'abeilles et permettent même de différencier les cires produites par des abeilles d'espèces différentes comme d'*Apis dorsata*, *cerana*, *florea*, *andreniformis* et *indica*. En 2004, avec de telles techniques Jiménez et al

ont mis en évidence de nouveaux composés mettant clairement en lumière la complexité de ce produit de la ruche (sur 56 hydrocarbures et monoester identifiés, 24 n'avaient jamais été signalés).

Pourtant, même avec ces techniques très performantes la détection d'adultération reste difficile car la cire n'est pas un produit stable et sa composition peut évoluer entre le rayon nouvellement bâti par les abeilles et la cire extraite de cadres et refondue à plusieurs reprises. De plus, chez les ciriers, les résidus éventuels de substances étrangères se retrouvent mélangés avec de très nombreuses cires d'origine souvent différentes. Cela crée une matrice encore plus complexe, difficilement maîtrisable. En fonction du type de paraffine utilisée les techniques chromatographiques seront plus ou moins performantes. Seules les chaînes d'hydrocarbures de plus de 35 atomes de carbones, absentes dans la cire naturelle, et l'augmentation du niveau naturel des hydrocarbures pourront indiquer une origine artificielle.

C'est pourquoi des chercheurs ont travaillé sur des pistes différentes pour vérifier le niveau de pureté de la cire : la quantification de certains composés spécifiques (par ex. l'eicosane) et des valeurs guides basées sur des rapports entre différents types d'éléments (Jiménez J.J. 2009). Aujourd'hui, les laboratoires arrivent à détecter des ajouts de 1 à 4 % de paraffine, de suif de vache, d'acide stéarique et de cire de carnauba. Avec le développement de techniques d'analyses infrarouges, les analyses permettent de quantifier rapidement le niveau d'adultération des cires et le type de composé qui a été ajouté. C'est une équipe de chercheur portugais (Maia M. et al 2013) qui a été la première à utiliser cette technique pour les cires. Vu leur simplicité, le niveau de détection et la rapidité des résultats analytiques (4 min), ces analyses peuvent être utilisées en routine. Elles nécessitent cependant de calibrer la méthode sur base de techniques chromatographiques. Une analyse dans le moyen infrarouge permet de détecter des adultérations de 5 % de

paraffine, de cire microcristalline ou de suif et de 0,5 % d'acide stéarique. Une équipe croate de l'université de Zagreb (Svečnjak et al 2015, 2016) a également développé cette piste analytique et l'a utilisée en routine.

## L'adultération

En 2010, Serra Bonvehi et Orantes Bermejo (2012) ont mis en évidence que 33 des 90 échantillons de cires espagnoles analysées contenaient entre 5 et 30 % de paraffine.

En 2012, l'équipe de Miguel Maia (2013) mettait en évidence 60 % des cires collectées sur le marché portugais en 2010-2011 étaient adultérées avec de la paraffine et 22 % avec de la cire micro-cristalline.

A Apicality à Rome, en novembre 2016, Lidija Svečnjak a présenté les résultats analytiques de cires provenant de 236 échantillons collectés de 2014 à 2016 chez des marchands et des ciriers dans 9 pays de l'UE (Allemagne, Autriche, France, Hongrie, Italie, Pays-Bas, Pologne, Slovaquie, Suède) et dans 9 pays hors UE (Kosovo, Macédoine, Serbie, Russie, Australie, Argentine, Cameroun, Chine, Russie). Les données sont alarmantes avec une contamination massive des cires avec de la paraffine (82, 77,4 et 70,5 % de 2014 à 2016). Les niveaux maximum enregistrés ont été de 92,7, 95 et 94,2 %. En 2016, elle a retrouvé de l'acide stéarique (25 à 35 %) dans les échantillons provenant des Pays-Bas et dans 5 des 6 échantillons belges pour lesquels les apiculteurs avaient signalé des problèmes.

Face à une telle situation, on peut se demander quel est l'impact de ces produits sur le développement des abeilles. L'impact de la paraffine sur le développement des colonies a été étudiée par Semkiw Piotr et Skubida Piotr. Ils ont ainsi enfermé des reines dans des cages contenant des cadres (un cadre témoin et un adultéré) avec 0 et 10 %, 0 et 30 % et 0 et 50 % de paraffine. Aucun effet négatif n'a pu être observé que ce soit au niveau de l'étirement des cires, de la ponte, du développement des stades immatures et de l'émergence du couvain. Les auteurs signalent cependant que la qualité des paraffines trouvées sur le marché est très variable et pourrait ainsi dans certains cas avoir un impact sur le développement du cou-



vain. Nous n'avons pas trouvé d'étude sur l'impact de l'acide stéarique. Ce produit faisant partie des phéromones du couvain pourrait cependant perturber le comportement de nourrissage du couvain. Certains apiculteurs signalent également que l'acidification de la gelée royale (acidification par la cire) provoque la mortalité des larves. Ces hypothèses devraient être vérifiées.

Face à une telle situation, il semble évident qu'un gros effort de recherche de qualité doit être fait par les ciriers qui devraient systématiquement accompagner leurs lots de résultats analytiques (recherche d'adultération et recherche de résidus chimiques). Quant aux apiculteurs, ils peuvent s'organiser pour ne travailler qu'avec des cires d'origine connue. Certains ciriers proposent un travail à façon. Naturellement, les bâtisses naturelles constituent certainement la piste la plus fiable mais cela demande de modifier plus profondément ses pratiques apicoles. Un gros travail d'information est à faire dans ce domaine.

#### Bibliographie

- Jiménez J.J., Bernal J.L., del Nozal M.J., Toribio L., Bernal J. (2007) *Detection of beeswax adulterations using concentration guide-values*, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 109 (2007) 68-690
- Jiménez J. J., Bernal J. L., del Nozal M. J., Martín T., Toribio L. (2009) *Identification of adulterants added to beeswax: Estimation of detectable minimum percentages* - Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2009, 111, 902-911
- Jiménez J.J., Bernal J.L., Aumente S., del Nozal Ma.J., Martín Ma.T., Bernal Jr J.. (2013) *Quality assurance of commercial beeswax - Part I. Gas chromatography-electron impact ionization mass spectrometry of hydrocarbons and monoesters* - Journal of Chromatography A, 1024 (2004) 147-154
- Maia M., Barros A. R. N. A., Nunes F. M. (2013) *A novel, direct, reagent-free method for the detection of beeswax adulteration by single-reflection attenuated total reflectance mid-infrared spectroscopy*. Talanta 107: 74- 80. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.09.052
- Semkiw P., Skubida P. (2013) *Comb construction and brood development on beeswax foundation adulterated with paraffin*, Journal of Apicultural Science Vol 57 n°1 2013 75-83
- Serra Bonvehi J., Orantes Bermejo F.J. (2012) *Detection of adulterated commercial Spanish beeswax* Food Chemistry - Vol. 132, Issue 1, 642-648
- Schryve A. (2016) *Etat des lieux sur les cires à usage apicole utilisées en France métropolitaine. Evaluation des points critiques*. - Thèse Univ. Claude-Bernard - Lyon 1 169p

Svečnjak L., Baranović G., Vinceković M., Prđun S., Bubalo D., Gajger I.T. (2015) *An approach for routine analytical detection of beeswax adulteration using FTIR-ATR spectroscopy* - J. Apic. Sci. Vol.59 n°2

Svečnjak L., Prđun S., Bubalo D., Matošević M., Car J. (2016) *Beeswax adulteration issue: aspects of contamination and outcome - 5th Apiquality Roma 21-23 november 2016*

Waiś E., Szczęsna T., Rybak-Chmielewska H. (2016) *Efficiency of GC-MS method in detection of beeswax adulterated with paraffin* - J.Apic. Sci. Vol.60 n°1

Jiménez J.J., Bernal J.L., Aumente S., del Nozal M.J., Martín L., Bernal J. (2004)

*Quality assurance of commercial beeswax Part I. Gas chromatography-electron impact ionization mass spectrometry of hydrocarbons and monoesters* - Journal of Chromatography A, 1024 (2004) 147-154

#### MOTS CLÉS :

cire, adultération, laboratoire, analyses

#### RÉSUMÉ :

La cire est un produit très complexe. La recherche d'adultération y est très difficile. Les techniques infra-rouges apportent une solution rapide et performante. La situation de terrain met en évidence une forte adultération des cires avec la paraffine et l'acide stéarique ce qui semble poser problèmes.