

Svojstva i primjena pčelinjeg voska

Đuranović, Božana

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:844815>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

Božana Đuranović

SVOJSTVA I PRIMJENA PČELINJEG VOSKA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Prof. dr. sc. Mirela Leskovic, Fakultet kemijskog
inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Mirela Leskovic, Fakultet kemijskog inženjerstva
i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu

Dr. sc. Zrinka Buhin Šturlić, poslijedoktorand, Fakultet kemijskog inženjerstva
i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu

Dr. sc. Vesna Očelić Bulatović, poslijedoktorand, Fakultet kemijskog
inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu

Zagreb, srpanj 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA ZAVRŠNE ISPITE

Kandidatkinja Božana Đuranović

Predala je izrađen završni rad dana: 4. srpnja 2017.

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Mirela Leskovic, Fakultet kemijskog
inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
Dr. sc. Zrinka Buhin Šturlić, poslijedoktorand, Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu
Dr. sc. Vesna Očelić Bulatović, poslijedoktorand, Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada
pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: 7. srpnja 2017.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Mireli Leskovic na strpljenju, neprocjenjivoj pomoći i stručnom vodstvu pri izradi ovog završnog rada. Šantolić Mariu, mag. ing. oecoing. zahvaljujem na pomoći tijekom eksperimentalnog dijela rada.

Također, zahvaljujem se obitelji na pažnji, podršci i vjeri.

SAŽETAK

Svojstva i primjena pčelinjeg voska

Pčelinji vosak je proizvod pčela i najvažniji je prirodni vosak zbog svojih jedinstvenih svojstava i korisnih primjena u medicini, kozmetici, hrani, inženjerstvu i industriji. Pčelinji vosak je dostupan u dva oblika: žuti (*Cera flava*) i bijeli (*Cera alba*). Žuti pčelinji vosak dobiva se taljenjem saća vrućom vodom i filtriranjem nečistoća iz taline. Bijeli pčelinji vosak dobiva se izbjeljivanjem žutog pčelinjeg voska s kalijevim permanganatom, aktivnim ugljenom ili sunčevim zrakama. Vrlo čist pčelinji vosak je bijel, ali prisutnost peluda i drugih tvari uzrokuju da postane žut. Pčelinji vosak je složena mješavina ugljikovodika, karboksilnih kiselina, estera i alkohola.

Cilj ovog rada bio je istražiti strukturna i toplinska svojstva različitih vrsta pčelinjih voskova (BW), domaće i komercijalne proizvodnje. Strukturna svojstva različitih pčelinjih voskova analizirana su pomoću FTIR-ATR spektroskopije a površinska svojstva dobivena su mjerenjem kontaktnog kuta. Toplinska svojstva pčelinjeg voska analizirana su primjenom diferencijalne pretražne kalorimetrije (DSC) i termogravimetrije (TGA).

Rezultati ukazuju da nečistoće uključene u pčelinjem vosku imaju značajan utjecaj na svojstva površine i na toplinska svojstva. Veća hidrofilnost prisutnih nečistoća doprinosi sniženju hidrofobnosti voska i sniženju toplinske stabilnosti.

Ključne riječi: pčelinji vosak, DSC, FTIR-ATR, TGA, kontaktni kut

ABSTRACT

Properties and application of beeswax

Beeswax is a bee product and it is the most important natural waxes because of its unique properties and useful applications in medicine, cosmetics, food, engineering and industry. Beeswax is available in two forms, yellow (*Cera flava*) and white (*Cera alba*). Yellow beeswax is made by melting honeycombs with hot water and filtering out impurities from the melt. White beeswax is made by bleaching yellow beeswax with potassium permanganate, active carbon or sunlight. Very pure beeswax is white, but the presence of pollen and other substances cause it to become yellow. Beeswaxes are a complex mixture of hydrocarbons, carboxylic acids, esters and alcohols.

The aim of this study was to investigate a structural and thermal properties of different kinds of beewaxes (BW), domestic and commercial one.

Structural properties of different beewaxes were analysed by using FTIR-ATR spectroscopy and surface properties were obtained by using the contact angle measurement. Thermal properties of beewaxes were investigated with a differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetry (TGA).

The results indicates that impurities incorporated in beewaxes has a great influence on the surface as well as their thermal properties. Higher hydrophylity of impurities contributes to lowering hydrophobity of beewaxes and lowering their thermal stability.

Key words: beeswax, DSC, FTIR-ATR, TGA, contact angle

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. STRUKTURA I SVOJSTVA VOSKA	2
2.1.1. Postupak proizvodnje pčelinjeg voska	4
2.2. VRSTE I PRERADA PČELINJEG VOSKA	6
2.2.1. Metode i analiza pčelinjeg voska	7
2.2.2. Prerada voska	9
2.3. PRIMJENA PČELINJEG VOSKA	11
2.3.1. Pčelinji vosak kroz povijest	11
2.3.2. Upotreba pčelinjeg voska danas	14
2.4. METODE KARAKTERIZACIJE	18
2.4.1. FTIR - ATR spektroskopija	18
2.4.2. Kontaktni kut	20
2.4.3. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)	23
2.4.4. Termogravimetrijska analiza (TGA)	24
3. EKSPERIMENTALNI DIO	26
3.1. MATERIJALI	26
3.2. PRIPRAVA PLOČICA VOSKA	29
3.3. TEHNIKE KARAKTERIZACIJE	29
3.3.1. FTIR-ATR spektroskopija	29
3.3.2. Mjerenje kontaktnog kuta	30
3.3.3. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)	31
3.3.4. Termogravimetrijska analiza (TGA)	31
4. REZULTATI I RASPRAVA	32
4.1. Rezultati FTIR-ATR spektroskopije	32
4.4. Rezultati određivanja slobodne površinske energije	36
4.2. Rezultati DSC analize	39
4.3. Rezultati TGA analize	43

1. UVOD

Pčele proizvode i koriste vosak kao građevni materijal za izradu svoje nastambe - saća. Vosak proizvode u voštanim žlijezdama. Pčelinji vosak izlučuju u obliku malih pločica pčele radilice iz četiri para voskovnih žlijezda koje se nalaze s donje strane abdomena koji postaju funkcionalni kada su pčele starosti 9-17 dana.¹⁻³

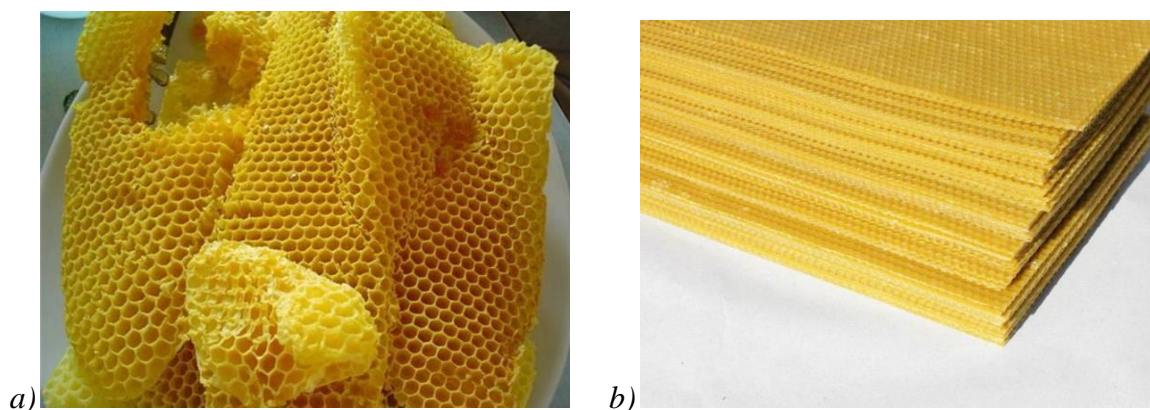
Osnovni gradivi elementi pčelinjeg saća heksagonalnog je oblika upravo zato što takav oblik omogućava učinkovitu i ekonomičnu upotrebu prostora i materijala od koga je sagrađeno. Pčele intuitivno odabiru najbolji mogući oblik gradnje. Pojam pčelinji vosak često je ograničen samo na proizvod pčela (*Apis species*) a mnogi kao izvor određuju *Apis mellifera* L..^{4,5} To je jedan od najvrednijih i najstarijih pčelinjih proizvoda koje čovječanstvo koristi. Saće nije samo mjesto za pohranu meda i peluda te mjesto za odgoj ličinki već služi kao komunikacijski medij pčelinjoj zajednici. Saće je izgrađeno s nevjerojatnom preciznošću. Za izgradnju saća površine 2,5 m² koja je potrebna pčelinjoj zajednici utroši se oko milijardu listića. Pčelinji je vosak bijelo-žute do žuto-smeđe boje ovisno o boji cvjetnog praha i propolisa unesenog u vosak i ovisno o njegovoj starosti. Vosak koji pčele izlučuju neposredno iz voskovne žlijezde je bijele boje koja se na zraku pretvori u žutu. Kasnije ovisno o starosti saća vosak postaje sve tamniji odnosno bude smeđecrvene boje. Uglavnom je miris voska ugodan i miriše po biljci s koje je sabran a rastopljen miriše jače od krutog. Ako potječe od nekvalitetne sirovine, on gubi svoj ugodni miris.¹ Pčelinji vosak može biti: nepročišćeni, pročišćeni (rafinirani) (*Cera flava*) i pročišćeni (rafinirani) bijeli pčelinji vosak (*Cera alba*). Jedinstvena svojstva pčelinjeg voska čine ga važnom sirovinom u razvoju novih proizvoda u različitim područjima kao što su kozmetika, hrana, farmaceutika, inženjerstvo i industrija.^{5,6}

U ovom radu provedena su ispitivanja strukturnih i površinskih karakteristika te toplinskih svojstava dvije vrste domaćeg nerafiniranog pčelinjeg voska i dvije vrste rafiniranog pčelinjeg voska komercijalne proizvodnje s namjerom da se utvrde razlike uvjetovane pročišćavanjem voska.

2. OPĆI DIO

2.1. STRUKTURA I SVOJSTVA VOSKA

Voskovi se dijele na prirodne i sintetički proizvedene. Proizvod su mineralnog, biljnog, životinjskog i sintetskog podrijetla. Prirodni voskovi mogu biti životinjskog podrijetla (pčelinji, lanolin, cetaceum), mineralni (ceresin, montan, ozokerin) i biljni (na biljkama se nalaze kao premazi na lišću i plodovima). Najzanimljiviji i najpoznatiji je pčelinji vosak (slika 1), koji je životinjskog podrijetla. Pčelinji je vosak bijelo-žute do žuto-smeđe boje ovisno o boji cvjetnog praha i propolisa unesenog u vosak. Boja voska također ovisi o njegovoj starosti. Vosak koji pčele izlučuju neposredno iz voskovne žlijezde je bijele boje koja se na zraku pretvori u žutu. Kasnije ovisno o starosti saća vosak postaje sve tamniji odnosno bude smeđecrvene boje. Vosak uglavnom ima ugodan miris (miriše po biljci s koje je sabran) a rastopljen miriše jače od krutog. No, ako potječe od nekvalitetne sirovine, on gubi svoj ugodni miris.¹ Nema poseban okus osim ako je dobiven od loše sirovine. Ne miješa se s vodom, ne upija ju i može oblikovati zaštitni vodonepropusni sloj. Otopina čistog voska u primjerenim otapalu stvara s vodom emulziju. Vosak se koristi kao učvršćivač u različitim kremama i laštilima te kao izolator jer ima visoku električnu otpornosti ($8 \text{ do } 20 \times 10^{12} \Omega$) odnosno visoku izolacijsku sposobnost. Može se miješati s organskim spojevima, saponificirati i stvarati stabilne emulzije. Pčelinji vosak na sobnoj temperaturi je tvrd, čvrst i lomljiv. Gustoća mu je od $0,964 \text{ do } 0,970 \text{ g/cm}^3$, a talište od $62 \text{ do } 64 \text{ }^\circ\text{C}$, tablica 1 i 2. Do sada je u vosku utvrđeno više od 300 sastojaka. Glavni sastojak voska (70 do 74 %) su esteri zasićenih masnih kiselina s jednovalentnim alifatskim alkoholima. Vosak sadrži još oko 15 % jednostavnih masnih kiselina i oko 15% alifatskih ugljikovodika (visoke molekulske težine) i boja, više od 50 aromatičnih tvari, nešto mineralnih tvari i vitamin A (oko 4000 IE u 100 grama). Neki od tih svojstava prikazani su u tablici 1. Vrućim alkoholom se može razdvojiti na dvije frakcije: topljivu, koja se naziva *cerin* i netopljiva, *miricin*. *Cerin* je mješavina visokomolekulskih masnih kiselina, alkohola i ugljikovodika. *Miricin* je uglavnom sastavljen od estera miricilnog alkohola i palmitinske kiseline.¹



Slika 1. a) Pčelinje saće (vosak) i b) satne osnove od pčelinjeg voska³

Makro i mikroelementarna istraživanja pčelinjeg voska pokazala su da sadrži manje kemijskih elemenata nego pelud i propolis sa sličnog zemljopisnog lokaliteta. U jednom gramu pčelinjeg voska nađeno je: 28 μg željeza (Fe), 27 μg cinka (Zn), 0,2 μg (Co) kobalta, 0,8 μg kroma (Cr), 1,2 μg selena (Se), 0,1 μg antimona (Sb), 0,01 μg cezija (Cs), 6 μg žive (Hg) i u tragovima barija, rubidija, cerija, europija, hafnija, talija.¹ Zbog prisutnosti nađenih esencijalnih makro i mikroelemenata, pčelinji vosak ima znanstveno dokazanu primjenu u kozmetici jer sadrži kemijske elemente koji su važni za diobu stanica i regeneraciju tkiva. Iako se mikro i makroelementi nalaze u vrlo malim količinama u vosku znanstvenici ukazuju na njihovu važnost kao biokatalizatora za određene metaboličke i kemijske procese. Toksične elemente kao npr. živa (Hg) koja dospijeva u tlo raznim zprašivačima, olovo (Pb) koje dospijeva u tlo preko ispušnih plinova motornih vozila, te kadmij (Cd) koji se nalazi u lišću duhana, u vosku se mogu naći u tragovima.¹

Tablica 1. Fizikalno-kemijske karakteristike pčelinjeg voska¹

Talište	61-66 °C
Indeks loma	1,438-1,485
Kiselinski broj	11/24/16
Esterski broj	66-82
Peroksidni broj	maks. 10
Saponifikacijski broj	83-106

Pčelinji vosak često se krivotvori. Tvari koje se dodaju vosku mijenjaju njegovu kvalitetu pa ga ni pčele, ni industrija ne mogu iskoristiti. Za krivotvorenje voska najčešće se koristi parafin, cerezin i stearin, no znaju se dodavati i drugi životinjski ili biljni voskovi, a također se mogu naći glina, škrob i gips.¹

2.1.1. Postupak proizvodnje pčelinjeg voska

Pčelinji vosak je proizvod voštanih žlijezda pčela radilica koje ga izlučuju po potrebi, slika 2. Četiri para voštanih žlijezda koje se nalaze između drugog i petog trbušnog segmenta imaju samo pčele radilice. Razvoj im počinje od prvih dana života, ali pčele u to vrijeme ne izlučuju vosak. Pčele izlučuju vosak za vrijeme paše. Mlade pčele od 12 do 18 dana dosežu najviši stupanj razvijenosti. U voštanim žlijezdama vosak se nalazi u tekućem stanju. On se izlučuje kroz sitne rupice na voštanom ogledalu. U dodiru sa zrakom on se stvrdne u voštane pločice koje su teške od 0,18 do 0,25 mg. Pčele koje su se izlegle u jesen imaju slabo ili nikako razvijene voštane žlijezde. Međutim, u proljeće kod tih pčela razvijaju se voštane žlijezde i proizvode vosak. No one pčele koje su imale žlijezde razvijene u jesen nisu bile u stanju izlučivati vosak u proljeće.¹ Najintenzivnije je izlučivanje voska kod pčela u proljeće i ljeto kada je paša obilna odnosno kada je mnogo pčela u pčelinjoj zajednici i kada je dovoljno toplo i ima slobodnog prostora u košnici. Pčelinja zajednica bez matice ne proizvodi vosak i ne gradi saće ni u kojem slučaju pa čak ni onda kada su uvjeti povoljni.¹



Slika 2. Pčele radilice u košnici¹



Slika 3. Pčela medarica s izlučenim listićima voska ^{4,5}

Vosak se izlučuje u obliku tankih, bezbojnih ljuščica, slika 3. Pčela medarica upotrebljava vosak isključivo za gradnju saća i obrađuje ga u plastičnom stanju. Kad gradi poklopce kojim poklapa leglo, onda u vosak miješa pelud i razne otpatke koje nađe u blizini a poklopci su porozni kako bi se propuštao zrak do legla. Kada su pčele spremne proizvoditi vosak i graditi saće one se uhvate za tavan košnice odakle se vješaju jedna za drugu u lance i zastore. Tako nepomično vise u toploj košnici i do 38 sati, čekajući da počne izlučivanje voska koji se izlučuje u tekućem stanju. Izlučuje ga osam žlijezda koje se nalaze na donjoj strani zatka pčele radilice (spolno nerazvijene ženke), na površini četiriju zadnjih kolutića, na svakom kolutiću po jedan par kroz koje se izlučuje vosak kroz sićušne pore. Vosak je skup proizvod jer za njegovu proizvodnju pčelama treba mnogo hrane. Meda se dobije mnogo manje ako pčele moraju graditi i saće. Od četiri kilograma voska sagradi se toliko saća da u njega može stati stotinu kilograma meda.^{6,7}

Pčelari moraju paziti da stavljaju satne osnove u pčelinju zajednicu. Naime, za vrijeme njege legla i prerade nektara pčele proizvode vosak bez obzira na to hoće li ga upotrijebiti. Satnu osnovu proizvodi pčelar ili organizacija posebnim strojevima. To je čisti pčelinji vosak u tablama na kojima su utisnute osnove radiličkih stanica. Veoma jaka pčelinja zajednica može proizvesti na godinu do 7 kilograma meda. Pčelinji se vosak dobiva pretapanjem okvira plodišta i medišta te okvira građevnjaka koji se iz bilo kojih razloga moraju ukloniti iz košnice.⁸

2.2. VRSTE I PRERADA PČELINJEG VOSKA

Pčelinji vosak može biti: nepročišćeni, pročišćeni (rafinirani) (*Cera flava*) i pročišćeni (rafinirani) bijeli pčelinji vosak (*Cera alba*). Nepročišćeni pčelinji vosak dobiva se topljenjem voska s okvira, izvađenih iz košnica. S okvira se skine saće i kuha uz dodatak vode. Drugi način je da se vosak zajedno s okvirima topi. Tim postupkom se saće rastali za pola sata, a okviri se odvoje i djelomično dezinficiraju.

Tablica 2. Svojstva nepročišćenog pčelinjeg voska¹

Svojstva	Orijentacijske vrijednosti
Talište	58-64 °C
Sadržaj pepela u masenim%	0,6
Kiselinski broj	15 do 21
Saponifikacijski broj	Najmanje 90

Pročišćeni vosak mora biti bez stranih primjesa i dobiva se preradom nepročišćenog voska. Pročišćeni bijeli pčelinji vosak je potpuno bijel.¹

Tablica 3. Svojstva pročišćenog voska i bijelog pročišćenog voska¹

Svojstvo	Pčelinji vosak (žuti, <i>Cera flava</i>)	Bijeli pčelinji vosak (<i>Cera alba</i>)
Talište	61 do 65 °C	63 do 65 °C
Gustoća, g/cm ³	0,959 do 0,975	0,964 do 0,968
Sadržaj pepela u masenim %	1,4398 do 1,4451	1,438 do 1,4521
Hlapljive tvari u masenim %	Najviše 0,1	Najviše 0,1
Kiselinski broj	16,8 do 21,5	18,6 do 22,0
Saponifikacijski broj	88 do 107	90,4 do 97,0
Esterski broj	74 do 76	74 do 76

Odvajanjem košuljica ličinki, peluda i drugih nečistoća vosak ide na daljnju obradu jer sadržava strane primjese. Nepročišćeni vosak (tablica 2)¹ po kvaliteti nije isti kao pročišćeni vosak (tablica 3)¹. Njegove vrijednosti variraju i ovise o starosti i načinu topljenja te načinu izdvajanja voska. Sve su to čimbenici zbog kojih se njegove vrijednosti mijenjaju.¹

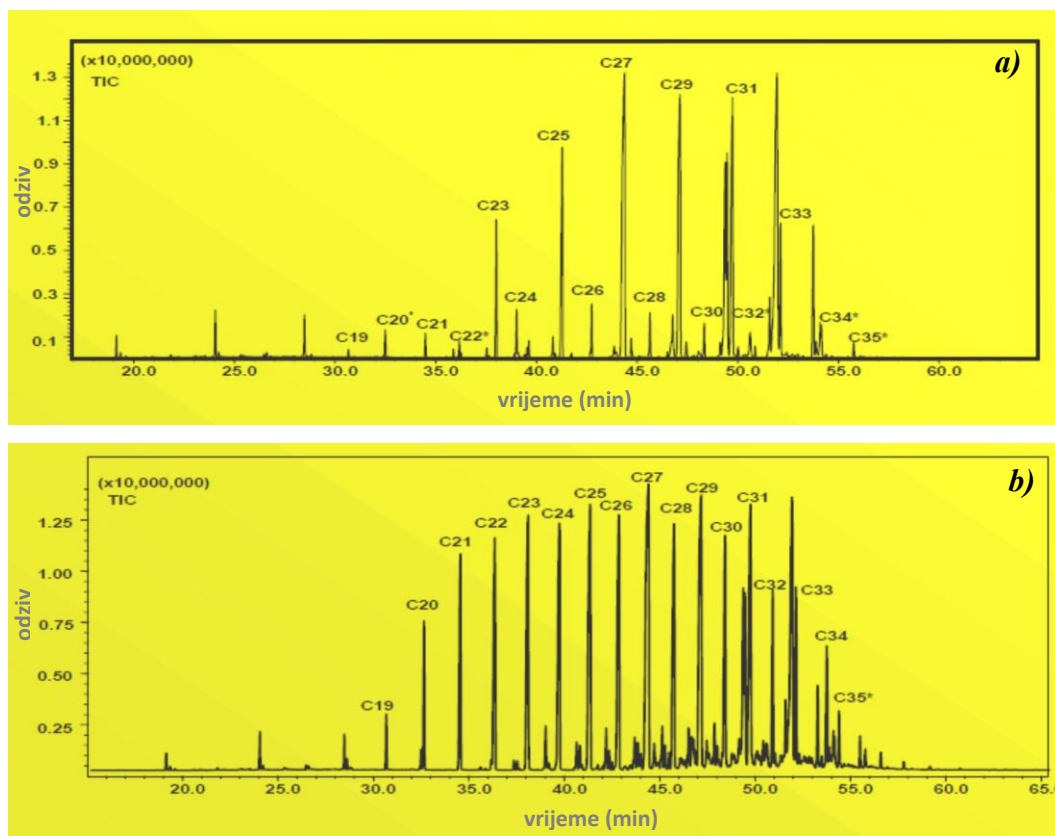
Kod raznih pasmina pčela omjeri među tim komponentama nisu isti, jer je njihova količina različita. Fizikalno - kemijska svojstva, atomska kristalna struktura i morfologija glavnih produkata pčelinjih aktivnosti mogu poslužiti kao pokazatelj zdravlja pčele, ekoloških uvjeta područja u kojima se pčele hrane i žive. Također, ove analize imaju neovisnu vrijednost u produblivanju znanja o mehanizmu postanka i strukturi meda, propolisa, pčelinjeg kruha, matične mliječi, pčelinjeg otrova, itd. Na primjer, sastav voska medonosne pčele i afričke pčele je jednak, dok se vosak indijskih pčela razlikuje. Da bi se mogla kontrolirati kvaliteta voska, određuju se sljedeći parametri:

- kiselinski broj, kao mjera količine slobodnih kiselina i kiselih estera i izražava se u miligramima kalijeve lužine potrebne za neutralizaciju kiselih spojeva u jednom gramu voska
- saponifikacijski broj prikazuje ukupan broj slobodnih i vezanih kiselina u obliku estera. Izražava se u miligramima kalijeve lužine potrebne za neutralizaciju kiselina u jednom gramu voska
- esterski broj je pokazatelj količine estera i jednak je razlici između saponifikacijskog i kiselinskog broja
- jodni broj pokazuje koliko će grama joda reagirati s nezasićenim spojevima u 100 grama voska. On se kreće od 7 do 15 u vosku medonosne pčele.¹

2.2.1. Metode i analiza pčelinjeg voska

Za analizu pčelinjeg voska i utvrđivanje mogućeg onečišćenja stranim, štetnim supstratima, koristi se cijeli niz dobro poznatih kemijskih metoda, a tehničkim napretkom povećava se brzina analize te njezina točnost i preciznost. Brojna istraživanja provedena su kako bi se utvrdila najbolja i najkvalitetnija metoda i parametri određivanja zasićenja štetnim tvarima, osobito nepogodnim alkanima. Kao najčešća metoda danas se koristi plinska kromatografija i kromatografija u stupcu, u kombinaciji s masenim detektorima. Na taj se način određuju alkani u prirodnim i onečišćenim

woskovima, a usporedbom njihovih kromatograma vidljivo je da prirodni voskovi sadrže samo alkane s neparnim brojem ugljikovih atoma, dok onečišćeni voskovi sadrže i alkane s parnim brojem ugljikovih atoma (slika 4).



Slika 4. Usporedni kromatogrami alkana u *a)* prirodnom pčelinjem vosku i *b)* komercijalnom parafinu dobiveni plinskom kromatografijom (Gas Chromatograph Mass Spectrometer) ⁹

Dok ove metode vrlo dobro prikazuju ukupnu količinu ugljikovodika u vosku, identifikacija njih i ostalih komponenti ostaje problem. Noviji uređaji za plinsku kromatografiju u kombinaciji s masenim spektrometrom otklanjaju i taj nedostatak te omogućavaju kvalitetnu identifikaciju i određivanje udjela svih ugljikovodika. U novije vrijeme popularne su metode diferencijalne (razlikovne) pretražne kalorimetrije (DSC) te infracrvene spektroskopije (FTIR), kojima se s velikom sigurnošću može odrediti udio onečišćenja u vosku. DSC tehnikom se mogu odrediti specifični toplinski kapacitet i njegova promjena, temperature i entalpije faznih prijelaza (taljenje i kristalizacija), staklište. Ovisno o temperaturama i entalpijama kristalizacije i taljenja, može se odrediti udio onečišćenja u samom vosku (onečišćeni voskovi imaju niže talište i manju entalpiju taljenja), međutim DSC metoda nije dovoljna za točno određivanje sastava voska. FTIR

spektroskopijom mogu se brzo i učinkovito utvrditi dodaci koji se nalaze u vosku jer tehnika omogućuje identifikaciju funkcionalnih skupina. Transmitancija na karakterističnim valnim brojevima voska smanjuje se povećanjem udjela nečistoća, što ovu metodu u kombinaciji s DSC-om čini pogodnom za brzu kvalitativnu i kvantitativnu analizu voskova.⁸

2.2.2. Prerada voska

Nakon Drugog svjetskog rata raste potražnja za pčelinjim voskom i znatno je veća nego proizvodnja. Vosak se uglavnom uvozi iz Istočne Europe a nešto iz Afrike. Teško je procijeniti količinu domaće proizvodnje voska jer nema kontroliranog tržišta preko pčelarskih udruženja i drugih pravnih subjekata. Najveći dio dobivenog voska pčelari vraćaju u košnice u vidu satnih osnova dok stari vosak pojede voskov moljac. Čist pčelinji vosak dobiva se taljenjem mednih poklopčića. Na svakih 50 kg vrcanog meda dobije se oko 1 kg voska. Redovitim izrezivanjem građevnjaka i zaperaka može se dobiti izvanredno čist pčelinji vosak a na kraju ostaje vosak koji se dobiva iz starog saća koje se zamjenjuje satnim osnovama u košnici. Najbolja kvaliteta voska dobiva se topljenjem voska iz solarnog topionika, slika 5.¹⁰ U ovom topioniku može se topiti samo mlado saće, zaperci i medni poklopci. Prije topljenja mednih poklopaca potrebno je dobro ocijediti med kojeg ima previše za male rezervoare u solarnom topioniku, a osim toga visoka temperatura (zagrijavanjem na suncu) bi med mogla oštetiti. To isto vrijedi i ako se topljenje vrši na klasičan način.¹¹

Međutim, i ovako dobiven vosak treba ponovo zagrijati i razliti u posude od emajla ili kalupe od neoksidirajućeg materijala. Najveći problem za većinu pčelara predstavlja izdvajanje voska iz starog saća u kome se tijekom dužeg perioda izvadilo leglo. Mjerenjima je utvrđeno da se poslije 15 generacija izvedenih pčela težina satova utrostručila, da bi nakon tridesete generacije bila veća za četiri puta nego kada je satna osnova stavljena u košnicu. Postoje različitih načini za izdvajanje voska iz stalnog saća, od potapanja i kuhanja do cijedenja cijele smjese ispod preše. Vreća se gnječi i prevrće dok voda polako vrije i vosak ispliva na površinu. Ostatak voska koji se nalazi u vreći može se izvući prešanjem.¹¹



Slika 5. Prikaz pčelarske opreme za vrcanje, dekrystalizaciju, topljenje i prešanje voska¹⁰

Vosak se može dobiti pomoću parnih topionika, centrifuga i električnih preša na suho. Bez obzira na to kako će pčela preraditi staro saće, u najvećem broju slučajeva ostane nešto voska u voskovarini i zbog toga se vosak najbolje izvuče u industrijskim postrojenjima koja postoje u nekim zemljama kao na primjer u Danskoj, gdje pčelari donose staro saće s okvirima u nastavcima i u zamjenu dobivaju satne osnove zajedno s očišćenim i dezinficiranim okvirima. Saće iz društava koja su uginula ili bila jako zaražena američkom truleži (destruktivnom bolešću pčelinjeg legla), pčelar ne smije pretapati s ostalim saćem, već se takvo saće spaljuje. Ukoliko se takav vosak ipak koristi, tada mora proći kroz poseban postupak sterilizacije kako bi se uništile spore američke truleži koje se u vosku mogu zadržati godinama a po dospijeću u košnicu kroz umjetne satne osnove mogu zaraziti pčelinja legla. Zbog ovoga je veoma opasno izrađivati satne osnove od voska koji pojedinci proizvode bez odgovarajuće opreme za sterilizaciju.¹¹

Pri topljenju voska treba voditi računa o sljedećem:

1. Opasno je topiti vosak iznad otvorene vatre jer može doći do požara.
2. Nije dobro koristiti pregrijanu paru za topljenje pčelinjeg voska jer dolazi do saponifikacije.
3. Nikako ne treba topiti ili pretapati vosak u brončanim, bakrenim i drugim posudama koje nisu galvanizirane jer to dovodi do gubljenja prirodne boje voska.
4. Za kvalitetu voska je loše ako dođe do miješanja sastruganog voska s propolisom. Ovakva mješavina ima nižu točku topljenja i čini vosak ljepljivim.
5. Razliveni vosak je lakše izvaditi iz posude sa kosim zidovima nego ako su uspravni. Zidove prije razlijevanja potrebno je premazati tankim slojem jestivog ulja. Pčelinji vosak lako upija mnoge kemikalije, pa ga zbog toga ne treba držati u prostorijama gdje su pesticidi. Ovo posebno vrijedi za satne osnove i rezervno saće.¹¹

2.3. PRIMJENA PČELINJEG VOSKA

2.3.1. Pčelinji vosak kroz povijest

Pčelinji proizvodi su od davnina poznati čovječanstvu, od najranije povijesti u gotovo svim civilizacijama svijeta. U prošlosti je med bio jedino sladilo koje su ljudi poznavali, a pčelinji su proizvodi od davnina zadovoljavali različite potrebe ljudi - u ishrani, liječenju i kozmetici. Stari Grci i Rimljani rabili su med za konzerviranje svježeg mesa i divljači. Drevni Egipćani i Grci koristili su ga za balzamiranje umrlih i za izradu anatomske opreme. Poznato je da je krema za lice koju je rabila Kleopatra sadržavala niz komponenata, među kojima je bio i med. Stanovnici Cejlona čuvali su pomoću meda meso svježim i do godinu dana. Krvne žile i druga tkiva napunili su obojenim voskom kako bi njihove karakteristike bile vidljive. Stari Grci (Hipokrit) vosku su pripisivali dragocjena ljekovita svojstva (oblozi za glavu i vrat za liječenje angine, voštani zavoji za različite namjene). U faraonskom Egiptu, antičkoj Grčkoj i starom Rimu vosak je korišten kao lijek za unutarnje bolesti. Za vanjsku uporabu od voska su radili obloge i povoje, a njegovim parama liječili su bolesti dišnih organa.¹ Stari Grci, Rimljani, Kinezi i Egipćani koristili su med za zarastanje rana i liječenje želučanih bolesti. Pčelinji vosak se kroz povijest koristio za liječenje rana i kožnih bolesti, dok se propolis kao lijek koristio u liječenju kožnih povreda, rana i infekcija.⁴

Zbog svoje ljepljivosti, propolis je korišten da se zaštiti povrijeđena koža u vrijeme kada još nisu postojali zavoji, pri čemu je njegovo blago antibakterijsko djelovanje još i pospješivalo cijeljenje rane. Velika upotreba propolisa zabilježena je za vrijeme Burskih ratova u Južnoj Africi (1899-1902), jer je pokazao odlične rezultate kod zarastanja rana.¹



Slika 6. U Starom Egiptu kao poklon nosi se med¹²

Pčele obitavaju na Zemlji već gotovo 40 milijuna godina što potvrđuju brojna nalazišta ostataka pčela u jantaru. Za usporedbu, ljudi su na Zemlji posljednjih 200.000 godina a vatru i med otkrili su prije 40.000 godina. Tijekom stoljeća, med je postao izuzetno cijenjen te su u različitim kulturama kao što primjerice u Drevnom Egiptu, Grčkoj, Rimu i Germanskim narodima nastali brojni mitovi o medu. Koliko je bio cijenjen da su ga nazvali i "hranom Bogova". S vremena na vrijeme to se čak naziva i "hrana bogova". Drevni Grci cijenili su med kao kozmetičku i ljekovitu tvar. Na Olimpijskim igrama sportaši su pili vodu s medom kako bi brzo dobili snagu. Charlemagne je dao pčelarstvu veliki poticaj: On je naložio da svaka farma mora imati pčelara i posudu za fermentaciju meda u vodi, kako bi proizvodili vino od meda. Čak je i crkva promicala pčelarstvo, jer su košnice korištene za izradu voska za svijeće.¹²



Slika 7. Egipatski hijeroglifi, med kao moć kraljeva¹³

Najstariji zapis o čuvanju pčela u košnicama pronađen je kod Kaira u hramu Sunca podignutom 2400. godine prije Krista. Pčele su se često pojavljivale u egipatskim hijeroglifima, slika 7 i 8, a faraoni su ga cijenili jer je simbolizirao plemstvo.^{12, 13}



Slika 8. Hijeroglifi pčela na građevini¹³

Drevni Egipćani koristili su med kao zaslađivač, kao dar svojim Bogovima, pa čak i kao sastojak u tekućini za balzamiranje. Egipćani su pekli medene kolače i nosili ih kao darove Bogovima kako bi blagoslovidi trudnice, umrlog ili kao zalog za dobar brak. Med se spominje u najstarijim pisanim dokumentima koji datiraju do 2100. godine prije Krista, gdje se spominje u sumerskim i babilonskim spisima i svetim spisima Indije i Egipta.^{12,13}

Ime mu dolazi od starog engleskog huniga, i to je bio prvi i najrašireniji zaslađivač koji su koristili ljudi. Legenda kaže da je Cupid umočio svoje ljubavne strelice u med, prije nego što je usmjerio na bezazlene ljubavnike.

U Starom zavjetu, Izrael se često nazivao "zemljom mlijeka i meda". Medica, alkoholno piće od meda nazvano je "nektarom Bogova". Med je visoko cijenjen i često se koristio kao način plaćanja, poreza ili u trgovini. U 11. stoljeću, njemački seljaci plaćali su svoje feudalne gospodare u medu i pčelinjem vosku. Grci su koristili med ne samo kao važnu hranu, već i kao lijek za iscjeljenje. Grčke knjige recepata bile su pune slastica i kolača od meda.^{12,13}



Slika 9. Bogati Egipćani stavljali bi med u hranu kako bi je zasladili¹⁴

2.3.2. Upotreba pčelinjeg voska danas

Razvijeni svijet sve se više susreće sa zdravstvenim poteškoćama. Najveći problemi na tom polju su kardiovaskularne bolesti, karcinomi te tegobe starije životne dobi. Ponekad je teško objektivno utvrditi uzroke i čimbenike koji dovode do navedenih stanja, ali većina znanstvenika smatra da loše životne navike poput nepravilne prehrane, nesigurnosti i napetosti u svakodnevnom životu, borba za životnim uspjehom i onečišćenje okoliša bitno doprinose nastanku zdravstvenih problema.¹⁵

Zahvaljujući molekularnoj biologiji i biokemiji danas je poznato što se događa u ljudskom organizmu. Razumljivo da se znanja stečena na molekularnom nivou primjenjuju u svakodnevnicima

putem kvalitetne ishrane i načina života. U novije vrijeme učestalo se govori o utjecaju slobodnih radikala i antioksidansa na zdravlje ljudi. Pri tome se često slobodni radikali označavaju kao „loši“, a antioksidansi kao „dobri“. Slobodnih radikala ima i prirodno u ljudskom tijelu. Primjerice, oni sudjeluju u metaboličkim procesima oksidacije masti, ugljikohidrata i bjelančevina stvarajući toplinu i energiju. Nadalje, leukociti stvaraju i potom u izvanstanični prostor oslobađaju slobodne radikale (superoksid i vodikov peroksid) koji uništavaju uzročnike zaraznih bolesti. Međutim, radikali nastaju i egzogeno kao posljedica ionizacijskog zračenja, ultraljubičastog svjetla i životnog okruženja. U tim slučajevima slobodni radikali nastali zbog takvih neprirodnih navika nadmašuju količinu radikala potrebnih za normalne fiziološke procese i postaju štetni slobodni radikali. Razumljivo da ti prekobrojni štetni radikali oštećuju stanične strukture ljudskog tijela što dovodi do oštećenja, mutacija ili pak razaranja DNK u stanicama ljudskog tijela. Izravna posljedica njihovog štetnog djelovanja može se prepoznati u ranijem starenju, većoj sklonosti prema bolestima srca i krvnih žila, karcinomu, reumatoidnom artritisu te čitavom nizu drugih bolesti. Međutim, na drugoj strani nalaze se antioksidansi koji sprječavaju, zaustavljaju i djelomično popravljaju oštećenja nastala djelovanjem radikala. Mehanizam djelovanja antioksidansa jest veoma složen i uključuje u sebi djelovanje antioksidansa u užem smislu riječi (vitamini A, C i E), koenzima ili kofaktora (cink, bakar, mangan, selen, magnezij, flavonoidi) te od enzima koji su konačne „ubojice“ štetnih radikala. Izvori antioksidansa su voće, povrće, maslinovo ulje, riža, riba, zeleni čaj i pčelinji proizvodi.¹⁶

Pčelinji vosak ima omekšavajuća i protuupalna svojstva i zbog toga se primjenjuje u medicini, farmaciji, kozmetici (za izradu sapuna, različitih krema za lice, kosu, nokte, groždanih masti, dezodoransa, maskara, ruževa) i industriji, gdje je on sastavni dio raznih krema, masti, pasta i ruževa za usne. Koža dobro usisava pčelinji vosak te dobiva gladak i nježan izgled. Pčelinji vosak koji se koristi u biljnim balzovima je učinkovit i iznimno koristan pripravak. Balzami su svojevrsna preteča moderne kozmetike anjihova izrada je laka i jednostavna. Balzami se proizvode destilacijom i maceracijom (odvajanje krutine od tekućine) ljekovitih biljaka koje su ubrane na ekološki ušćuvanim područjima. Budući da dolaze u polukrutom stanju, nanošenjem na kožu upijaju se brže od ulja. Praktični su i uvijek pri ruci jer su najčešće u vrlo malim ambalažama. Zbog svojih biljnih sastojaka balzami su djelotvorni za široki spektar stanja i bolesti poput upaljenih vena, popucalih kapilara, otvorenih rana (*Ulcus cluris*, *Decubitis*), opekotina, osipa kod dojenčadi, neurodermatitisa, te psorijaze. Medne maske u kombinaciji s voskom znatno su djelotvornije od industrijskih krema i masti. Kreme od pčelinjeg voska upotrebljavaju se za liječenje gnojnih i rana

koje teško zarastaju, upala kože (dermatitits) i slično. U prehrani se rabi kao premaz za slastice i kao aditiv. Korisno je žvakanje voštanih pokrova saća jer pogodno djeluje na liječenje sinusa, astme, upalu ždrijela i grla. Oznaka pčelinjeg voska kao dodatka prehrani nosi oznaku *E 901*. Velike količine voska troše se i u proizvodnji svijeća. Pčelarska industrija koristi velike količine pčelinjeg voska za proizvodnju satnih osnova koje pčelama omogućuju bržu izgradnju pčelinjih saća. Pčelinji vosak se koristi u stomatologiji (za izradu raznih kalupa i otisaka), slikarstvu, kozmetici za održavanje namještaja i u kirurgiji. Pčelinji vosak može poslužiti kao vodoizolacijski materijal, za glačanje parketa, podmazivanje skija, kožnih predmeta, teleskopskih uređaja, za spravljanje raznih ljepila, za premazivanje košarkaških lopti i tetiva za sportske strijele i u mnoge druge svrhe.¹

Za potrebe kozmetičke industrije traži se izbijeljeni pčelinji vosak. Bijeljenjem se izgubi dosta od originalnog mirisa kao i zlatno žuta boja. Ovaj proces se može obavljati na suncu, kemikalijama, adsorpcijom, zračenjem ili kombinacijom više metoda. U zapadnim zemljama i SAD-u najveći potrošač pčelinjeg voska je kozmetička industrija, koja ga koristi u proizvodnji hladnih krema, losiona, ruževa, raznih masti i dr. U SAD-u veoma je popularna guma za žvakanje od meda i voska, koja pospješuje lučenje sline i mehanički čisti zube.¹⁶

Pojednostavljeno, pčelinji proizvodi su riznica antioksidansa i predstavljaju istinsko bogatstvo za ljudsko zdravlje. Poglavitito se to misli na med koji već po svojem sastavu upućuje kod kojih bolesti se može koristiti. Danas je poznato da med (osim vode i ugljikohidrata) sadrži mnogo antioksidativnih sastavnica poput enzima, minerala, flavonoida i vitamina. Nedvojbeno je utvrđeno da med pomaže kod bolesti dišnog sustava, kod ginekoloških problema i jutarnjih mučnina. Zatim, med pomaže kod gastritisa, normalizira peristaltiku i uklanja opstipaciju crijeva, a također zaustavlja i proljev. Med kao prirodni zaslađivač visoke energetske vrijednosti preporučuje se sportašima zbog energije i stimulacije srca, umora, iscrpljenosti i anoreksije. Nesporno je utvrđeno da se pri uzimanju 200 grama meda dnevno povećava dinamometrijska snaga u sportaša za 20 %. Primjerice, med je neizostavan kod alpinista, atletičara, planinara, biciklista, plivača i skijaša. Koriste ga i pacijenti za liječenje i detoksikaciju jetre te u borbi protiv anemije. Dobar se pokazao i u liječenju upala mokraćnih putova, a novija saznanja nam govore da med djeluje protukancerogeno¹⁶

Unatrag nekoliko godina mnogi znanstvenici nazivaju propolis „proizvodom 21. stoljeća“. U njemu se nalazi mnogo flavonoida i drugih antioksidativnih sastojaka. Propolis djeluje protiv bakterija, virusa, protozoa i gljivica. Djeluje protuupalno i protuoksidativno, imunostimulatorno te

ubrzava osteogenetske procese. Smatra se da posjeduje regenerativni učinak na tkiva. Glavna prepreka većoj uporabi propolisa u bolnicama ogleda se u problemu standardizacije propolisa.

Treba naglasiti da se standardizacija propolisa i drugih pčelinjih proizvoda ne može samo zasnivati na njihovom kemijskom sastavu već i po njihovom učinku na ljudski ili životinjski organizam što uključuje detaljna istraživanja.¹⁷ Na nekoliko zadnjih konferencija o apiterapiji znakovito mjesto u širokoj paleti pčelinjih proizvoda zauzeo je *pčelinji otrov*. Smatra se da pčelinji otrov bitno pomaže kod bolesnika s multiplom sklerozom, za liječenje upale zglobova i mišićnih distrofija.¹⁷

Unatoč spoznaji da *pelud* nije primarno pčelinji proizvod već ga pčele samo skupljaju, njegova uloga u ljudskom organizmu je nebrojeno puta potvrđena. Primjerice, danas je poznato da pelud:

- poboljšava cirkulaciju krvi, jača koronarne arterije i mišićno tkivo srca
- ima pozitivni učinak na rast i razvoj,
- povećava broj leukocita, eritrocita,
- biostimulativna i regenerativna svojstva (jetre),
- ima protubakterijski učinak kod želučano-crijevnih oboljenja i infekcija mokraćnih puteva (*Esheria coli*, *Salmonella*),
- djeluje na lipidni metabolizam (smanjenje triglicerida),
- usporava starenje,
- pomaže u liječenju bolesti prostate
- djelotvoran kod iscrpljenosti,
- učinkovit je u kozmetici

Pčelinji proizvod koji također zaslužuje pozornost je i *matična mliječ*. Njezina je uloga u zaštiti ljudskog organizma veoma važna. Utvrđeno je da matična mliječ ima sljedeće učinke:

- biostimulativni učinak
- pojačava oksidativnu fosforilaciju, ubrzava razmjenu tvari,
- povećanje energije i izdržljivosti,
- povećava otpornost na stres i bolesti,
- pomaže u regeneraciji stanica i tkiva,
- smanjuje razinu kolesterola,
- pozitivni učinak na krvožilni sustav, stabilizira krvni tlak,
- poboljšava memoriju (acetil kolin neurotransmitter),
- stimulira imunološki sustav, potiče apetit¹⁷

2.4. METODE KARAKTERIZACIJE

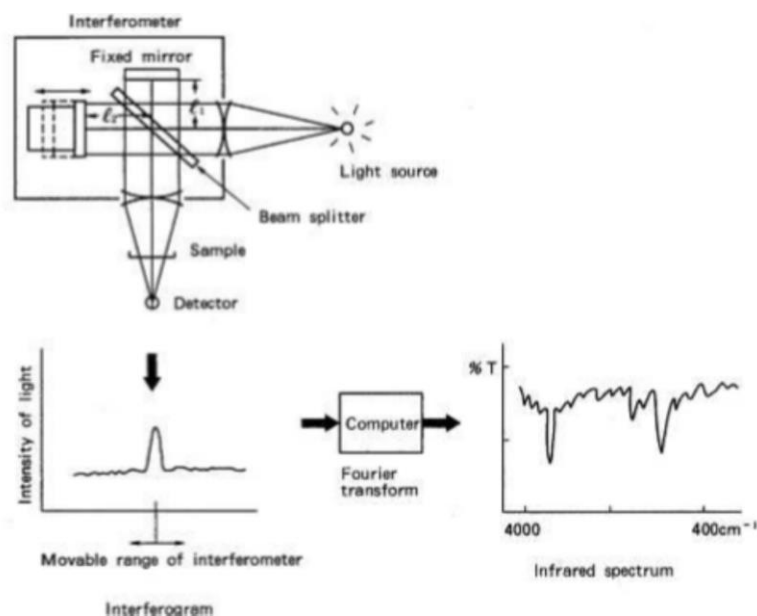
2.4.1. FTIR - ATR spektroskopija

Infracrvena spektroskopija je jedna od najstarijih i najraširenijih tehnika u istraživanjima koja se odnose na karakterizaciju površine i adheziju. Infracrvena spektroskopija je osjetljiva na funkcionalneskupine, dok su druge tehnike karakterizacije površine većinom osjetljive na kemijske elemente.¹⁸

FTIR spektrometar ima izvor zračenja koji emitira infracrveno zračenje koje je fokusirano na interferometar čije glavne komponente su razlagač zraka koji cijepa zrake, fiksirano zrcalo, pokretno zrcalo i detektor (slika 10). FTIR spektrometar prikladan je za snimanje u širokom spektralnom području, za optimalno mjerenje u dalekom, srednjem ili bliskom IR području mora se odabrati određena kombinacija elemenata. Efikasnost razlagača zraka ovisi o produktu stupnjeva njegove reflektivnosti i transmitivnosti, za čiji teorijski optimum u odsutnosti apsorpcijskih gubitaka, nalazimo 0,5 za boje veličine.¹⁹

Fourier-transformacijska infracrvena spektroskopija ima bitne prednosti nasuprot konvencionalnoj spektroskopiji. U slučaju FTIR spektrometra sve frekvencije koje iz IR izvora padaju istovremeno na detektor, što znači da za vrijeme mjerenja neprekidno cijelo spektralno područje pridonosi signalu. Time se šum detektora raspoređuje na sve dijelove spektra, što rezultira znatnim poboljšanjem omjera signal/šum. To je multipleksna ili Fellgettova prednost tehnike FTIR. Sljedeću prednost predstavlja činjenica da aparature u obliku križa, što se primjenjuje u FTIR spektrometrima, zbog svoje povećane površine propuštaju najmanje šest puta više zračenja nego linearna pukotina u disperzijskim uređajima (Jacquintova ili prednost prolaza). Točnost valnog broja u FTIR spektru izravno je povezana s određivanjem položaja pokretnog zrcala u interferometru. Uz pomoć He-Ne lasera položaj zrcala može se odrediti točnije od 0,005 μg .

Metoda FTIR proširuje klasična područja primjene posebno tamo gdje je potrebno, pri nepovoljnim energijskim uvjetima kao i u slučaju niskih koncentracija.¹⁹



Slika 10. Princip rada FTIR spektrometra¹⁹

Prigušena totalna refleksija (ATR), poznata kao interna refleksijska spektroskopija (IRS) višestruko je primjenjiva tehnika mjerenja bez razaranja koja daje IR spekatar gornje površine tvari (najčešće se koristi kao FTIR alat). Osim toga, pomoću ATR-a mogu se spektroskopirati uzorci koji su ili predebili ili prejako apsorbiraju u standardnom postupku propuštanja zračenja. Da bi se postigla totalna refleksija, upadni kut zračenja koji pada na graničnu površinu mora biti veći od kritičnog kuta totalne refleksije. Taj je kut definiran kao :

$$\theta_c = \sin^{-1} \left(\frac{n_2}{n_1} \right)$$

gdje je n_2 indeks refrakcije uzorka, n_1 je indeks refrakcije kristala i θ_c je kritični kut. Činjenica da intenzitet zračenja u optički rjeđem mediju eksponencijalno opada s udaljenosti od površine internog refleksijskog elementa, čini ATR jednom od izuzetno djelotvornih metoda. Budući da efektivna dubina prodora iznosi samo nekoliko valnih duljina, ATR spekatar je obično neovisan o debljini uzorka, pa se jednostavno i brzo mogu spektroskopirati deblji i izrazito apsorbirajući uzorci.¹⁹

Iako su ATR i transmisijski spektri istoga uzorka vrlo slični, postoje razlike zbog ovisnosti dubine prodora o valnoj duljini. Zračenje veće valne duljine prodire dublje u uzorak, tako da su u ATR spektru vrpce pri većim valnim duljinama intenzivnije od onih pri manjim valnim duljinama. Osim toga, dubina prodora ovisi o upadnom kutu zračenja. Uglavnom se koristi kut od 45 ° za

istraživanje organskih tvari, dok kut od 60° zbog smanjenje dubine prodora daje spektre slabijeg intenziteta.¹⁹

Za dobar ATR spektar odlučan je najbolji mogući kontakt između uzorka i internog refleksijskog elementa. To se može reproducibilno ostvariti posebnom prešom u uređaju MVP™, vodoravnim dodatkom za ATR. Tako se mogu dobiti kvalitetni spektri najrazličitijih uzoraka kao što su prašci, ljepila, prevlake, gume, vlakna, tekstil, papir ili pak viskozne tekućine.¹⁹

Dubina prodora je reda veličine oko mikrometra. ATR je kao i druge vrste infracrvene spektroskopije vrlo osjetljiva metoda za identifikaciju funkcionalnih skupina i stoga je korisna tehnika za karakterizaciju površine polimera.¹⁸

2.4.2. Kontaktni kut

Do vlaženja dolazi kada u kontakt dolaze tekuća i čvrsta faza. Vrstu vlaženja definiraju ponašanje tekućine na površini te fizikalno-kemijska svojstva čvrste tvari. Tekućina vlaži čvrsto tijelo samo ako se pri tome smanjuje napetost površine kako tekućine, tako i čvrstog tijela. Napetost površine predstavlja direktnu mjeru međumolekulnih sila. Za kapljevine, napetost površine jednaka je energiji površine dok za krutine ovisi o smjeru na površini i o kristalnoj strukturi površine. Što se površinska napetost više smanjuje, tijelo se bolje vlaži tom tekućinom. Iste čvrste tvar različito se vlaže različitim tekućinama. Jedino živa, kod koje je površinska napetost vrlo velika ne vlaži gotovo niti jednu čvrstu površinu, ne razlijeva se, već se razbija u kapljice. Postoje dvije vrste tvari, hidrofobne i hidrofilne.

Hidrofobne tvari

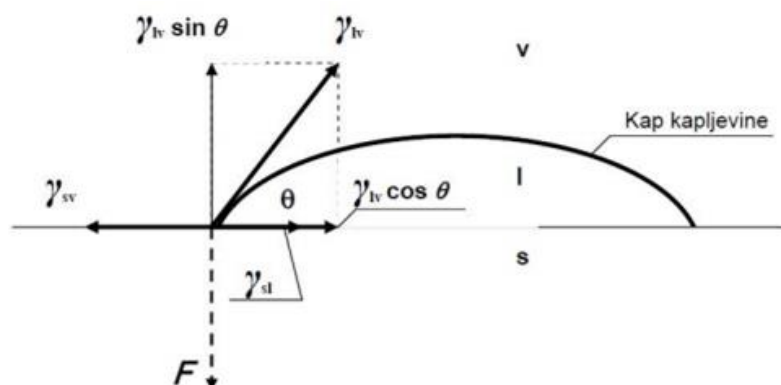
Tvari koje se u uvjetima selektivnog vlaženja bolje vlaže nepolarnom tekućinom nego vodom kao polarnom tekućinom (npr. ulja, masti, kemijski čisti metali), nazivaju se hidrofobnim tvarima. No unatoč tome oni na zraku ipak oksidiraju te time postaju hidrofilni. Hidrofobna tvar je ujedno i oleofilna, tj. privlači nepolarne tvari i što joj je kosinus kontaktnog kuta bliži vrijednosti -1, tvar je hidrofobnija.

Hidrofilne tvari

Tvari koje se u uvjetima selektivnog vlaženja bolje vlaže s polarnom tekućinom, npr. vodom, nazivaju se hidrofilnim tvarima. Tvari koje sadrže hidroksilnu -OH, amino -NH₂ skupinu

i metali s oksidnom prevlakom posebno izazivaju hidrofилnost zbog polarnog karaktera i ionske građe. Hidrofilna tvar je ujedno i oleofobna i ne privlači nepolarne tvari, a tvar će biti hidrofilnija što joj je kosinus kontaktnog kuta bliži vrijednosti 1.

Napetost površine ili slobodna površinska energija može se pripisati međupovršinama krutina/tekućina, krutina/zrak ili tekućina/zrak (eng. *solid liquid* γ_{sl} , *solid-vapour* γ_{sv} , *liquid-vapour* γ_{lv}). Povučemo li se tangentu s rubom kapi iz točke gdje se sastaju sve tri faze tada će s površinom krutine tangenta zatvarati kut koji se naziva kontaktni kut, θ što je prikazano na slici 11. Kontaktni kut je kvantitativna mjera kvašenja krutine kapljevino. Kap tekućine koja se ispusti na krutu površinu širit će se po površini sve dok ne poprimi ravnotežni oblik uz definirani kut, θ . Suma energija na graničnim površinama krutina/tekućina (γ_{sl}), krutina/zrak (γ_{sv}) i tekućina/zrak (γ_{lv}) će u stanju ravnoteže biti jednaka 0. Sa suprotnom i jednakom adhezijskom silom F uzrokovanom površinskom energijom krutine uravnotežena je normalna komponenta $\gamma_{lv} \sin\theta$ kako je prikazano na slici 11.



Slika 11. Kut vlaženja i sile površinskih napetosti između faza: zrak (v), tekućina (l) i krutina (s)²⁰

Ako je kut vlaženja θ veći od 90° smatra se da tekućina loše vlaži ili ne vlaži krutinu, to ukazuje na hidrofobnost površine. No ukoliko je kut vlaženja manji od 90° , tekućina dobro vlaži krutinu što ukazuje na hidrofilnost površine. Prema Young-ovoj jednadžbi s ciljem osiguranja ravnoteže mora postojati horizontalna ravnotežna sila s određenim kontaktnim kutom θ na međupovršini kruto-kapljevina. Prema 9. može se zaključiti da su sile površinske napetosti u ravnoteži kada je:

$$\gamma_{sv} = \gamma_{sl} + \gamma_{lv} \cos \theta \quad (1)$$

kako opisuje Youngova jednadžba (1), gdje je γ_{sv} - slobodna međupovršinska energija krutina-plin, γ_{sl} - slobodna međupovršinska energija krutina-tekućina, γ_{lv} - slobodna međupovršinska energija

tekućina–para. Iz Youngove jednadžbe proizlazi $\cos\theta$.

Vrijednosti kontaktnih kutova mjerene su s tri ispitne kapljevine (voda, formamid i dijodometan) i uvrštavane su u gotove modele za izračun slobodne površinske energije materijala (Owens – Wendt model i Wu-ov model). Podaci o slobodnoj površinskoj energiji daju bitne informacije o površinskim svojstvima materijala te omogućuju praćenje promjena svojstava materijala tijekom starenja.

Owens – Wendtov model

Empirijski model koji se zasniva na pretpostavci da je suma doprinosa disperzijske γ_i^d i polarne komponente γ_i^p slobodnih energija danih površina (i), odnosno (j), jednaka slobodnoj površinskoj energiji faze.¹⁸

$$\gamma_i = \gamma_i^d + \gamma_i^p \quad (2)$$

Prema Owens – Wendtovom modelu slobodna međupovršinska energija uključuje i pretpostavku gdje je slobodna međupovršinska energija jednaka geometrijskoj sredini slobodnih površinskih energija dviju faza (i, j) u kontaktu:

$$\gamma_{ij} = \gamma_i + \gamma_j - 2(\gamma_i^d \gamma_j^d)^{1/2} - 2(\gamma_i^p \gamma_j^p)^{1/2} \quad (3)$$

Uvrštavanjem navedenih uvjeta u Youngovu jednadžbu (1) slijedi:

$$\gamma_{lv}(1 + \cos\theta) = (\gamma_i^d \gamma_s^d)^{1/2} + (\gamma_i^p \gamma_s^p)^{1/2} \quad (4)$$

Sustav dviju jednadžbi definira se mjerenjem kontaktnog kuta dviju tekućina poznatih vrijednosti slobodne površinske energije i njihovim uvrštavanjem u jednadžbe dobiva se rješenje koje određuje vrijednosti disperzijske i polarne komponente za ispitivanu krutinu.

Wu-ov model

Wu-ov model pretpostavlja da je harmonijska sredina slobodnih površinskih energija dviju faza (i, j) u kontaktu jednaka slobodnoj međupovršinskoj energiji kruto–tekuće²⁰:

$$\gamma_{ij} = \gamma_i + \gamma_j - \frac{4\gamma_i^d \gamma_j^d}{\gamma_i^d + \gamma_j^d} - \frac{4\gamma_i^p \gamma_j^p}{\gamma_i^p + \gamma_j^p} \quad (5)$$

Uvrštavanjem navedenih uvjeta u Youngovu jednadžbu (1) slijedi jednadžba koja uključuje i kontaktni kut²⁰:

$$\gamma_l(1 + \cos \theta) = \frac{4\gamma_s^d \gamma_l^d}{\gamma_s^d + \gamma_l^d} + \frac{4\gamma_s^p \gamma_l^p}{\gamma_s^p + \gamma_l^p} \quad (6)$$

2.4.3. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)

Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC) je tehnika pri kojoj se mjeri razlika toplinskog toka između uzorka i referentnog materijala tijekom izlaganja materijala kontroliranom temperaturnom programu i atmosferi. Analizom je moguće je pratiti transformacije u čvrstom stanju, fazne promjene i odrediti termodinamičke parametre tijekom kontroliranog zagrijavanja/hlađenja materijala. Nadalje, metoda se također može koristiti za praćenje termičke i oksidativne stabilnosti materijala, fazne ravnoteže, kinetiku reakcija te kompatibilnost polimernih mješavina. DSC tehnika pogodna je za sve tipove materijala: polimernih, metalnih, keramičkih materijala, kompozita, itd.

Parametri koji se mogu odrediti DSC analizom su temperatura staklastog prijelaza polimera, temperatura kristalizacije, temperatura taljenja, postotak kristalnosti polimera, specifični toplinski kapacitet, entalpije transformacija i dr.

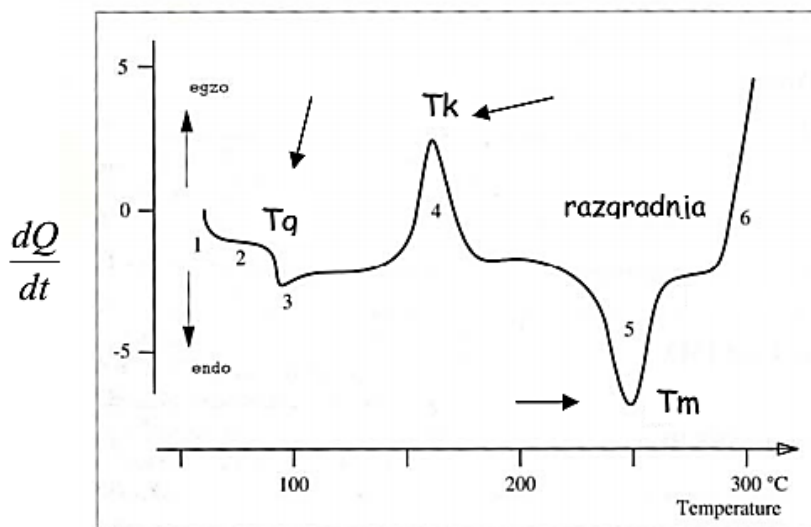
Prednost DSC metode pred ostalim tehnikama toplinske analize je u vrlo maloj količini uzorka potrebnog za analizu, ~ 5 – 25 mg (za metale ~ 150 mg), jednostavnoj pripremi materijala i brzom izvedbi samog mjerenja. Što je veća masa uzorka to je intenzivnost prijelaza veća, a većom brzinom zagrijavanja dolazi do pomicanja temperatura maksimuma/minimuma krivulje prema nižoj temperaturi.

DSC s toplinskim tokom radi na principu dovođenja topline putem vodljivog diska referentnom materijalu i uzorku istovremeno, pri čemu se prati promjena toplinskog toka nastala uslijed promjena temperatura između referentnog materijala i uzorka tijekom mjerenja. Kod kompenzacijskog DSC uređaja mjeri se snaga grijača potrebna da bi se temperatura i uzorka i referentnog materijala održala istom. Kao referentni materijal pri DSC analizi koristi se materijal koji tijekom cijelog temperaturnog područja mjerenja ne prolazi kroz nikakve fazne promjene. Kao

referentni materijal najčešće se koristi korund, Al_2O_3 .

Staklište (T_g) polimernog materijala određuje se kao prvi prijelaz bazne linije. Egzotermni pik koji nastaje daljnjim zagrijavanjem materijala vezan je uz kristalizaciju polimera.

Temperatura kristalizacije (T_k) očitava se iz maksimuma pika, slika 12. *Temperatura taljenja* (T_m) određuje se iz maksimalne intenzivnosti endoternog pika, dok se *entalpija taljenja* (ΔH_m) određuje integriranjem površine endoternog pika.

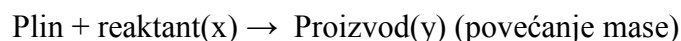
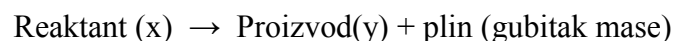


Slika 12. Primjer DSC termograma¹⁷

Promjeni ukupnog toplinskog toka DSC krivulje doprinosi promjena topline uslijed promjene specifičnog toplinskog kapaciteta materijala tijekom zagrijavanja te toplina transformacije.

2.4.4. Termogravimetrijska analiza (TGA)

Termogravimetrijskom analizom mjeri se promjena mase uzorka sa kontroliranom promjenom temperature u kontroliranom okruženju. Uzorci pogodni za TGA su čvrste supstance koje podliježu jednom od dva navedena tipa reakcija:



Procesi u kojima ne dolazi do promjene mase (npr. topljenje uzorka) ne mogu se proučavati

primjenom termogravimetrijske analize. Uzorak je na nosaču unutar peći, a nosač je zakvačen za vagu koja je izolirana od peći. Temperatura peći precizno se kontrolira i programirano mijenja. Vrsta plina, pritisak i brzina protoka plina može utjecati na tok analize. Prisustvo O₂ ili N₂ može spriječiti oksidaciju uzorka. Različiti plinovi različito provode toplinu, imaju različitu gustoću i protočnost pa mogu utjecati na tok eksperimenta. Uvijek se mora navesti vrsta plina, pritisak i brzina protoka plina koji je korišten tijekom eksperimenta. Velika količina uzorka otežava transfer topline i izmjenu plinova sa okolinom. Preporučuje se što manja količina uzorka (~ 20 mg) ukoliko to dozvoljava osjetljivost vage. Uzorak je potrebno usitniti i rasporediti u tankom, ujednačenom sloju.

Materijal od kojeg se izrađuje nosač za uzorak i uzorak ne smiju stupiti u reakciju i on je najčešće izrađen od stakla, kvarca, aluminijske, platine, grafita. Vaga mora ostati precizna i točna tijekom ekstremnih promjena temperature i okoline uzorka. Ukoliko pratimo promjenu (gubitak) mase uzorka pri konstantnoj temperaturi u ovisnosti o vremenu govorimo o izotermnoj termogravimetriji, dok se promjena mase uzorka u funkciji temperature prati neizotermnom (dinamičkom) termogravimetrijom. Ova metoda se može koristiti i za identifikaciju razgradnih produkata ukoliko se termogravimetrijski instrument poveže s masenim, plinskim ili infracrvenim spektrofotometrom. Toplinska stabilnost polimera i polimernih materijala najčešće se definira kao temperatura početka razgradnje uzorka pri nekoj programiranoj brzini zagrijavanja, ali kao karakteristične vrijednosti mogu se uzeti i temperature npr. 5% - tnog ili 10% - tnog gubitka mase. Na termogramu se može pratiti promjena mase pri zagrijavanju materijala, izraženu u % ili u mg, što predstavlja termogravimetrijsku krivulju, TG. Deriviranjem termogravimetrijske krivulje može se pratiti brzina promjene mase pri zagrijavanju materijala, što omogućuje lakše određivanje i interpretaciju rezultata TG analize.²³

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

U radu je provedena analiza četiri uzorka pčelinjeg voska, dva uzorka **A)** nerafiniranog i dva uzorka **B)** rafiniranog pčelinjeg voska.

A) Uzorci pčelinjeg voska domaće proizvodnje (nerafinirani)

- 1) Pčelinji vosak domaće proizvodnje, oznaka: **BW - žuti D**
- 2) Pčelinji vosak domaće proizvodnje, oznaka: **BW - smeđi D**

B) Uzorci pčelinjeg voska komercijalne proizvodnje (rafinirani)

- 3) Pčelinji žuti vosak komercijalne proizvodnje (*Cera Flava*), oznaka: **BW - žuti R**
- 4) Pčelinji bijeli vosak komercijalne proizvodnje (*Cera Alba*) oznaka: **BW - bijeli R**

A) Pčelinji vosak domaće proizvodnje (nerafinirani)

Ploča pčelinjeg voska dobivena je od domaćeg (hrvatskog) pčelara. Prilikom topljenja pčelinjeg voska dobivena je ploča koja se sastoji od dva dijela – čistog voska, žute boje i voska u kojem su preostale otopljene „nečistoće“ (propolis, pelud), smeđe boje koji se istaložio na dnu voštane ploče, slika 13. Kako bi se utvrdilo da li dodatci u vosku utječu na strukturu, površinske karakteristike i toplinska svojstva u radu su uzete u razmatranje obje vrste voska.



1) Pčelinji vosak domaće proizvodnje, oznaka:
BW - žuti D

2) Pčelinji vosak domaće proizvodnje, oznaka:
BW - smeđi D

Slika 13. Slojevi ploče domaćeg nerafiniranog pčelinjeg voska

B) Pčelinji vosak komercijalne proizvodnje (rafinirani)3) Pčelinji žuti vosak komercijalne proizvodnje (*Cera Flava*), oznaka: **BW - žuti R**

Vrlo popularna kozmetička prirodna komponenta sa širokim spektrom primjene, slika 14. Odličan u izradi sapuna kojima daje čvrstoću i veže mirise, dobar koemulgator i blagi konzervans. Neizostavna komponenta kod izrade tradicionalnih masti i melema. Tali se na oko 65°C.

- INCI: Cera flava
- CAS: 8012-89-3
- EC: 232-383-7

**BW - žuti R**

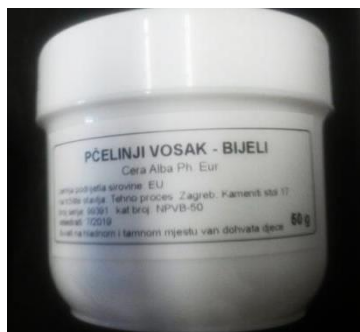
- Pčelinji vosak, žuti 50 g
- Zemlja podrijetla EU, dobavljač Kemig, Republika Hrvatska
- pčelinji prirodni žuti vosak (*Cera Flava*)
- djelomično pročišćeni, mehanički rafiniran, nije kemijski tretiran
- sadrži otopljene tvari iz drugih proizvoda pčela i ima miris koji podsjeća na med

Slika 14. Pčelinji žuti vosak komercijalne proizvodnje (*Cera Flava*)

4) Pčelinji bijeli vosak komercijalne proizvodnje (*Cera Alba*) oznaka: **BW - bijeli R**

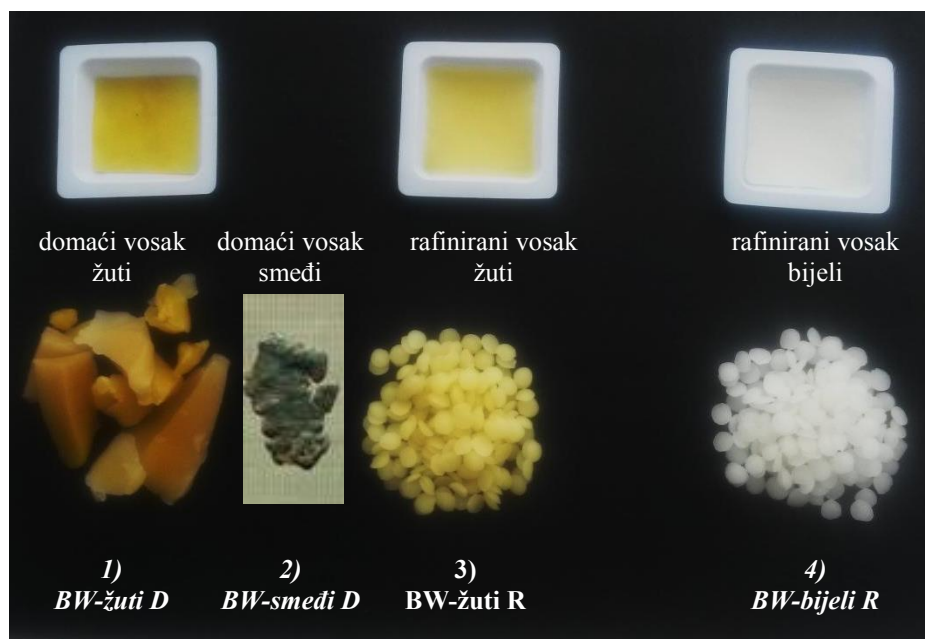
Bijeli vosak nema mirisa i koristi se kada postoji opasnost od alergijske reakcije ili kada se želi izbjeći miris voska u kozmetici. Ima široku primjenu: balzami za usnice, kožu i tijelo, stabilizator emulzija (koemulgator), sapuni, izrada svijeća, slika 15. Vrlo popularna kozmetička prirodna komponenta sa širokim spektrom primjene. Dobiven izbjeljivanjem žutog voska. Tali se na oko 65°C.

- INCI: Cera alba
- CAS: 8012-89-3
- EC: 232-383-7

**BW - bijeli R**

- Pčelinji vosak, bijeli 50 g
- Zemlja podrijetla EU, dobavljač Kemig, Republika Hrvatska
- pčelinji prirodni bijeli vosak (*Cera Alba*)
- bijeli (pročišćeni) vosak dobiva se iz žutog voska kemijskim pročišćavanjem preko tvari koje vežu mirise i boje

Slika 15. Pčelinji bijeli vosak komercijalne proizvodnje (*Cera Alba*)



Slika 16. Uzorci pčelinjeg voska korišteni u radu

Žuti rafinirani pčelinji vosak (*Cera Flava*) dobiva se topljenjem saća. Gotovo je istih fizikalnih i kemijskih svojstava kao i bijeli pčelinji vosak.

Bijeli vosak (*Cera Alba*) se dobiva izbjeljivanjem žutog voska na suncu te pomoću kalij permanganata i aktivnog ugljena.²¹

3.2. PRIPRAVA PLOČICA VOSKA

Pločice za ispitivanja pripremljene su prešanjem na hidrauličkoj preši Fontune prikazanoj na slici 17. Pločice su prešane u kalupu dimenzija 10 x 10 cm, pri tlaku od 2,5 MPa i temperaturi zagrijavanja od 55°C za domaći pčelinji vosak, 60°C za rafinirani žuti pčelinji vosak i 65°C za rafinirani bijeli pčelinji vosak. Pločice su ohlađene na 25 °C, izvađene iz kalupa i korištene za daljnja ispitivanja.



Slika 17. Hidraulička preša

3.3. TEHNIKE KARAKTERIZACIJE

3.3.1. FTIR-ATR spektroskopija

FTIR (Fourier Transform Infrared) spektroskopija je analitička tehnika koja omogućava analizu različitih materijala kao što su čiste tvari, različite mješavine, farmaceutici, biološki agensi i sl., u čvrstom, kapljevitom ili plinovitom stanju. FTIR metoda kemijske analize mjeri apsorpciju infracrvene svjetlosti s molekulskim vibracijama u materijalu kod različitih frekvencija infracrvenog zračenja, koja je izražena valnim brojem, cm^{-1} . Na slici 18. prikazan je FTIR spektrometar, *Perkin Elmer Spectrum One Spectrometer*, pomoću kojeg su snimljeni spektri na pločicama pčelinjih voskova u području valnih duljina od 450 do 4000 cm^{-1} . Spektri su snimljeni pri rezoluciji od 4 cm^{-1} akumulirajući rezultat 4 skena.



Slika 18. FTIR spektrometar, *Perkin Elmer Spectrum One Spectrometer* s ATR sustavom

3.3.2. Mjerenje kontaktnog kuta

Površinske karakteristike domaćeg, nerafiniranog i komercijalnog, rafiniranog pčelinjeg voska određene su mjerenjem kontaktnog kuta na uređaju *DataPhysics OCA 20 Instruments GmbH*, slika 19. Mjerenja kontaktnog kuta provedena su na pločicama pčelinjeg voska s različitim testnim tekućinama poznatih vrijednosti slobodne površinske energije: voda (redestilirana voda, $\kappa = 1.33$ $\mu\text{S}/\text{cm}$), dijodometan (p.a. 99 %, Aldrich), formamid (p.a. 99.5 %, Fluka). Mjerenja su provedena pri temperaturi 23 °C s kapljicom volumena 2 μl . Provedeno je 5 mjerenja na različitim mjestima istog uzorka te su izračunate srednje vrijednosti kontaktnog kuta. Standardno odstupanje podataka iznosilo je $\pm 2^\circ$. Vrijednosti slobodne površinske energije proračunate su primjenom modela geometrijske sredine (Owens Wendt) i modela harmonijske sredine (Wu).²⁰



Slika 19. *DataPhysics OCA 20 Instruments* uređaj za mjerenje kontaktnog kuta (goniometar)

3.3.3. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)

Analiza toplinskih svojstava pčelinjih voskova provedena je primjenom diferencijalne pretražne kalorimetrije (DSC) na uređaju *Mettler Toledo DSC 823e*, slika 20.

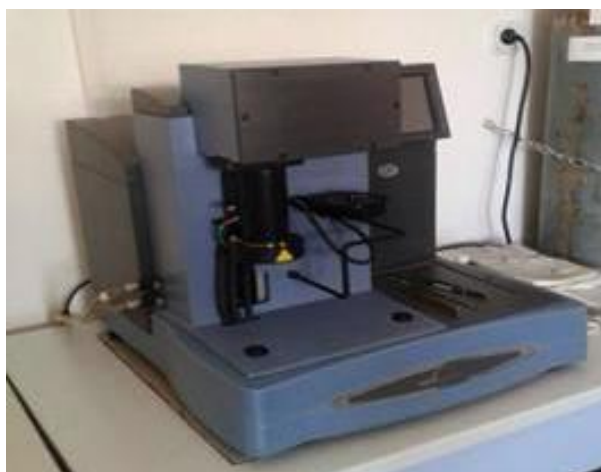
Ispitivanja su provedena u inertnoj struji N₂ (60cm³/min) uz hlađenje hladnjakom (Intracooler) u dva ciklusa zagrijavanja – hlađenje u temperaturnom području -90°C do 100°C pri brzini 10°C/min, na uzorcima mase oko 10 mg. Prvi ciklus je proveden kako bi se zaboravila povijest pripreve uzorka.



Slika 20. DSC uređaj *Mettler Toledo DSC 823e*

3.3.4. Termogravimetrijska analiza (TGA)

Toplinska postojanost pčelinjih voskova ispitana je primjenom termogravimetrijske analize na instrumentu *TA Instruments Q500*, slika 21. Mjerenja su provedena u temperaturnom području od 25 do 600 °C u inertnoj struji dušika uz protok od 60 cm³/min pri brzini zagrijavanja 10°C/min. Masa uzorka iznosila je ~10-12 mg.



Slika 21. TGA uređaj *TA Instruments Q500*

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Rezultati FTIR-ATR spektroskopije

Kako bi se utvrdilo da li postoje razlike u strukturi ispitivanih pčelinjih voskova provedena je analiza FTIR-ATR spektroskopijom.

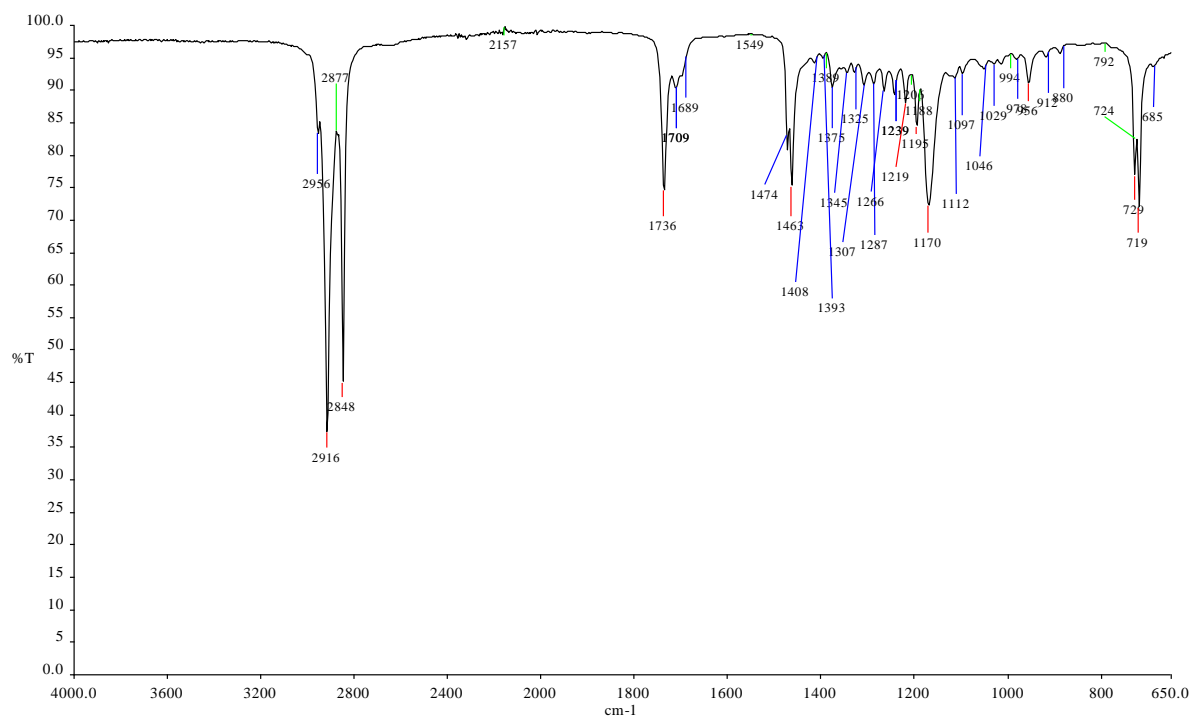
FTIR - ATR spektri različitih pčelinjih voskova *BW - žuti D*, *BW - smeđi D*, *BW - žuti R* i *BW - bijeli R* prikazani su na slikama 22.– 27. U tablici 6 prikazani su rezultati FTIR analize pčelinjih voskova s osnovnim frekvencijama i asignacijama prema literaturnim podatcima.²¹

Na spektrima ispitivanih pčelinjih voskova vidljive su karakteristične apsorpcijske vrpce dugačkih alifatskih lanaca u području 2916 cm^{-1} , 2848 cm^{-1} , 1463 cm^{-1} i 715 cm^{-1} .²¹⁻²³

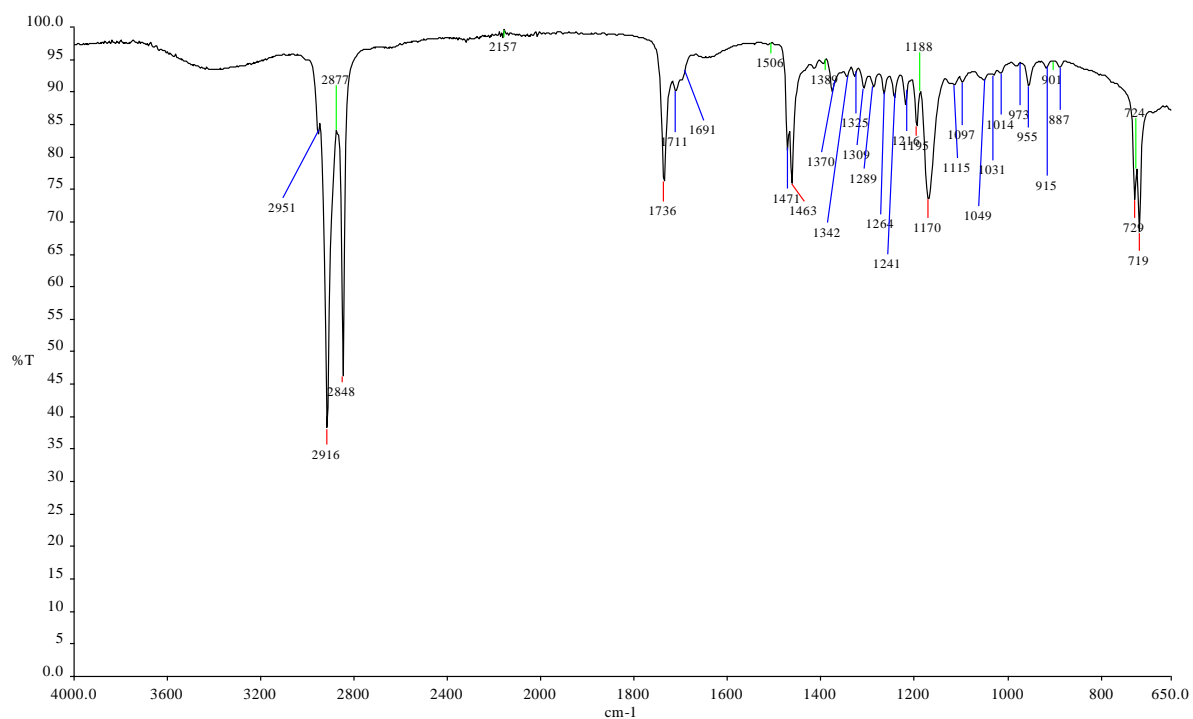
Tablica 6. FTIR analiza pčelinjih voskova osnovne frekvencije i asignacija

Valni broj / cm^{-1}				Valni brojevi / cm^{-1} 21	Asignacija	Vibracijske skupine ²¹	Intenzivnost
<i>BW- žuti D</i>	<i>BW-smeđi D</i>	<i>BW- žuti R</i>	<i>BW- bijeli R</i>				
-	3400	-	-	3400		OH- istežanje hidroksilnih skupina	w-m
2916	2916	2916	2916	2910	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$	alifatski ugljikovodici	m-s
2848	2848	2848	2848	2846	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)_3$	alifatski ugljikovodici	m
1736	1736	1736	1736	1733	$\nu(\text{C}=\text{O})$	esteri aromatskih karboksilnih kiselina	vs
	1675			1691	$\nu(\text{C}=\text{O})$	aromatski -COOH	vs
1463	1463	1463	1463	1463	$\delta(\text{CH}_2)$	alifatski ugljikovodici	m
1375	1370	1375	1375	1371	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	alifatski ugljikovodici	m-s
1266	1264	1266	1264	1260	$\nu(\text{prsten})$	eteri alifatski (epoksidi)	m-s
1170	1170	1170	1170	1162	$\nu(\text{prsten})$	heterocikli i njihovi aromati	m-s
719	719	719	719	719	$\rho(\text{CH}_2)$	$(\text{CH}_2)_n$ n>3	w-m

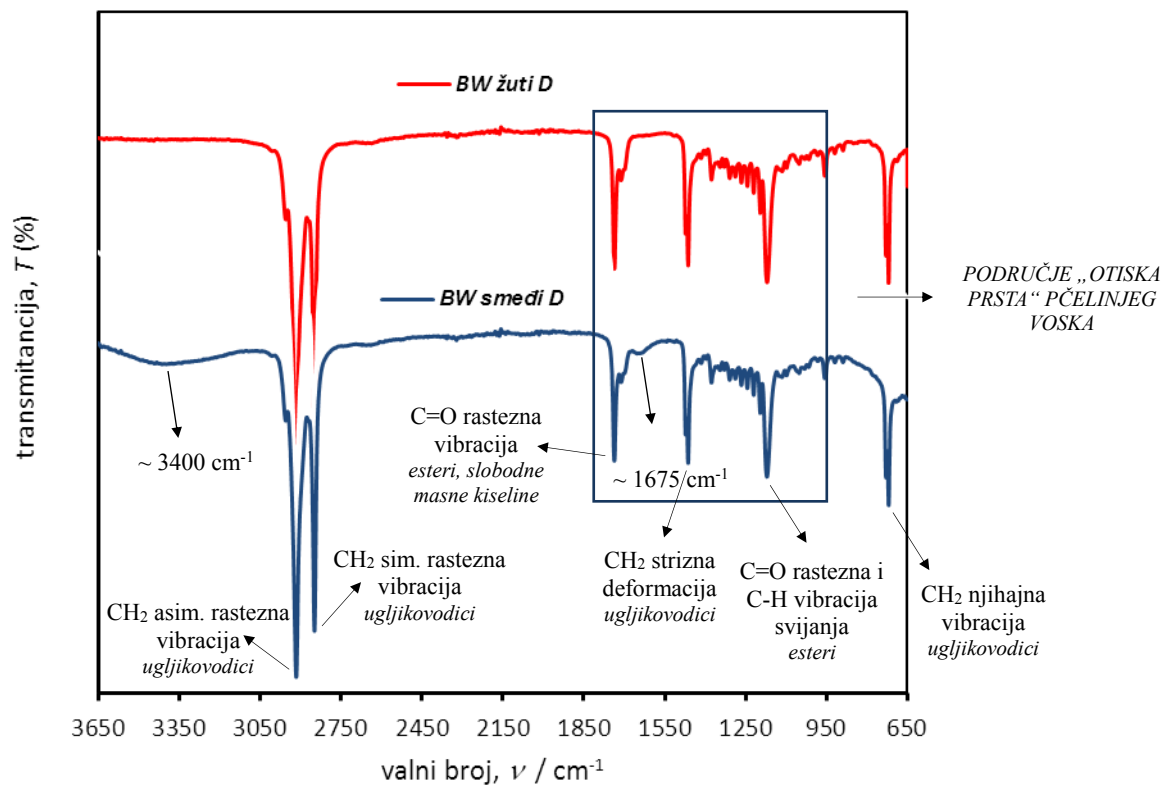
U spektru pčelinjeg voska *BW-smeđi D* slika 23. i 24. vidljiva je vrpca kod $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$ koja se pripisuje istežanju –OH hidroksilnih skupina što ukazuje na prisutnost vode u strukturi voska. Dodatno vrpca kod 1675 cm^{-1} ukazuje na prisutnost karboksilne skupine C=O aromatskog –COOH.²¹⁻²³ Ove razlike u spektru ovog uzorka voska posljedica su prisutnih nečistoća koje potječu od propolisa, peludi i sl.



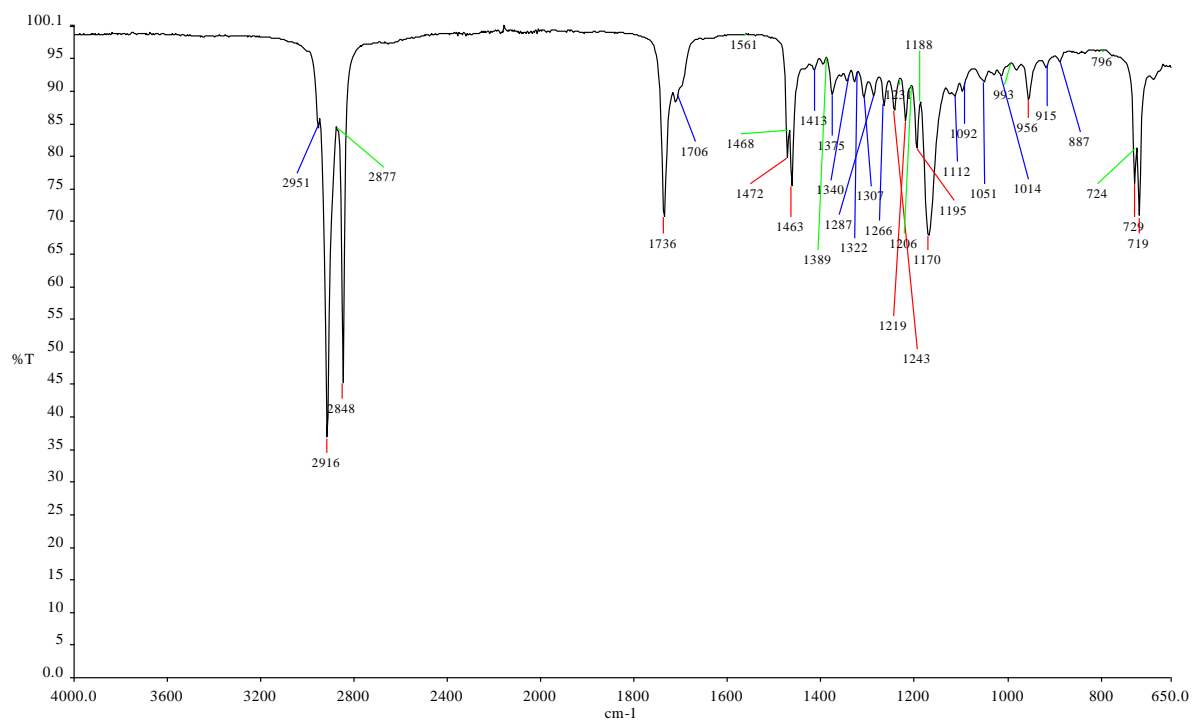
Slika 22. FTIR-ATR spektar nerafiniranog domaćeg pčelinjeg voska *BW - žuti D*



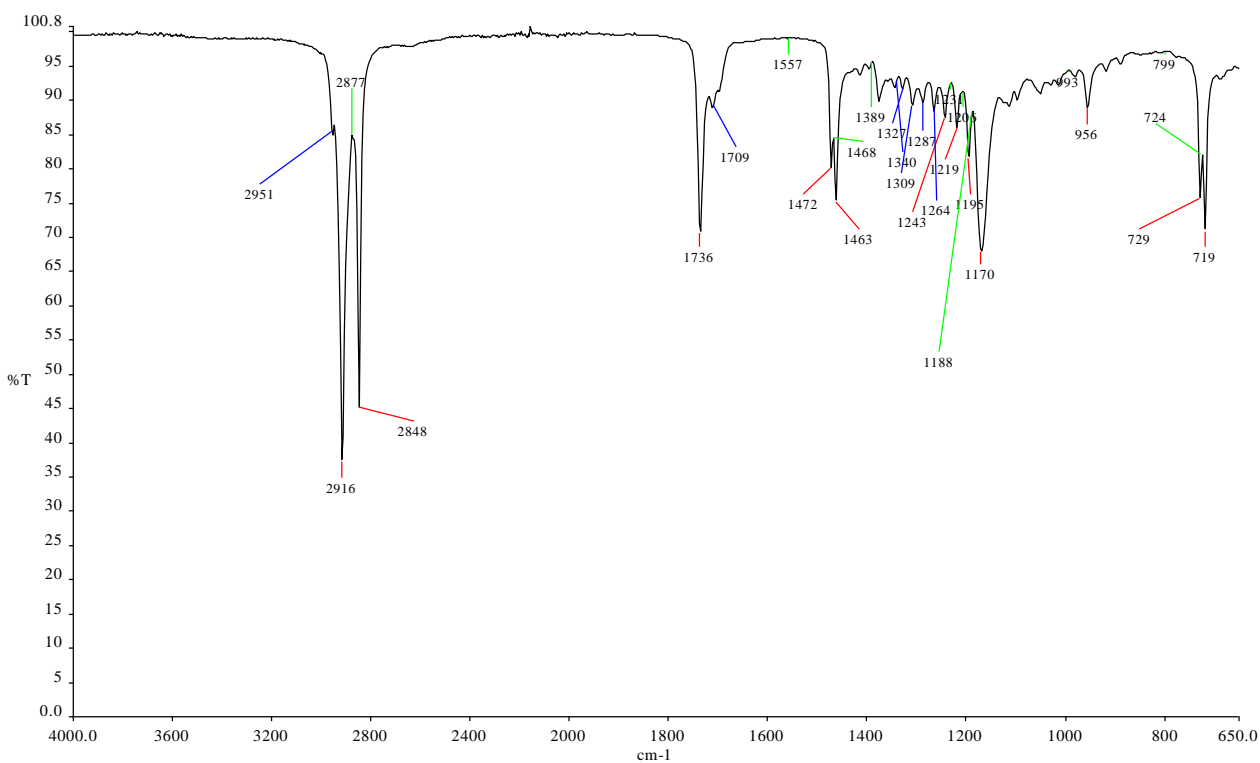
Slika 23. FTIR-ATR spektar nerafiniranog domaćeg pčelinjeg voska *BW - smeđi D*



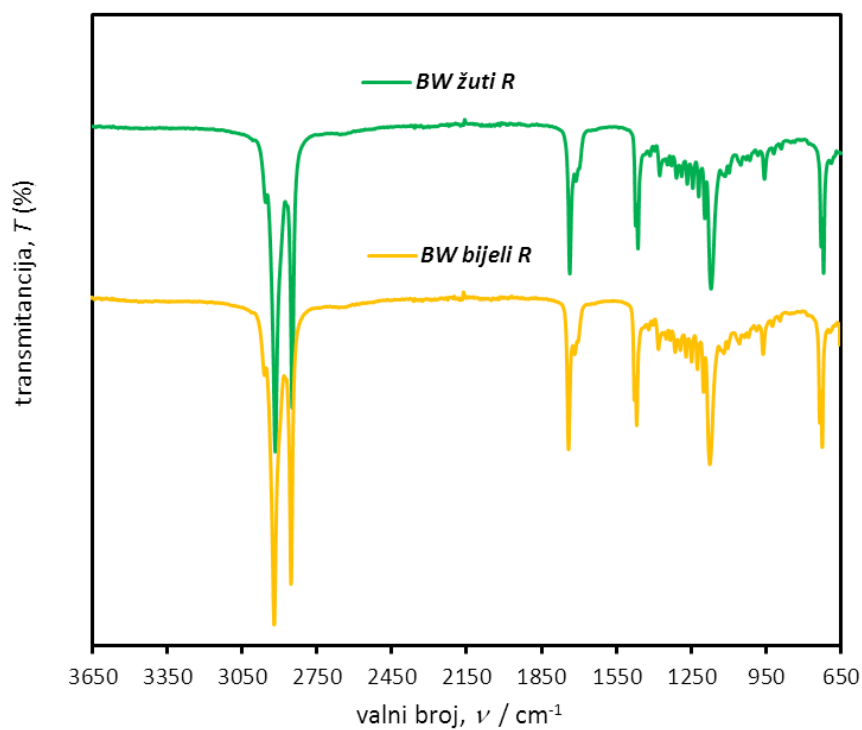
Slika 24. Usporedni FTIR-ATR spektri nerafiniranog domačeg pčelinjeg voska *BW - žuti D* i *BW - smeđi D*



Slika 25. FTIR-ATR spektar rafiniranog komercijalnog pčelinjeg voska *BW - žuti R*



Slika 26. FTIR-ATR spektar rafiniranog komercijalnog pčelinjeg voska *BW - bijeli R*



Slika 27. Usporedni FTIR-ATR spektri rafiniranog komercijalnog pčelinjeg voska *BW - žuti R* i *BW - bijeli R*

Vrpce kod 1736 cm^{-1} , 1706 i 1170 cm^{-1} karakteristične za pčelinji vosak (područje otiska prsta, slika 24.) a koje se pripisuju vibracijama estera i slobodnih masnih kiselina prisutne su kod svih uzoraka pčelinjih voskova.²¹⁻²³ Rezultati FTIR-ATR spektroskopije ne ukazuju na strukturne razlike ispitivanih domaćih nerafiniranih i komercijalnih rafiniranih voskova.

4.4. Rezultati određivanja slobodne površinske energije

U nastavku rada provedena je karakterizacija površine ispitivanih pčelinjih voskova mjerenjem kontaktnog kuta na goniometru. Dobivene vrijednosti kontaktnih kutova s različiti, kapljevina poslužile su za proračun slobodne površinske energije pčelinjih voskova prema modelu geometrijske sredine (Owens-Wendt)²⁰ i modelu harmonijske (Wu)²⁰ sredine.

Na slikama (28. – 31.) prikazane su kapljice različitih testnih kapljevina na površini pločica pčelinjih voskova **BW - žuti D**, **BW - smeđi D**, **BW - žuti R** i **BW - bijeli R** a vrijednosti kontaktnih kutova dane su u tablici 7.



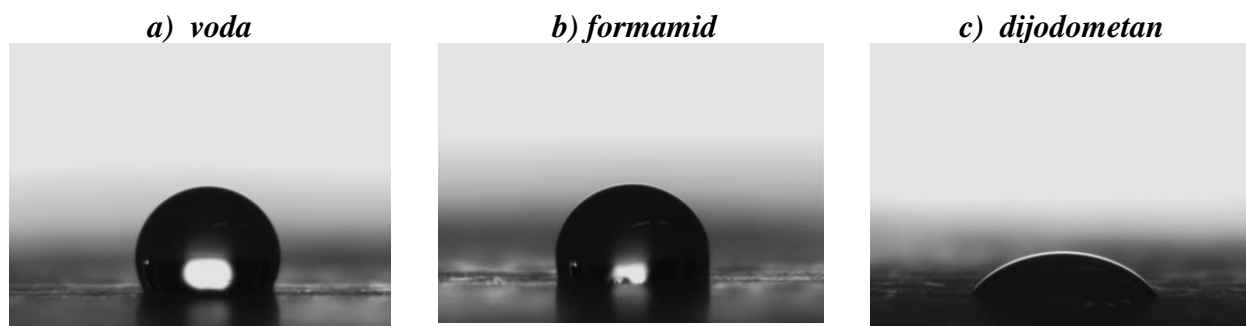
Slika 28. Kapljice testnih kapljevina na pločici domaćeg pčelinjeg voska **BW-žuti D**



Slika 29. Kapljice testnih kapljevina na pločici domaćeg pčelinjeg voska **BW - smeđi D**



Slika 30. Kapljice testnih kapljevin na pločici komercijalnog pčelinjeg voska *BW - žuti R*



Slika 31. Kapljice testnih kapljevin na pločici komercijalnog pčelinjeg voska *BW-bijeli R*

Tablica 7. Kontaktni kutovi dobiveni s različitim kapljevinama na pločicama ispitivanih pčelinjih voskova

<i>UZORCI</i>	<i>Kontaktni kut, θ (°)</i>		
	<i>Voda</i>	<i>Formamid</i>	<i>Dijodometan</i>
<i>BW - žuti D</i>	$82,0 \pm 0,7$	$82,4 \pm 2,2$	$51,4 \pm 0,2$
<i>BW - smeđi D</i>	$97,7 \pm 1,1$	$60,8 \pm 1,6$	$50,1 \pm 0,8$
<i>BW - žuti R</i>	$100,8 \pm 1,2$	$75,7 \pm 0,8$	$50,8 \pm 0,9$
<i>BW - bijeli R</i>	$103,2 \pm 0,7$	$103,0 \pm 0,2$	$53,6 \pm 0,9$

Iz dobivenih rezultata kontaktnog kuta s vodom vidljivo je da su svi uzorci pčelinjih voskova hidrofobnog karaktera što je posljedica strukture, odnosno prisutnih alifatskih ugljikovodika. Niža vrijednost kontaktnog kuta s vodom za uzorke nerafiniranog domaćeg pčelinjeg voska **BW - žuti D** i **BW - smeđi D** ukazuje na nižu hidrofobnost površine ovih uzoraka u odnosu na rafinirane pčelinje voskove kod kojih je znatno viša vrijednost kontaktnog kuta s vodom, tablica 7. Razlike su uvjetovane prisutnim nečistoćama u nerafiniranom pčelinjem vosku **BW - žuti D** i **BW - smeđi D**. FTIR-ATR spektroskopijom utvrđena je prisutnost vode kod uzorka domaćeg smeđeg pčelinjeg voska **BW - smeđi D** što je posljedica adsorpcije vode na hidrofilne komponente odnosno nečistoće prisutne u strukturi.

Vrijednosti kontaktnih kutova poslužile su za proračun slobodne površinske energije te disperzijske i polarne komponente primjenom Owens-Wendt i Wuovog matematičkog modela, Vrijednosti disperzijske i polarne komponente i ukupne slobodne površinske energije ispitivanih pčelinjih voskova proračunate prema Owens –Wendt modelu prikazane su u tablici 8. a primjenom Wuovog modela u tablici 9.

Tablica 8. Vrijednosti disperzijske i polarne komponente i ukupne slobodne površinske energije pčelinjih voskova proračunate prema Owens –Wendt modelu

<i>UZORCI</i>	<i>Slobodna površinska energija</i> (<i>mJ m⁻²</i>)		
	γ^d	γ^p	γ
<i>BW - žuti D</i>	25,84	4,41	30,25
<i>BW - smeđi D</i>	38,14	0,43	38,57
<i>BW - žuti R</i>	32,74	0,12	32,86
<i>BW - bijeli R</i>	23,74	0,09	23,83

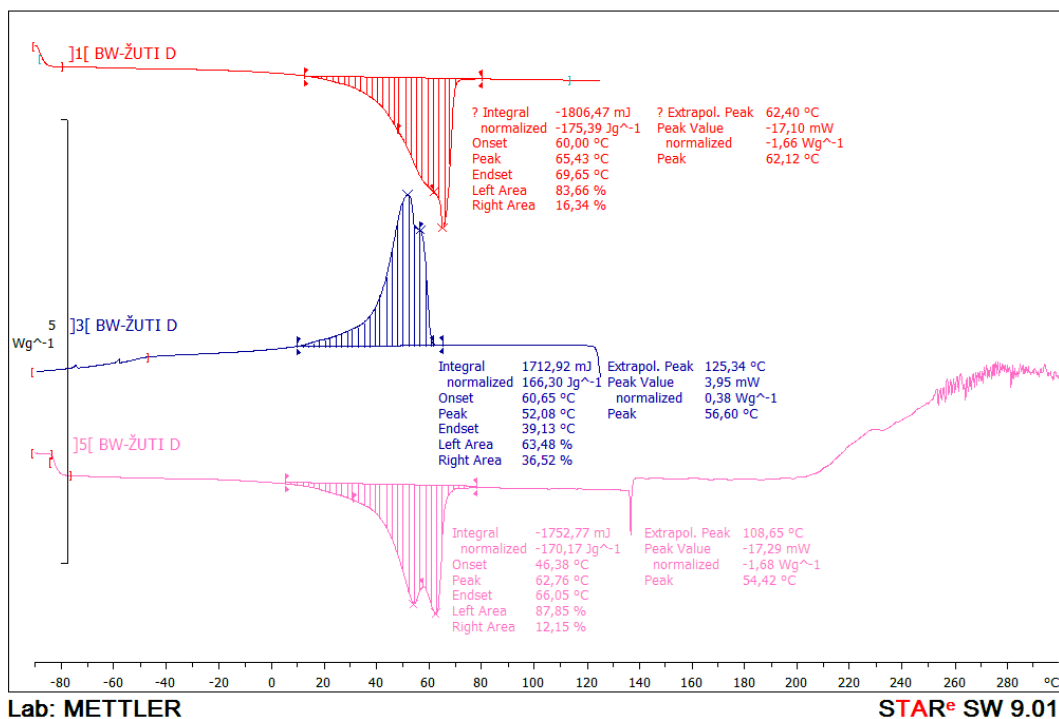
Tablica 9. Vrijednosti disperzijske i polarne komponente i ukupne slobodne površinske energije pčelinjih voskova proračunate prema Wu modelu

<i>UZORCI</i>	<i>Slobodna površinska energija</i> <i>(mJ m⁻²)</i>		
	γ^d	γ^p	γ
<i>BW - žuti D</i>	29,04	5,51	34,55
<i>BW - smeđi D</i>	32,49	4,12	36,61
<i>BW - žuti R</i>	34,12	0,73	34,85
<i>BW - bijeli R</i>	31,27	0,00	31,27

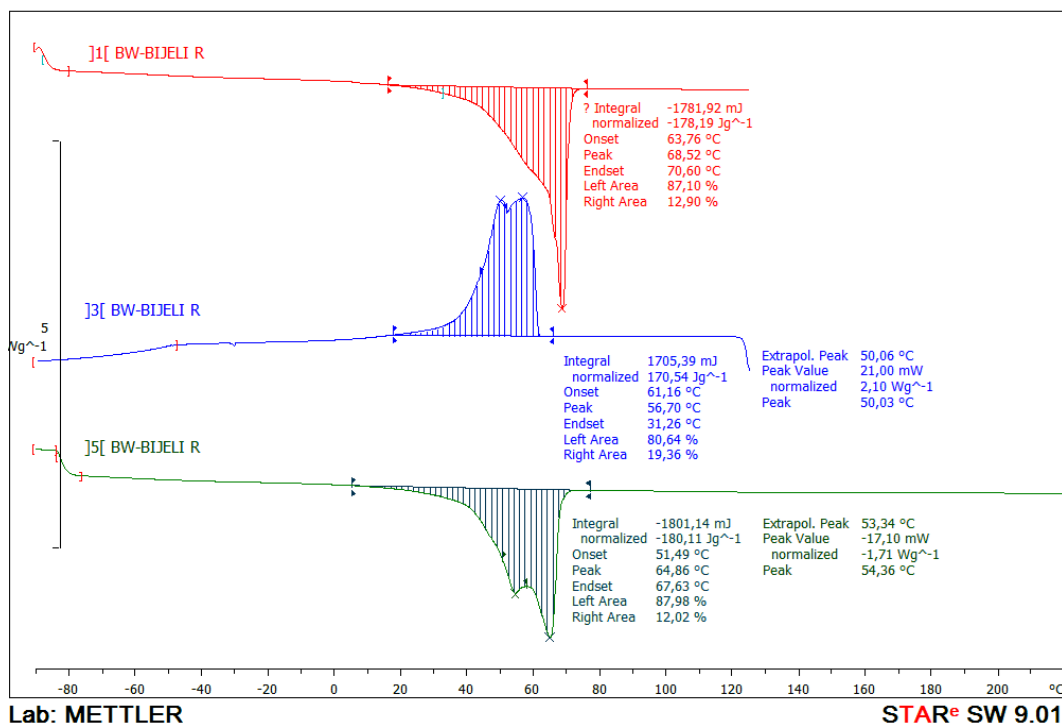
Viša vrijednost ukupne površinske energije i polarne komponente nerafiniranog domaćeg pčelinjeg voska, *BW - žuti D* i *BW - smeđi D* očito je posljedica prisutnih nečistoća polarnog karaktera i kao rezultat toga manje hidrofobnosti površine. Mehaničkim pročišćavanjem voska kod uzorka, *BW - žuti R* značajno se smanjuje polarnost površine uz neznatnu promjenu disperzijske komponente dok se kemijskim tretmanom kod uzorka, *BW - bijeli R* očito u potpunosti uklanjaju nečistoće što rezultira sniženjem disperzijske komponente i nepolarnim karakterom površine.

4.2. Rezultati DSC analize

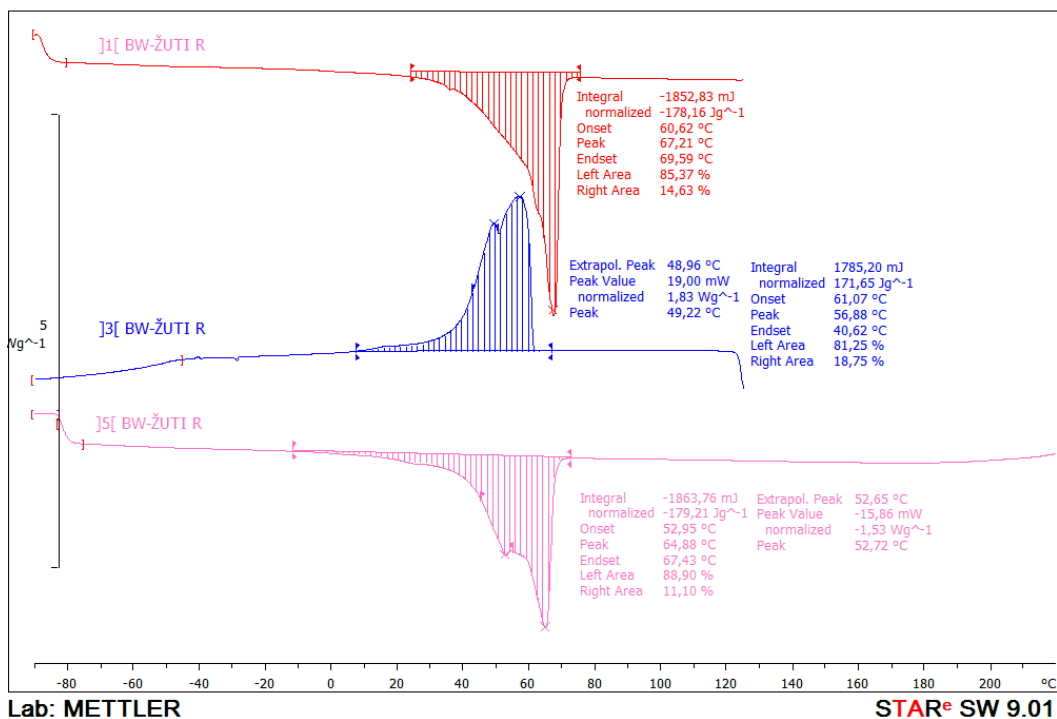
U nastavku rada istražena su toplinska svojstva pčelinjih voskova primjenom diferencijalne pretražne kalorimetrije (DSC). Na slikama 23.-36. prikazani su DSC termogrami dobiveni u 1. i 2. ciklusu zagrijavanja i ciklusu hlađenja pčelinjih voskova *BW - žuti D*, *BW - smeđi D*, *BW - žuti R* i *BW - bijeli R*. Vrijednosti tališta T_m , kristališta T_c te entalpije taljenja ΔH_m i entalpije kristalizacije ΔH_c očitani su iz termograma te dani u tablici 10.



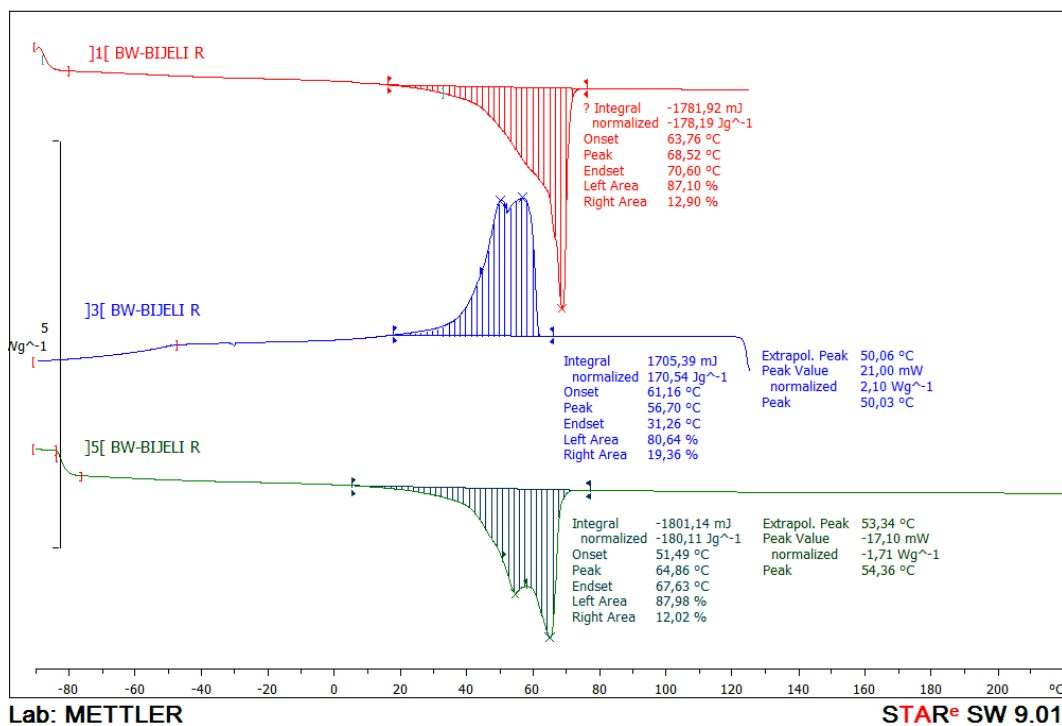
Slika 32. DSC termogrami 1. i 2. ciklusa zagrijavanja i ciklusa hlađenja nerafiniranog domaćeg pčelinjeg voska **BW - žuti D**



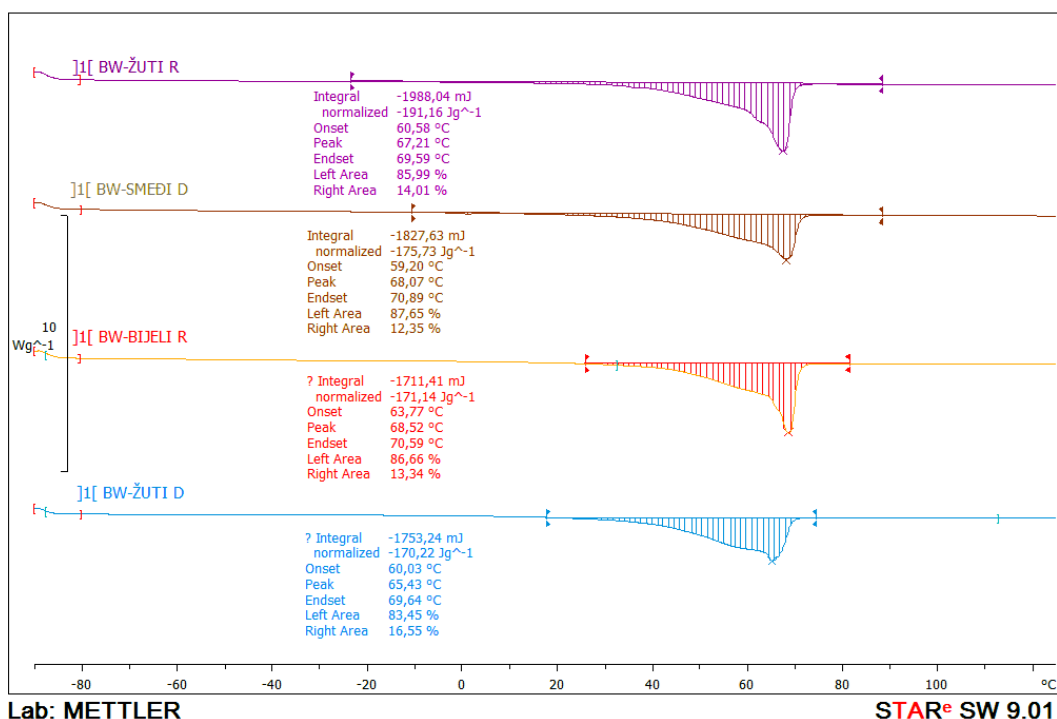
Slika 33. DSC termogrami 1. i 2. ciklusa zagrijavanja i ciklusa hlađenja nerafiniranog domaćeg pčelinjeg voska **BW - smeđi D**



Slika 34. DSC termogrami 1. i 2. ciklusa zagrijavanja i ciklusa hlađenja rafiniranog komercijalnog pčelinjeg voska *BW - žuti R*



Slika 35. DSC termogrami 1. i 2. ciklusa zagrijavanja i ciklusa hlađenja rafiniranog komercijalnog pčelinjeg voska *BW - bijeli R*



Slika 36. Usporedni DSC termogrami 1. ciklusa zagrijavanja ispitivanih pčelinjih voskova *BW - žuti D*, *BW - smeđi D*, *BW - žuti R* i *BW - bijeli R*

Vidljivo je da se svi uzorci pčelinjih voskova tale u širokom području temperatura, što ukazuje na različite sastojke prisutne u vosku. Prema literaturnim navodima prijelaz taljenja koji se proteže između 40 i 60°C posljedica je apsorpcije topline masnih kiselina i ugljikovodika.²⁴ Na termogramima pčelinjih voskova dobivenim u 1. i 2. ciklusu zagrijavanja vidljiv je jedan prijelaz koji se odvija u širokom području temperatura (0-70 °C) a koji odgovara taljenju kristalne faze voska. Minimum endoterma taljenja oko 65-69 °C odgovara talištu pčelinjeg voska. Iz krivulje ciklusa hlađenja dobivena je vrijednost temperature kristalizacije koja iznosi od 52,1°C za *BW - žuti D* do 56,9 za *BW - žuti R* uzorak a koja odgovara maksimumu egzoterma.

Iz rezultata je vidljivo da je vrijednosti temperature taljenja domaćeg nerafiniranog pčelinjeg voska *BW - žuti D* niža u odnosu na ostale voskove. Prema literaturi pomak temperature taljenja pčelinjeg voska prema nižoj temperaturi ukazuje na prisutnost nečistoća u vosku.²⁴

Niže vrijednosti entalpije taljenja domaćeg pčelinjeg nerafiniranog voska *BW- žuti D* i *BW - smeđi D* ukazuju na manji udio kristalne faze u nepročišćenom vosku u odnosu na rafinirani, tablica 10. S druge strane, vrijednosti temperatura taljenja rafiniranog komercijalnog pčelinjeg voska pomiče se prema višoj temperaturi na 37,2 odnosno 68,5°C uz porast entalpije taljenja na 178,2 Jg⁻¹.

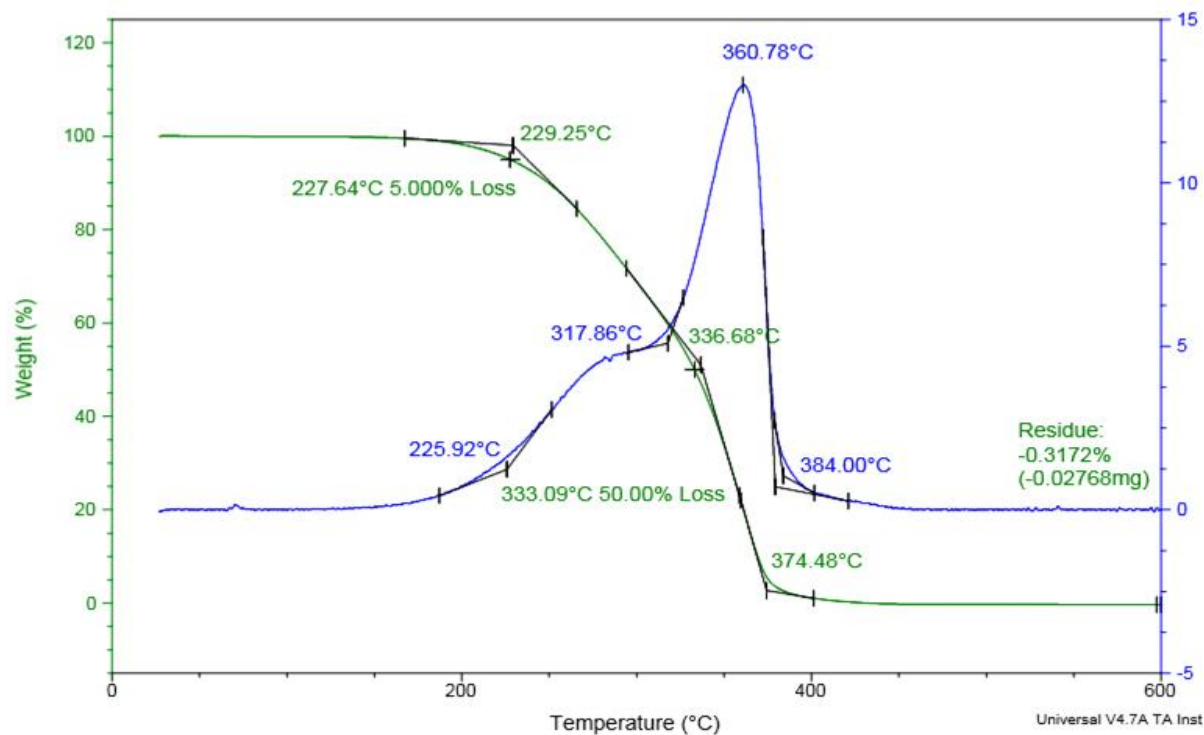
Tablica 10. Vrijednosti temperature taljenja i kristalizacije, entalpije taljenja i entalpije kristalizacije očitane iz DSC termograma ispitivanih pčelinjih voskova

Uzorak	T_m (°C)	ΔH_m (Jg ⁻¹)	T_c (°C)	ΔH_c (Jg ⁻¹)
BW - žuti D	65,4	175,4	52,1	166,3
BW - smeđi D	68,1	163,9	51,4	159,4
BW - žuti R	67,2	178,2	56,9	171,7
BW - bijeli R	68,5	178,2	56,7	170,5

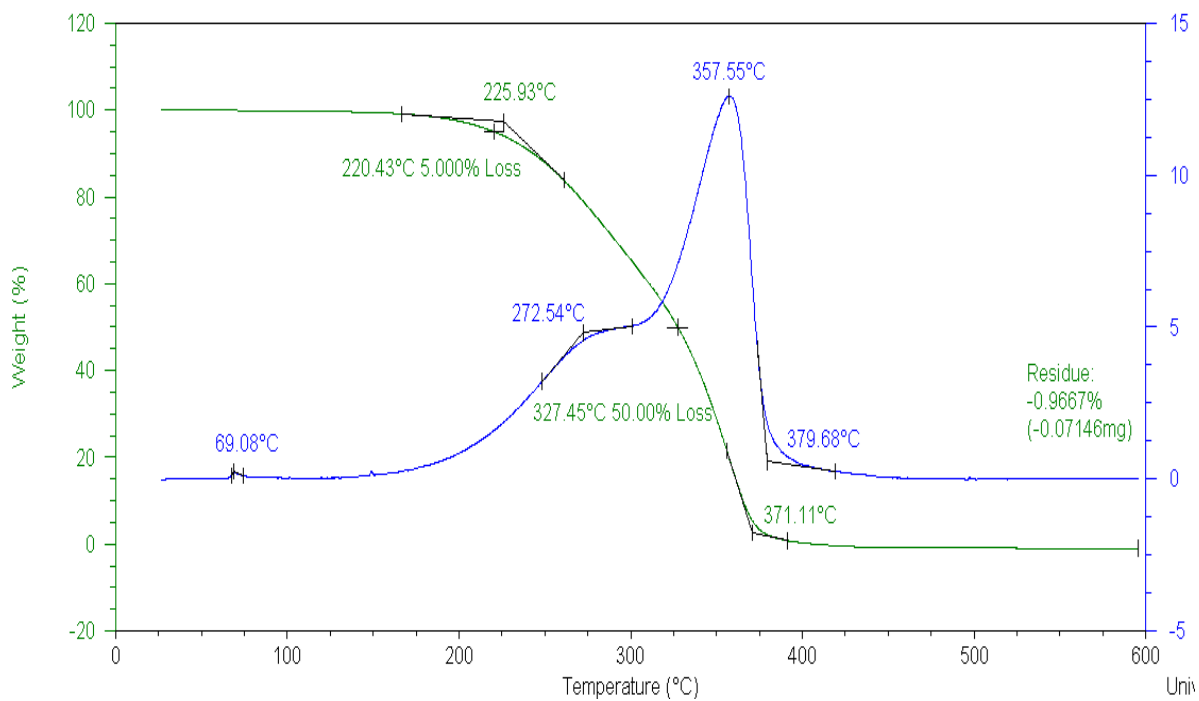
Vjerojatno je razlog u sljedećem; kod nerafiniranog voska nečistoće sprječavaju kristalizaciju voska te je udio kristalne faze manji tj. entalpije taljenja i entalpije kristalizacije su znatno niže u odnosu na rafinirani žuti i bijeli vosak, **BW - žuti R** i **BW - bijeli R** koji lakše kristalizira i stvara veći udio kristalne faze. Dobiveni rezultati potvrđuju literaturne navode u kojima su istraživani parafin (sintetski) i pčelinji vosak.²⁴ Dvostruki pik koji se javlja na krivulji taljenja i kristalizacije ukazuje na nastajanje kristalnih struktura različitih uređenosti. Sređenija forma ima višu temperaturu taljenja T_m , dok manje sređena forma ima nižu temperaturu taljenja, slika 36. S obzirom da je entalpija kristalizacije manja u odnosu na entalpiju taljenja to ukazuje na sporu kristalizaciju voska. Prema podacima, tablica 10 najsporije kristalizira uzorak domaćeg pčelinjeg voska **BW - smeđi D** koji ujedno ima i najmanji udio kristalne faze.

4.3. Rezultati TGA analize

Termogravimetrijska analiza provedena je kako bi se utvrdila toplinska postojanost ispitivanih pčelinjih voskova. Dobivene TG i DTG krivulje prikazane su na slikama 37. – 40., dok su u tablici 11. dane vrijednosti temperature početka (T_{onset}) i kraja (T_{end}) razgradnje, temperature pri gubitku mase od 5 i 50 %, temperatura maksimalne brzine razgradnje (T_{max}), te ostatak nakon razgradnje.



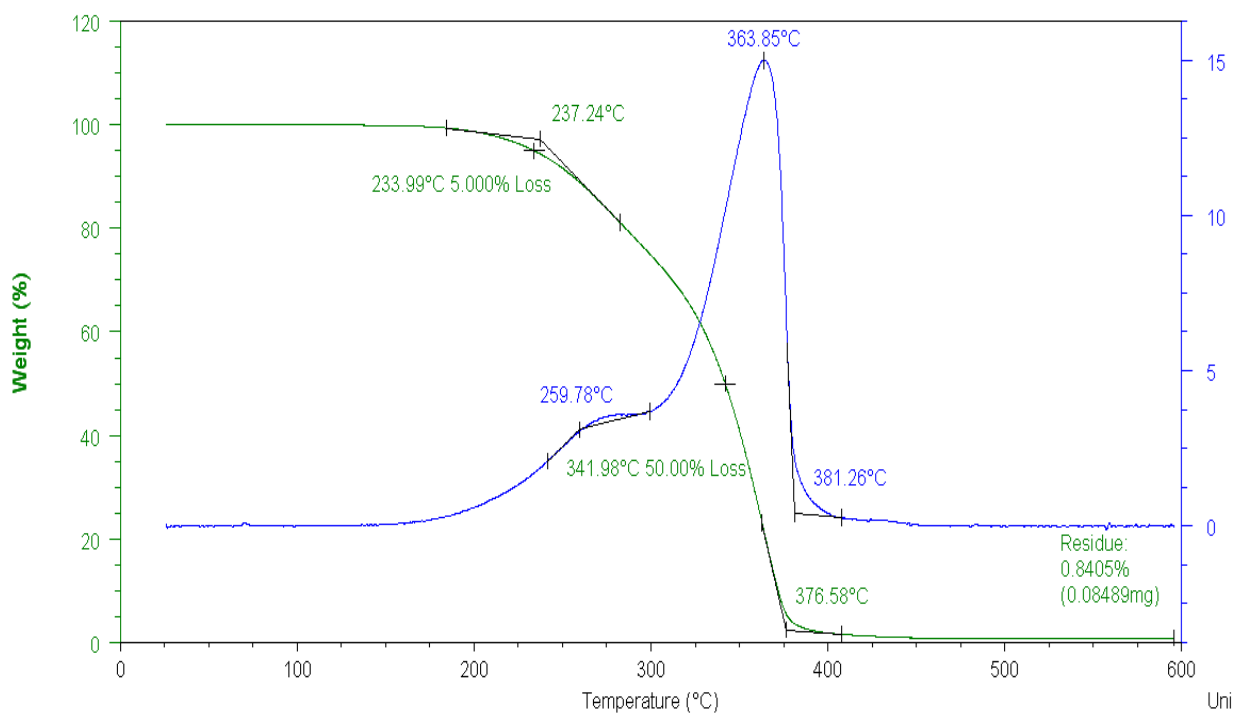
Slika 37. TG i DTG krivulje domaćeg nerafiniranog pčelinjeg voska *BW - žuti D*



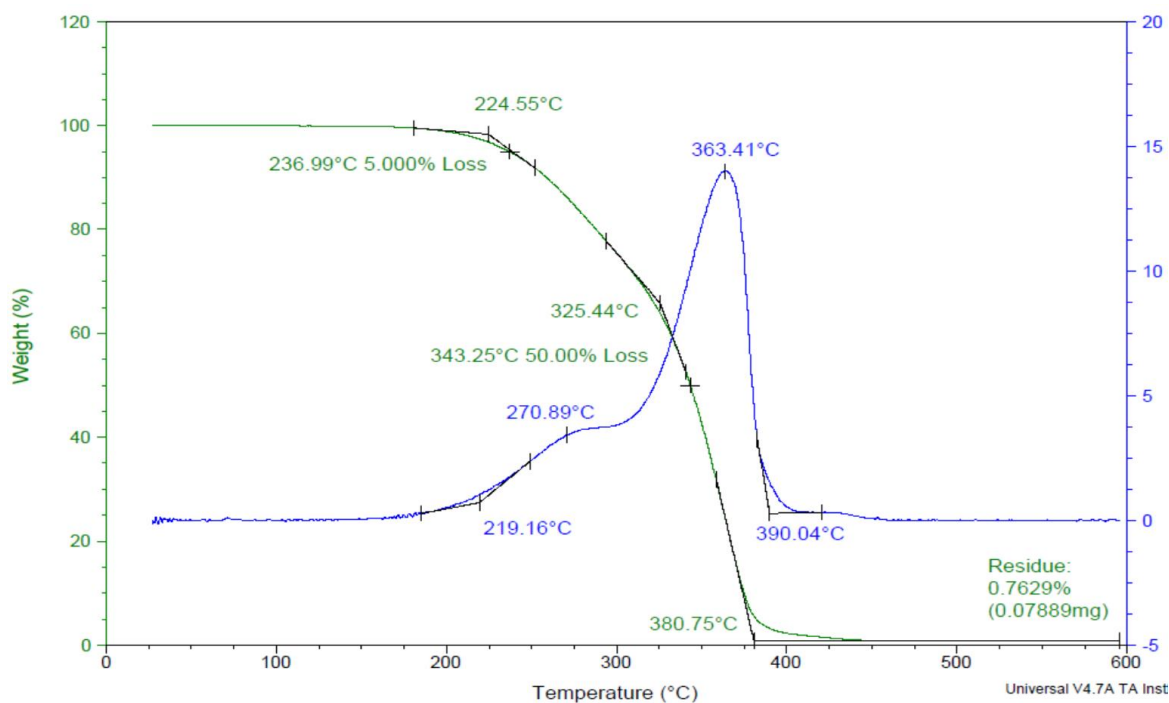
Slika 38. TG i DTG krivulje domaćeg nerafiniranog pčelinjeg voska *BW - smeđi D*

Iz rezultata je vidljivo da se pčelinji voskovi razgrađuju u dva razgradna stupnja u širokom području temperatura (oko 150 °C). Dobiveni rezultat ukazuje na kompleksnu strukturu pčelinjih voskova i široku raspodjelu molekulskih masa. U prvom stupnju do oko 220°C hlape i razgrađuju se lako hlapljive tvari i komponente niske toplinske postojanosti dok se u drugom stupnju razgrađuju ugljikovodici veće molekulske mase i veće toplinske postojanosti.

Prema vrijednostima početka razgradnje i temperature kod 5% gubitka mase vidljivo je da nerafinirani **BW - smeđi D** ima najmanju toplinsku postojanost od svih istraživanih voskova. To je posljedica prisutnosti nečistoća koje su manje toplinski stabilne pa se razgrađuju pri nižim temperaturama. Kod rafiniranih pčelinjih voskova temperatura početka i kraja razgradnje pomiče se prema višoj temperaturi što ukazuje na njihovu veću toplinsku postojanost u odnosu na nerafinirane pčelinje voskove. Toplinska postojanost raste slijedećim slijedom: **BW - smeđi D** > **BW - žuti D** > **BW - žuti R** > **BW - bijeli R**. Jednak je slijed temperatura kod 5% i 50% gubitka mase. Također temperatura maksimalne brzine razgradnje pomiče se prema višoj vrijednosti temperature što dodatno potvrđuje porast toplinske postojanosti pročišćavanjem voska.



Slika 39. TG i DTG krivulje komercijalnog rafiniranog pčelinjeg voska **BW - žuti R**



Slika 40. TG i DTG krivulje komercijalnog rafiniranog pčelinjeg voska **BW - bijeli R**

Nerafinirani uzorci nemaju ostatak nakon razgradnje dok je razgradni ostatak rafiniranih voskova oko 0,8% što ukazuje na međusobnu reakciju razgradivih produkata i nastajanje nerazgradivog produkta. Rezultati ukazuju na porast toplinske postojanosti koja je rezultat rafiniranja (pročišćavanja) pčelinjeg voska mehanički i dodatno kemijskim sredstvima.

Tablica 11. Vrijednosti temperature početka razgradnje (T_{onset}), temperature kraja razgradnje (T_{end}), temperature kod 5 i 50% gubitka mase, ostatak i temperature maksimalne brzine razgradnje (T_{max})

UZORAK	TG					DTG		
	$T_{\text{onset (I)}}$ / °C	$T_{\text{onset (II)}}$ / °C	T_{end} / °C	T kod 5 % gubitka mase / °C	T kod 50 % gubitka mase / °C	Ostatak / %	$T_{\text{max (I)}}$ / °C	$T_{\text{max (II)}}$ / °C
BW - žuti D	229,3	336,7	374,5	227,6	333,1	0	317,9	360,8
BW - smeđi D	225,9	324,0	371,1	220,4	327,5	0	272,5	357,6
BW - žuti R	237,2	325,3	376,6	233,9	341,9	0,84	259,8	363,9
BW - bijeli R	238,8	325,4	380,8	236,9	343,3	0,77	270,9	363,4

5. ZAKLJUČCI



FTIR-ATR spektroskopijom utvrđeno je da su svi uzorci pčelinjih voskova prirodni pčelinji vosak. Nerafinirani domaći vosak **BW - smeđi D** i **BW - žuti D** te rafinirani pčelinji vosak **BW - žuti R** i **BW - bijeli R** imaju jednake spektre.



Prisutnost vrpce kod oko 3400 cm^{-1} ukazuje na prisutnost vode u vosku, što je posljedica prisutnih nečistoća koje očito lakše adsorbiraju vodu. Vrpca kod 1675 cm^{-1} ukazuje na prisutnost aromatskih karboksilnih spojeva (polarnih) koji također doprinose boljoj adsorpciji vode u vosku.



Mjerenja kontaktnog kuta ukazuju na značajan utjecaj nečistoća prisutnih u nerafiniranom pčelinjem vosku **BW - smeđi D** i **BW - žuti D** na hidrofobnost i polarnost površine. Uzorci nerafiniranog pčelinjeg voska stoga imaju višu površinsku energiju i veću sposobnost adsorpcije vode.



Pčelinji vosak pročišćen mehanički **BW - žuti R** i vosak pročišćen kemijskim sredstvima **BW - bijeli R** imaju visoko hidrofobnu i potpuno nepolarnu površinu, što rezultira i nižom ukupnom površinskom energijom i boljom otpornošću prema djelovanju vode.



DSC rezultati također ukazuju na važnost pročišćavanja pčelinjeg voska. Nerafinirani pčelinji vosak **BW - žuti D** ima talište na nižoj temperaturi i manju entalpiju taljenja što ukazuje na manji udio kristalne strukture slabije središnjosti koje prisutne nečistoće onemogućavaju. **BW - smeđi D** ima najmanji udio kristalne faze što je rezultat većeg udjela nečistoća u odnosu na žuti vosak a uz to i sporije kristalizira.



Rafinirani pčelinji vosak **BW - žuti R** i **BW - bijeli R** pokazuju lakšu sklonost kristalizaciji i nastajanje većeg udjela kristalne faze te nastajanje kristalne faze središnje strukture koja se tali na višim temperaturama.



TGA analiza pokazala je značajan utjecaj pročišćavanja pčelinjeg voska na njegovu toplinsku postojanost. Mehaničko pročišćavanje a osobito kemijsko pročišćavanje doprinose dobivanju pčelinjeg voska veće toplinske postojanosti

6. LITERATURA

1. Laktić Z., Šekulja D., *Suvremeno pčelarstvo* (2008) 324-329
2. <https://www.savjetodavna.org/Savjeti2/Zanimljivosti%20iz%20zivota%20pcela.pdf> (pristup 18.10.2016.)
3. <https://pcelinaskolica.wordpress.com/ucionica/strucna-predavanja/> Lidija Svečnjak, Patvorenje pčelinjeg voska i aktualna situacija na tržištu satnih osnova, Pazin 28. veljače 2015. „Dani meda“ (pristup 12.10.2016.)
4. <http://www.threequestionsthatmatter.com/what-came-first-honey-bee-or-honeycomb/> (pristup 15. Listopada 2017.) (pristup 10.10.2016.)
5. <http://rurification.blogspot.hr/2012/06/where-does-wax-come-from.html?m=1> (pristup 15.10.2016.)
6. <http://www.pcelarstvo.hr> (pristup 20.10.2016.)
7. <http://www.narodnilijek.com> (pristup 20.10.2016.)
8. Sučić N., Prirodne i patvorene podloge za pčelinji vosak, *Polimeri*, Volume 35, Number 1-2 (2015) 39-41
9. Was E., Rybak-Chmielewska H., Szczesna T., Detection of Beeswax Adulteration with Hydrocarbons Using Gas Chromatography with Mass Detector (GC-MS), 1st World Honeydew Honey Symposium 1 -3. August, 2008, Tzarevo, Bulgaria, www.ihc-platform.net/ewawax2008.pdf (pristup 18.10.2016.)
10. <https://pcelinaskolica.wordpress.com/radionica/kuharica/> (pristup 18.10.2016.)
11. <http://www.pcelarstvo-martinovic.me/mne/ponuda-vosak.php> (pristup 5.10.2016.)
12. <http://m.langnese-honey.us.com/honey-facts/honey-product-information.html>
13. <http://www.aloelf.com/bee-honey/ancient-history-of-bee-honey/> (pristup 5.10.2016.)
14. <https://coxshoney.com/the-history-of-beekeeping-and-honey> (pristup 8.10.2016.)
15. <http://www.pcelarskaudruga-labin.hr> (pristup 4.10.2016.)
16. Kapš P., Liječenjem pčelinjim proizvodima - Apiterapija, 2013.,189.-194.
17. <http://www.savjetodavna.hr/vijesti/11/2203/primjena-pcelinjih-proizvoda-u-zastiti-ljudskog-zdravlja/> (pristup 10.10.2016.)
18. S. L. Blagojević, *Inženjerstvo površina*, Interna skripta, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, str. 24.

19. H. Gunzler, H. U. Gremlich, Uvod u infracrvenu spektroskopiju, Zagreb, 2006., 53.-63.
20. M. K. Chaudhury: Surface free energies of alkylsiloxane monolayers supported on elastomeric polydimethylsiloxanes, in K. L. Mittal (Ed.): Contact angle, Wettability and Adhesion, VSP, Utrecht, 1993, str. 691 – 697
21. Mahamasuhaimi M., Pichya Pitsuwan L. S. , Kalayanee K., Peerawas K. i Phatcharee P. Thermo- physical characterization of paraffin and beeswax on cotton fabric Hammasat International Journal of Science and Technology 19 (4) 2014 69-77.
22. Svečnjak L., Baranović G., Vinceković M., Prđun S., Bubalo D., Tlak Gajger I., An approach for routine analytical detection of beeswax adulteration using FTIR-ATR spectroscopy, J. Apic. Sci. **59** (2) 2015 37-49.
23. Stefan Bogdanov, Beeswax: quality issues today, Bee world 85 (3) (2004) 46-50
24. Ruguo Z., Hua Z., Hong Z., Ying F., Kun L., and Wenwen Z., Thermal analysis of four insect waxes based on differential scanning calorimetry (DSC), P Eng. 18(18) (2011) 101 – 106.

