

Metodyki oznaczania parametrów fizykochemicznych wosku pszczelego

Wyznaczanie temperatury topnienia wosku pszczelego

1. Cel procedury

Celem procedury jest określenie postępowania, w wyniku którego zostanie wyznaczona temperatura topnienia woskowatego ciała stałego jakim jest wosk pszczeli (temperatura poślizgu, Slip Melting Point). Oznaczanie poślizgowej temperatury topnienia polega na wprowadzeniu próbki do wewnętrznej kapilary, zanurzenie jej w kapilarze zewnętrznej wypełnionej wodą i stopniowym podgrzewaniu próbki do momentu, kiedy próbka zaczyna topić się. Punkt poślizgu to temperatura, w której kolumna ciała stałego (wosku) zaczyna się podnosić w kapilarze wewnętrznej w wyniku stopienia się zewnętrznej powierzchni ciała stałego

2. Wykonanie oznaczenia

Aparat uruchomić wg instrukcji obsługi aparatu do pomiaru temperatury topnienia MP55 (Mettler Toledo). Wykonać sprawdzenie poprawności działania aparatu poprzez sprawdzenie wskazania temperatury topnienia dla certyfikowanego materiału wzorcowego. Uruchomić program do pomiaru temperatury poślizgu (Slip Melting Point). Wykonać sprawdzenie oznaczenie temperatury poślizgu dla badanych próbek.

W celu wykonania oznaczenia temperatury topnienia wosku należy kapilarę wewnętrzną napęlnić próbką wosku. Kapilarę zewnętrzną napęlnić wodą (1,0 ml) za pomocą strzykawki z igłą tak, by poziom wody był powyżej wysokości/poziomu próbki. Kapilarę wewnętrzną wypełnioną próbką wosku włożyć do kapilary zewnętrznej wypełnionej wodą tak, by nie było pęcherzy powietrza. Kapilarę zewnętrzną umieścić w aparacie do pomiaru temperatury topnienia i wykonać oznaczenie zgodnie z instrukcją obsługi aparatu.

Każdy rodzaj próbki zmierzyć co najmniej dwukrotnie.

Jako wynik podać średnią z co najmniej dwóch wyników, które nie będą się różniły więcej niż 0,4°C.

Oznaczanie zawartości alkanów w wosku pszczelim metodą GC-FID

1. Cel procedury

Celem procedury jest określenie sposobu identyfikacji alkanów (węglowodorów nasyconych) prostolanicznych w wosku pszczelim, ilościowego ich oznaczenia oraz wykrywanie zafałszowań wosku pszczelego węglowodorami obcego pochodzenia (np. parafiną) z zastosowaniem techniki chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo - jonizacyjną (GC-FID). Poszczególne alkany identyfikowane są na podstawie czasów retencji porównanych z czasami uzyskanymi dla wzorców. Ilościowe ich oznaczenie wykonywane jest metodą standardu wewnętrznego przy użyciu skwalanu ($C_{30}H_{62}$) jako standardu wewnętrznego oraz mieszaniny wzorcowej alkanów (od C_8H_{18} do $C_{40}H_{82}$).

2. Wykonanie oznaczenia

2.1. Przygotowanie roztworu wzorca wewnętrznego

Należy przygotować roztwór podstawowego wzorca wewnętrznego o stężeniu 400 mg/l, z którego zostanie przygotowany roztwór roboczy skwalanu o stężeniu 20 mg/l poprzez dwudziestokrotne rozcieńczenie roztworu podstawowego.

2.2. Przygotowanie roztworu wzorcowego alkanów (C_8 - C_{40}) ze standardem wewnętrznym ($C_{30}H_{62}$)

Jako roztwór wzorcowy należy przygotować roztwór wzorcowy alkanów o stężeniu 10 mg/l ze standardem wewnętrznym o stężeniu 10 mg/l.

2.3. Przygotowanie próbki wosku do oznaczeń.

Odważyć 0,050 g wosku z dokładnością $\pm 0,001$ g do kolby Erlenmeyera, dodać 7,5 ml heptanu. Wyrząsać w temperaturze 50°C przez około 12 min do rozpuszczenia wosku. Dodać 2,5 ml roztworu podstawowego skwalanu.

Wyizolować alkany z wosku techniką ekstrakcji do fazy stałej (SPE) z zastosowaniem kolumnienek wypełnionych obojętnym tlenkiem glinu. Przeprowadzić aktywację sorbentu heksanem, pozostawiając cienką warstwę heksanu na sorbencie. Zadozować na kolumnienkę 1 ml roztworu wosku. Sorbent przemyć 3 ml heksanu w celu wymycia węglowodorów z przestrzeni międzyziarnowych sorbentu. Eluat zbierać do kolbki o pojemności 10 ml, a następnie kolbkę uzupełnić do kreski heptanem. Przenieść roztwór do fiolki do autosamplera filtrując przez filtr strzykawkowy PTFE (pory 0,20 μ m i średnicy 13 mm).

Rozdział chromatograficzny i oznaczanie alkanów wykonać w następujących warunkach chromatograficznych:

Przepływ gazu nośnego (helu) – 2,20 ml/min

Program temperaturowy na kolumnie: temperatura początkowa - 80°C (1min), następnie gradient temperaturowy 15°C/min do osiągnięcia 340°C (15min)

Temperatura dozownika - 320°C

Dozowanie roztworu próbki – tryb splitless (bez dzielenia strumienia), pod ciśnieniem 300 kPa (High Pressure Injection Mode)

Ilość nanoszonego na kolumnę roztworu badanej próbki - 1 μ l.

Każdy rodzaj próbki zmierzyć co najmniej dwukrotnie.

Za wynik końcowy badania należy przyjąć średnią z wyników równoległych pomiarów nie różniących się więcej niż 5% wyniku niższego.

Wynik końcowy dla sumy zawartości alkanów podać w g/100 g wosku z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

Oznaczanie liczby kwasowej w wosku pszczelim

1. Cel procedury

Celem procedury jest określenie postępowania, w wyniku którego zostanie oznaczona liczba kwasowa wosku pszczelego. Oznaczanie liczby kwasowej określa zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w 1 g wosku, wyrażoną liczbą mg wodorotlenku potasu, zużytego do ich zobojętnienia. Metoda ta ma na celu określenie ilości wolnych kwasów tłuszczowych obecnych w wosku pszczelim, chociaż obecność innych zakłócających substancji kwasowych może wpływać na tę zależność. Liczba kwasowa jest miarą stopnia hydrolizy wosku, czyli jego świeżości. Jej wartość zmienia się np. podczas jełczenia wosku. Wartość kwasowa spada wraz z dodatkiem parafiny, stearyny.

2. Wykonanie oznaczenia

W celu oznaczenia liczby kwasowej próbki wosku należy odważyć od 2 do 3 g wosku z dokładnością do $\pm 0,001$ g do kolby okrągłej płaskodennej. Dodać 50 ml alkoholu etylowego. Kolbę z próbką ogrzewać pod chłodnicą zwrotną do rozpuszczenia wosku. Przygotowany roztwór należy miareczkować potencjometrycznie na gorąco 0,1 mol/l alkoholowym roztworem wodorotlenku potasu.

Wykonać dwa oznaczenia i obliczyć średnią (różnica nie powinna przekraczać 0,5 ml).

Za wynik końcowy badania należy przyjąć średnią z wyników równoległych pomiarów.

Wynik końcowy dla oznaczenia liczby kwasowej podać w mg KOH/g wosku z dokładnością do jednego miejsca po przecinku

Oznaczanie liczby zmydlenia w wosku pszczelim

1. Cel procedury

Celem procedury jest określenie postępowania, w wyniku którego zostanie oznaczona liczba zmydlenia wosku pszczelego. Znajomość liczby zmydlenia pozwala wyznaczyć średnią masę cząsteczkową kwasów tłuszczowych wchodzących w skład danego wosku oraz średnią długość łańcuchów tych kwasów. Liczba zmydlenia jest wyrażana jako ilość mg wodorotlenku potasu potrzebna do zobojętnienia wolnych kwasów i zmydlenia estrów zawartych w 1g wosku. Liczba zmydlenia jest sumą liczby kwasowej i estrowej.

2. Wykonanie oznaczenia

W celu oznaczenia liczby zmydlenia próbki wosku należy odważyć około 4 g wosku z dokładnością $\pm 0,001$ g do okrągłej kolby płaskodennej. Dodać 50 ml 0,5 mol/l alkoholowego roztworu wodorotlenku potasu. Kolbę z próbką ogrzewać pod chłodnicą zwrotną do rozpuszczenia wosku. Ogrzewać przez godzinę w temp. 60°C. Tak przygotowany roztwór należy miareczkować potencjometrycznie na gorąco 0,5 mol/l kwasem solnym.

Oznaczenie wykonać równoległe dla próby ślepej.

Wykonać dwa oznaczenia i obliczyć średnią (różnica nie powinna przekraczać 3,0 mg/g).

Za wynik końcowy badania należy przyjąć średnią z wyników równoległych pomiarów.

Wynik końcowy dla oznaczenia liczby zmydlenia podać w mg KOH/g wosku z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

Oznaczanie liczby jodowej w wosku pszczelim

1. Cel procedury

Celem procedury jest określenie postępowania, w wyniku którego zostanie oznaczona liczba jodowa wosku pszczelego. Liczba jodowa to liczba wskazująca, ile gramów jodu może się przyłączyć do wiązań podwójnych nienasyconych kwasów tłuszczowych zawartych w 100 g wosku. Oznaczenie liczby jodowej dla wosku pozwala określić i porównać stopień ich nienasycenia.

2. Wykonanie oznaczenia

W celu oznaczenia liczby jodowej próbki wosku należy odważyć 0,8 g wosku z dokładnością do $\pm 0,001$ g do okrągłej kolby płaskodennej. Dodać 10 ml chloroformu, 25 ml odczynnika Hanusa. Zamknąć kolbę, wymieszać, pozostawić przez 0,5 h w ciemnym miejscu od czasu do czasu potrząsając. Po tym czasie dodać do kolby 10 ml roztworu jodku potasu i 100 ml świeżo przegotowanej i schłodzonej wody destylowanej, po czym zmiareczkować jej zawartość roztworem tiosiarczanu sodu.

Oznaczenie wykonać równoległe dla próby ślepej.

Wykonać dwa oznaczenia i obliczyć średnią (różnica nie powinna przekraczać $1 \text{ gJ}_2/100 \text{ g}$ wosku).

Za wynik końcowy badania należy przyjąć średnią z wyników równoległych pomiarów.

Wynik końcowy dla oznaczenia liczby jodowej podać w $\text{g J}_2/100 \text{ g}$ wosku z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.