

ЭФФЕКТЫ ОМЫВАНИЯ НА ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ ПРИМЕСИ И ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОСКА, ПОЛУЧЕННОГО ОТ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ НА ФИДЖИ

Л. ПОНЧИНИ
Алеах ПОНЧИНИ
Д. ПРАКАШ
Фиджи

Введение

Омывание воскового сырья горячей водой является лучшим и наиболее распространенным методом чистки воска (ИВАНОВСКИЙ, 1941). Этот способ играет важную роль в получении воска удовлетворительной желтизны, а также в отбелке продукта.

Кроме резидуального меда в воске имеются следующие главные примеси: смола, пыльца, растительные и животные остатки (погибшие пчелы, личинки, коконы), прополис и разные другие примеси (РУБИК, 1989). ИВАНОВСКИЙ (1941) показал, что качество воды и ее температура играют решающую роль в успешном удалении большинства этих примесей. Он показал также, что применение дистиллированной или мягкой воды в равном количестве с воском ведет к достоверному сокращению количества содержащихся в продукте примесей.

К сожалению, многие методы промышленной обработки воска применяют проточную воду, которая может содержать бикарбонат серы и магния (жесткая вода) (ИВАНОВСКИЙ, 1941). Такие воды ведут к образованию ряда металлических мыл со свободными кислотами из воска и способствуют эмульгированию воды из воска, что совсем нежелательно, главным образом, в случае воска, используемого в косметике или для производства свечей (ПОНЧИНИ, 1987).

Такие воды ведут также к недостаточному просветлению воска и часто, для достижения необходимой чистоты следует добавлять серную кислоту или другие химические вещества (хлорид натрия, боракс, алаун), а это увеличивает расходы на просветление.

В настоящей работе представляем впервые характеристики пчелиного воска пчел, обитающих на о. Фиджи и способ определения чистоты воска на основе числа-отношения — нормального показателя чистоты воска (Британский фармацевтический кодекс, 1973). Этот показатель коррелирован с процентом относительной ошибки и таким образом как до очищения воска, так и после этого процесса можно определить настоящую шкалу измерения эффекта смывания, основанную на количествах «омываемых примесей», имеющихся в сыром воске.

Экспериментальная техника

Общие данные

Пробы воска из сотов с откачанным медом (РУТ, 1951) применяли или в виде сырья (пробы Лаутока А—С, Насину А, Наусори), либо в очищенном виде (пробы Насину В, Овалау), по рекоменда-

циям Таллоча и Гоффмана (1972). Все пробы хранили при 2°C перед анализом, который осуществляли при комнатной температуре (25°C). Пробы были взяты в западных зонах (Лаутока), центральных (Нау-сори, Насину) и восточных (Овалау) о. Фиджи; анализ проведен трехкратно для каждой пробы или до момента, когда они соответствовали пределам $\pm 0,05\%$. Измерения флюоресценции при применении стандартного силикагеля ГФ₂₅₄, осуществлены аппаратом UVSL-58 (Ultra-Violet Products, Калифорния). Цветы воска оценены методом сравнения стандартными цветами (СНЕЛЛ и ХИЛЬТОН, 1966) и с помощью Словаря цветов (МАЕРЦ и ПОЛ, 1950). Процент относительной ошибки определен по указаниям ЭКШЛАГЕРА (1969).

Химический анализ

Точки плавления определены аппаратурой, описанной в Секции I и методом (Секция III) Приложения IV А Британской Фармакопей (1948). Кислотное число и число омыления определены по технике, описанной в Приложении X (А) и, соответственно, (С) Британской фармакопей (1953). Эфирное число определено по разнице между числами омыления и кислотными числами (Фармакопея США, 1947). Число отношения определено по указаниям Британского фармацевтического кодекса (1968). Воск пчел омывали по процедуре ИБРАГИМА с сотр., (1973). Присутствие меда в воде омывания идентифицировано реакцией Фелинга (МАНН и САУНДЕРС, 1956). Стандартизация спиртовых НСI 0,1 N и КОН 0,1 N осуществлена согласно Официальным методам Ассоциации официальных агрохимиков (ХОРВИЦ, 1960).

Результаты и дискуссии

Общие характеристики воска

В таблице 1 указаны общие характеристики желтого воска с Фиджи — сырьевого и очищенного — производимого европейской пчелой *Apis mellifera* Linne.

Средняя точка плавления очищенного воска составляла 67,25°C. Значение находится в средней области международных спецификаций пределов значений в 59,6—72°C для желтого воска (ПОНЧИНИ, 1987). Данная широкая гамма колебания температуры была сюжетом ряда традиционных споров (РУТ, 1951), несмотря на то, что точка плавления применяется в утверждении чистоты обработанного воска (Фармакопея США, 1947, 1950; Британская фармакопея, 1948, 1953; ПОНЧИНИ, 1987). ТАЛЛОЧ (1980) считает, что данные колебания объясняются различным составом воска.

Что касается точки плавления, наши данные позволяют нам утверждать относительно однообразный состав типов воска с о. Фиджи. Однако, химический анализ показывает в тех же образцах большие вариации значений для эфирных и кислотных чисел (табл. 2). Не получено достоверных точек плавления для сырьевых видов воска. Было трудно измерять их из-за большого количества содержащихся в них примесей (мед, пыльца и др.) (табл. 1).

Запах чистого воска трудно определить (ПОНЧИНИ, 1987). МАРТЕЛ (1929) утверждает, что у воска «слабо ароматный запах». ФЕРБЕР и НУРСТЕН (1977) идентифицировали 48 летучих компонентов, ассоциированных с ароматом воска.

Отмечено, что у видов фиджийского воска (табл. 1) сладкий запах (как у меда) для проб Лаутока А—С и слабо сладкий для проб с Насину, Наусори и Овалау. Запах воска с Лаутока соответствует запаху, указанному в Фармакопее США (1947, 1950), Британской Фармакопее (1948) и Британском фармацевтическом кодексе (1968, 1973).

Следует отметить также, что мед обнаружен во всех изученных пробах сырьевого воска, за исключением проб с Овалау (здесь были только следы меда) и проб с Насину (В) и Наусори, которые содержали пыльцу (табл. 1).

Цвет натурального воска варьирует очень сильно (ПОНЧИНИ, 1987). Фармакопея США (1947) считает, что желтый цвет пчелиного воска варьирует от «желтого до серо-коричневого» цвета. КУРВЕН (1936), ЛЕВКОВИЧ и ВАРБУРТОН (1968) и ФАДКЕ с сотр. (1969) считают, что такие вариации цвета зависят от внимания, уделенного экстрагированию и от корма, потребляемого пчелами. Показано, что каротиеноидные пигменты из пыльцы и прополиса придают также определенный цвет пчелиному воску (ВАНСЕЛЬ и БИССОН, 1935, 1940; ТИШЕР, 1940; ФАДКЕ с сотр., 1969; ГЕПБЭРН, 1968).

ГЕПБЭРН (1986) добавляет, что вариации цвета сота ассоциированы и с постепенным старением воска: воск свежей ячейки — светло белый, затем, по мере степени выращивания личинок воск темнеет, проходя через желтый, коричневый и темно-коричневый цвет. При изучении воска, происхождением из Пакистана, ЛАТИФ с сотр. (1960) отметили вариации цвета воска в зависимости от возраста сота, вида пчелы и географической зоны. Недавно, ПОНЧИНИ (1992) показал, что факторы географической среды играют важную роль в составе воска, происхождением с о. Фиджи. ЛАТИФ с сотр. (1960) рекомендуют исключение цвета из категории критериев оценки чистоты воска.

В настоящей работе сортам воска, происхождением с о. Фиджи приданы названия цветов, принятых в международном плане (табл. 1). Для одной пробы с Лаутока (С), одной с Насину (В) и Овалау не найдены названия официальных цветов. В работе не следили за возрастом применяемых сотов.

Флюоресценция

Пробы сырьевого воска с о. Фиджи изучены в длинных ультрафиолетовых волнах (200—400 нм). За исключением пробы Насину А (табл. 1) все пробы проявляли флюоресценцию. Пробы Насину В и Наусори проявляли голубую сильную флюоресценцию — явление, впервые указанное РАДЛИ (1932) и применяемое ШМИДТОМ (1972) как инструмент диагноза в оценке чистоты натурального воска.

Очищение воска привело к сокращению степени флюоресценции до слабой — в случае проб Насину В и до аннулирования в случае проб Наусори.

Отмеченная сильно голубая флюоресценция объясняется, вероятно, наличием поверхностных примесей воска. Омывание дистиллированной водой достоверно сократило интенсивность ультрафиолетового излучения.

Изучение восков с Насину В и Наусори способом ГРИБЕЛЯ (1931) доказало обильное наличие пыльцевых зерен. Можно предполагать, что кроме пыльцы, в пробах воска имеются и бесполое споры грибов — конидии (РУБИК, 1989). Более того, контроль воды из водяной бани для растапливания воска выявил присутствие краснокоричневого вещества — прополиса, используемого пчелами для укрепления, полировки и исправления сотов (ТОМСОН, 1924; БАРТОН и БАРТОН, 1969; ГИСАЛБЕРТИ, 1979; ГЕПБЭРН, 1986).

Пыльца из проб Насину В и Наусори видимо, ответственна за сильно голубую отмеченную флюоресценцию (табл. 1). В этом случае конидии считают как и пыльцу, так как и они сильно отражают в ультрафиолетовом излучении (ШОУ и РОБЕРТСОН, 1980).

Другим источником ультрафиолетового излучения являются флуоресцирующие цветочные пигменты. ГИСАЛБЕРТИ (1979) показал, что в природе растительного происхождения существуют вещества, обладающие флуоресценцией в ультрафиолетовом излучении. Таблица 1
ОБЩИЕ ПРИЗНАКИ ПЧЕЛИНОГО ВОСКА

Местность	Проба №	Точка плавления (°C) ^b	Цвет ^c	Запах ^{b d}	Примеси ^{a e}	Флюоресценция ^f
Лаутока	A ^a	68,0	14L9 (i)	1	H	W
Лаутока	B ^a	67,5	14L9 (i)	1	H	VW
Лаутока	C ^a	67,0	11D1 (iv)	1	H	W
Насину	A ^a	65,5	11L4 (ii)	2	H	N
Насину	B ^b	66,5	11D1 (iv)	2	(P ^a) b	(VS ^a) W ^b
Наусори	a	67,5	4I11 (iii)	2	P	(VS ^a) N
Овалау	b	68,5	11D1 (iv)	2	(H ^a) b	(W ^a) W ^b

a. Сырьевой воск

b. Растопленный, фильтрованный, очищенный воск (Таллоч и Гоффман, 1972)

c. Описание согласно Мерцу и Полю (1950), то есть, каждому цвету дают официальное название, затем следует год описания, например: (i) воск (светло-коричневый), 1927; (ii) желтый воск, 1805; (iii) медь, 1594 или кальцедония (красный как кровь), 1923; (iv) без официального названия цвета (воск желтый как солома);

d. На шкале: 1 — сладкий (как мед); 2 — слабо сладкий (Фармакопея США, 1950)

e. Микроскопический анализ пыльцы (P) (см. Грибель, 1923) и реакция Фелинг для меда (H) (см. Мани и Саундерс, 1956)

f. VS (очень сильная), W (слабая), VW (очень слабая), N (нулевая); в ультракоротких волна (200—400 нм) ультрафиолетовый свет; как стандарт — силикагель GF 254 (см. Шшидт, 1972)

Исследовательские работы показали, что пыльца характеризуется сложным составом. ГЕЙЛ (1923) например, обнаружил 27 веществ; в других работах же показано, что в пыльце обнаружено до 20 аминокислот (БЕЙБЕРДОРФ с сотр., 1961; КАУФФЕЛЬД, 1980).

ДЕБИ и ЭДВАРДС (1952) показали, что среди всех известных аминокислот только ароматические аминокислоты (тирозин, триптофан и фенилаланин) представляют флюоресценцию в ультрафиолетовом излучении. Данные кислоты дают голубую, характерную флюорес-

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ ДЛЯ ФИДЖИЙСКОГО ВОСКА В УБЫВАЮЩЕМ ПОРЯДКЕ СТЕПЕНИ ЧИСТОТЫ

Таблица 2

Местность (Проба №)	Вес (г)	Титр (мл)	Кислотное число ^f	Относительное изменение кислотного числа ^g (%)	Число омыления ^h	Относительное изменение числа омыления ⁱ (%)	Эфирное число ^b	Относительное изменение кислотного числа ^j (%)	Число отношения (RN) ¹	Относительное изменение числа отношения (RN) ¹
Насину (В)	1,6696 ^a 1,3853 ^b	1,31 ^d 1,08, 17,42	16,80 ^e 4,40 4,37	0,69	62,16 62,36	0,32	57,76 57,99	0,40	13,13 13,27	1,06
Овалау	1,0634 1,0725 ^b	0,88, 0,85, 18,15	18,15 4,64 4,45	4,27	61,99 61,46	0,86	57,35 57,01	0,60	12,36 12,81	3,51
Лаутока (В)	1,3244 (0,7981) ^c	0,98, (0,54, 18,70)	16,95 (3,80)	4,15 9,21	75,19 (63,26)	18,86	71,04 (59,46)	16,30	17,12 (15,65)	9,39
Насину (А)	1,3416 (0,8726)	0,95, (0,72, 18,15)	17,00 (4,63)	3,97 14,25	73,18 (75,52)	3,10	69,21 (70,89)	2,37	17,43 (15,31)	13,85
Лаутока (С)	1,8154 (0,8305)	1,22, (0,66, 18,50)	16,15 (4,46)	3,77 15,47	67,21 (67,55)	0,50	63,44 (63,09)	0,55	16,83 (14,14)	19,02
Наусори	1,2653 (0,8689)	0,92, (0,78, 18,40)	17,50 (5,04)	4,08 19,05	66,50 (67,79)	1,90	62,42 (62,75)	0,52	15,30 (12,45)	22,89
Лаутока (А)	1,4380 (0,5495)	1,10, (0,52, 19,05)	16,78 (5,31)	4,29 19,21	72,56 74,02	1,97	68,27 (68,71)	0,64	15,91 (12,94)	22,95

- a. Воск-сырье, не омытый
- b. Очищенный воск (см. табл. 1)
- c. Воск-сырье (омытый)
- d. Титр для спиртового раствора КОН 0,0418N
- e. Титр для спиртового раствора HCl 0,490N
- f. По Британской фармакопее, 1953
- g. То же самое, что и f; контроль $\times 25$ мл КОН, эквивалент 20,50 мл HCl
- h. По фармакопее США, 1947
- i. По Британскому фармацевтическому кодексу, 1968
- j. Выражение как $\left(\frac{\text{не омытый} - \text{омытый}}{\text{омытый}} \right) \times 100$ (см. Экшлагер, 1969)

ценцию, главным образом, благодаря тирозину и триптофану (ДЕБИ и ЭДВАРДС, 1952; ГРОССВЕЙНЕР, 1956). ВИНСОН (1927) сообщил о наличии тирозина в кукурузной пыльце.

Было отмечено, что воск не содержит аминокислот (ПОНЧИНИ, 1987). Изученные фиджийские сорта меда из сотов Насину В и Наусори не содержали ни одну ароматическую флюоресцентную аминокислоту (ПОНЧИНИ с сотр., 1983). Мед с Лаутока (В) содержал следы тирозина (ПОНЧИНИ с сотр., 1983), несмотря на то, что после очищения воска не отмечено никакого изменения флюоресценции. Возможным источником этой аминокислоты может быть мед, складываемый в ячейки с пыльцой (РУБИК, 1989).

Все это явно показывает, что остаточный мед, содержащийся в воске, главным образом в сотах с Насину В и Наусори, не способствует наблюдаемой яркой голубой флюоресценции (табл. 1). Видимо, наличие аминокислот скорее объясняется имеющейся в воске остаточной пыльцой.

Другим источником флюоресценции воска являются флавоноиды или цветочные пигменты. ГИСАЛБЕРТИ (1979) показал, что прополис и многие растительные смолы, собираемые пчелами и включенные в состав воска (РУБИК, 1979) содержат хризин (5—7-дигидроксифлавоон), а также другие флавоноидные пигменты. Данное вещество является одним из главных красителей воска (ЖОБЕР, 1927; БАРРЕ, 1942).

В пробах воска с Лаутока А—С и Овалау, до и после очищения, изменения флюоресценции были незначительными, несмотря на то, что первоначально явление было слабым. И проба Насину В представляла после очищения эту слабую флюоресценцию.

БАРРЕ (1942) отметил, что в тропических окрашенных пчелиных восках присутствовали следы хризина. Так как передача флюоресценции зависит от концентрации хризина (закон Беер-Ламбера, ФОГЕЛЬ, 1966) ожидается слабая флюоресценция.

Учитывая сказанное выше и данные таблицы 1 эту слабую остаточную флюоресценцию можно объяснить присутствием небольших количеств хризина, на которые очищение водой не влияет.

Предполагаем, что в пробах воска с Наусори, которые после очищения не проявляли флюоресценцию и в пробах с Насину А, концентрация хризина очень слабая, а голубая флюоресценция пробы сырого воска с Насину В объясняется наличием обнаруженных в пыльце ароматических аминокислот и хризина.

На Фиджи, основные семейства растений, возможных источников пыльцы и прополиса, содержащие хризин, следующие: *Rubiaceae*, *Rhamnaceae*, *Verbenaceae* (Лаутока); *Passifloraceae*, *Sopindaceae*, *Lythraceae* (Насину); *Lythraceae*, *Solanaceae*, *Clusiaceae* (Наусори); *Moraceae*, *Flarocarpaceae*, *Apacynaceae*, *Anacardiaceae*, *Euphorbiaceae* (Овалау) (ЛАУРЕНС, 1951; ПАРХАМ, 1972).

Омываемые и не омываемые воски

Процедура омывания пчелиного воска, представленная в Британском фармацевтическом кодексе (1968, 1973) не говорит ничего ни о

температуре, ни о качестве используемой воды. ИВАНОВСКИЙ (1941) сообщил, что при 100°C дистиллированная вода обеспечивает замечательное очищение воска.

Несмотря на простоту этого средства очищения, многие авторы его не применяли перед анализом воска. СТРАНСКИЙ с сотр., (1972) например, осуществили хроматографический анализ сырьевого воска. ТАЛЛОЧ (1971) и ИБРАГИМ с сотр. (1973) применяли горячую или холодную воду просто для удаления крупных примесей (меда и пыльцы). При этом не удалены смолы и другие примеси.

Ошибочное очищение воска может вести к ошибочным и отклоненным результатам, особенно в случае тонкослойной хроматографии или газовой.

ШМИДТ (1972), применяя тонкослойную хроматографию и флюоресценцию в ультрафиолетовом излучении отделил из чистого воска восемь компонентов с примесями. Нами отмечено, что данная хроматограмма была идентичной с хроматограммой ТАЛЛОЧА (1980). В свою очередь, хроматограмма ТАЛОЧЧА выявила основные составные части воска, полученного от медоносной европейской пчелы.

Интересно отметить, что ШМИДТ (1972) обнаружил две категории примесей. Семь пятен проявляли голубую флюоресценцию, вероятно, из-за наличия хризина, а одно пятно, неидентифицированное — вид желтой флюоресценции (ГАДЖ с сотр., 1951), возможно, это флавоноид (РУБИК, 1989).

В нашей работе по воскам с о. Фиджи все пробы сырьевого воска омывали холодной дистиллированной водой, а две пробы омывали еще и горячим кипятком, для сравнения эффекта примесей на значении омыления (табл. 2).

После омывания холодной дистиллированной водой, пробы воска с примесями от Лаутока В до Лаутока А в таблице 2 представляют драматическое изменение (до 200%) значений кислотного числа. И процент изменения числа отношения повышается пропорционально с процентом изменения кислотного числа. Отмечены колебания значений омыления и эфирного числа (табл. 2), но, видимо, на данные значения не влияет омывание, за исключением проб воска, покрытых растворимыми в воде примесями — главным образом, медом, содержащим большое количество кислот и эфиров. С другой стороны, очищенные пробы воска с Насину В и Овалау представляли только незначительные колебания кислотности (от 0,69 до 4,27%).

Данные колебания можно объяснять значительной абсорбцией гидроксида калия (Британская фармакопея, 1953) поверхностными примесями, например, мелом Лаутока В, представляющая после омывания низкое значение кислотного числа. Интересно отметить, что проба Лаутока В с наивысшим колебанием омыления и эфиров, содержала мед с самым высоким значением рН (ПОНЧИНИ и ВИММЕР, 1983).

Оказывается, что остальные пробы нечистого воска содержат, кроме меда, водорастворимую поверхностную неидентифицированную примесь. Это вещество предупредило полное омыление и после омывания способствовало повышению кислотного числа (табл. 2). И Наусори, которая была без меда, но имела пыльцу на поверхности, представляла высокое значение кислотного числа.

Для всех изученных нами проб воска число отношения было в 3—4 раза выше указанного в Британском фармацевтическом кодексе (1968, 1973). Данное колебание объясняется общей характеристикой фиджийских восков, а именно небольшим значением кислотного числа. Отмечено, что процент изменения числа отношения достоверно повысился (табл. 2) в случае проб воска, представляющих большее количество поверхностных примесей. Очищение воска кипятком дало наименьшие изменения числа отношения.

Выводы

В пробах неочищенного омыванием воска процент изменения кислотного числа и числа отношения повышается пропорционально с количеством примесей. В самых чистых пробах воска фиджийского, Насину В и Овалау, омывание кипятком выявило небольшие разницы кислотного числа, эфирного, числа отношения и числа омытия. Таким образом, можно предполагать, что имеющиеся в данных восках примеси характеризуются, вероятно, большей плотностью, чем воск и воскорастворимостью (ИВАНОВСКИЙ, 1941).

Изучение флюоресценции показало, что примеси, содержащиеся в фиджийских восках имеют два источника: пыльцу и флавоны. Главный флавоноид, хризин, который не экстрагируется ни холодной, ни теплой водой, ни методом растапливания, способствует легкой пигментации, отмеченной в случае очищенного воска (ФАДКЕ с сотр., 1969).

Выражение благодарности

Авторы благодарят г-на Д. АУТАРА от Министерства сельского хозяйства о. Фиджи и Ф. К. МэкГУИРА от Сен Джонс Коллеж, Овалау, за предоставление проб воска.

ЛИТЕРАТУРА

- BARRE, R. (1942) — Identification of the coloring matter of beeswax, *Rev. Can. Biol.* 1 : 485—490
- BEIBERDORF, F. W. ; A. L. GROSS ; R. WEICHLEN (1961) — Free amino acid content of pollen, *Ann. Allergy* 19 : 867—876
- The British Pharmacopoeia (1948) — London : Constable and Co., p. 705—709
- The British Pharmacopoeia (1953) — London : The Pharmaceutical Press, p. 754, p. 756
- British Pharmaceutical Codex, (1968) — *Yellow beeswax*. London : The Pharmaceutical Press, p. 64
- British Pharmaceutical Codex, (1973) — *Yellow beeswax*. London : The Pharmaceutical Press, p. 41
- BURTON, M. ; R. BURTON (Ed.) (1969) — Honeybee, in *The International Wildlife Encyclopedia*. Vol. 8. Great Britain : B.P.C. Publishing Ltd., pp. 1087—1090
- CURWEN, M. D. (1936) — *Chemistry in Commerce*. Vol. III. London : G. Newness Ltd. p. 909—914
- DEBYE, P. ; J. O. EDWARDS (1952) — A note on the phosphorescence of proteins, *Science* 116 : 143—144

- ECKSCHLAGER, K. (1969) — *Errors. Measurements and Results in Chemical Analysis*. London : Van Nortrand Reinhold, p. 10
- FERBER, C. E. M. ; H. E. NURSTEN (1977) — The aroma of beeswax, *J. Sci. Fd. Agric.* 28 : 511—518
- GAGE, T. B. ; C. D. DOUGLASS ; S. H. WENDER (1951) — Identification of flavonoid compounds by filter paper chromatography, *Anal. Chem.* 23 : 1582—1585
- GHISALBERTI, E. L. (1979) — Propolis : a review, *Bee World* 60 : 59—84
- GRIEBEL, C. (1931) — Microscopical pollen analysis of honey, *Z. Untersuch. Lebensm.* 61 : 241—306 ; *Vide ante.* 59 : 63—79 (1930), 59 : 441—471 (1930)
- GROSSWEINER, L. I. (1956) — Metastable states of photoexcited ovalbumin and constituents, *J. Chem. Phys.* 24 : 1255—1256
- HEPBURN, H. R. (1986) — *Honeybees and Wax*. Berlin : Springer-Verlag, pp. 47—48, 89—91
- HEYL, F. W. (1923) — Some constituents of ragweed pollen, *J. Am. Pharm. Assoc.* 12 : 669—676
- HORWITZ, W (Ed.), (1980) — *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, 9th Ed. The Association of Official Agricultural Chemists. Washington DC : Benjamin Franklin Station, p. 256, p. 694
- IBRAHIM, S. H. ; H. A. SELIM ; H. WISSA ; N. Z. SOLIMAN (1973) — Studies on beeswax properties, *Agric. Res. Rev.* 51 : 121—127
- IVANOVSKY, L. (1941) — Purification of crude beeswax, *Oil and Colour Trades J.* 100 :70—1, 74
- JAUBERT, G. F. (1927) — Origin of the yellow colour of beeswax, *Compt. Rend.* 185 : 405—406. *Quod vide* 184 : 1134—1136 (1927)
- KAUFFELD, N. M. (1980) — Chemical analysis of Louisiana pollen and colony conditions during a year, *Apidologie* 11 : 47—55
- LATIF, A. ; A. QAYYUM ; M. TUFAIL (1960) — Studies on Pakistan beeswax, *Bee World* 41 : 153—156
- LAWRENCE, H. M. (1951) — *Taxonomy of Vascular Plants*. New York : Macmillan
- LEWKOWITSCH, P. R. E. ; G. H. WARBURTON (1968) — *Beeswax*. Vol. 3. Encyclopaedia Britannica Inc., Chicago : William Benton Publishers, p. 381
- MAERZ, A. ; M. R. PAUL (1950) — *A Dictionary of Color*, 2nd Ed. New York : McGraw-Hill
- MANN, F. G. ; B. C. SAUNDERS (1956) — *Practical Organic Chemistry*, London : Longmans and Green and Co., p. 365
- MARTELL, P. (1929) — Beeswax, *Chem-tech. Rundschau.* 44 : 1108
- PARHAM, J. W. (1927) — *Plants of The Fiji Islands*. Revised Edition. Suva : The Government Printer
- PHADKE, R. P. ; S. K. SHAKUNTALA NAIR ; K. U. NANDEDKAR (1969) — Indian Beeswax. I. Their physico-chemical constant, *Indian Bee J.* 31 : 52—55
- The Pharmacopoeia of the United States of America (1947) — 13th Ed. Easton, PA : Mack Publishing Co., p. 647
- The Pharmacopoeia of the United States of America (1950) — 14th Ed. Easton, PA : Mack Publishing Co., p. 666

- PONCINI, L. ; F. L. WIMMER (1983) — The composition of some Fiji honeys, *Fiji Agric. J.* 45 (1) : 25—30
- PONCINI, L. ; F. L. WIMMER ; V. VAKAMOCE (1983) — The amino acid composition of some Fiji honeys, *Fiji Agric. J.* 45 (2) : 65—70
- PONCINI, L. (1987) — Beeswax — a review, *Indian Bee J.* 49 (1—4) : 16—25
- PONCINI, L. (1992) — A method for evaluating the effects of holocoenosis on the geographical distribution of beeswax formed by the hive bee. *Apis mellifera L., Apiacta XXVII* : 72—85
- RADLEY, J. A. (1932) — Fluorescence analysis of waxes, *Analyst* 57 : 626
- ROOT, H. H. (1951) — *Beeswax, its Properties. Testing. Production and Applications.* Brooklyn, New York : Chemical Publishing Co.
- ROUBIK, D. W. (1989) — *Ecology and Natural History of Tropical Bees.* Cambridge : Cambridge University Press, pp. 25—43
- SCHMIDT, H. (1972) — Thin layer chromatographic identification of genuine natural waxes, *Am. Cosmet. Perfum.* 87 : 35—39
- SHAW, D. E. ; D. F. ROBERTSON (1980) — Collection of *Neurospora* by honeybees, in *Trans. Br. Mycol. Soc.* 74 : 459—464
- SNELL, F. D. ; C. L. HILTON (1966) — *Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis.* Vol. 1. New York : Interscience, p. 347
- STRANSKY, K. ; K. UBIK ; M. STREIBL (1972) — On natural waxes XXIII. Hydroxy esters and free alcohols in the wax of the honeybee (*Apis mellifera L.*), *Collect. Czech. Chem. Commun.* 37 (12) : 4099—4105
- THOMSON, J. A. (1924) — Bee. In *The Illustrated Chambers's Enciclopaedia — A Dictionary of Universal Knowledge.* New Edition (Ed. D. Patrik and W. Geddie), Vol. II. London : W. and R. Chambers, p. 21
- TISHER, J. (1940) — Sources of the yellow pigment of beeswax, *Z. Physiol. Chem.* 267 : 14—22
- TULLOCH, A. P. (1971) — Beeswax : structure of the esters and their component hydroxy acids and diols. *Chem. Phys. Lipids* 6 : 235—236
- TULLOCH, A. P. and L. L. HOFFMAN (1972) — Canadian Beeswax : Analytical Values and composition of hydrocarbons, free acids and long chain esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 49 (12) : 697—699
- TULLOCH, A. P. (1980) — Beeswax composition and analysis. *Bee World* 61 (2) : 47—62
- VANSELL, G. H. and C. S. BISSON (1935) — Origin of color of western beeswax. *J. Econ. Entomol.* 28 : 1001—1002
- VANSELL, G. H. and C. S. BISSON (1940) — The characteristics, contaminants, processing and uses of beeswax. *U.S. Dept. Agr. Bur. Entomol. Plant Quarantine E-495* : 1—11
- VINSON, C. G. (1927) — Some nitrogen constituents of corn pollen *J. Ag. Research* 35 : 261—278
- VOGEL, A. I. (1966) — *A Text-book of Quantitative Inorganic Analysis Including Elementary Instrumental Analysis,* 3rd Ed. London : Longmans, p. 741