

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XVII, 4

SECTIO D

1962

Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej. Wydział Farmaceutyczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr farm. Henryk Nerlo

Henryk NERLO, Władysława SYKUT,
Maria PODGÓRSKA

**Wpływ niektórych emulgatorów na liczbę nadtlenkową oleju sojowego
w emulsjach**

**Влияние некоторых эмульгаторов на перекисное число соевого
масла в эмульсиях**

**The Effect of some Emulgators on the Hydroperoxide Value of Soybean Oil
in Emulsions**

Oznaczenie liczby nadtlenkowej tłuszczu wchodzącego w skład emulsji recepturowych sprawia duże trudności. Postanowiono więc dobrać odpowiednie metody złamania emulsji i przebadać wpływ niektórych emulgatorów na trwałość tłuszczu w emulsjach typu O/W, wykonanych ręcznie w mózdzierzu, nie homogenizowanych i homogenizowanych (1, 2, 4, 5). W badaniach posługiwano się olejem sojowym rafinowanym, przeznaczonym do celów spożywczych, wyprodukowanym w maju 1961 r. Emulgatorami były: guma arabska, Tween 20 i Tween 40 (5, 6, 7, 8, 12).

Proces utlenienia tłuszczu obserwowano codziennie w okresie jednego tygodnia i po upływie 17—18 dni. Równocześnie oznaczano liczbę nadtlenkową oleju, z którego została sporządzona emulsja oraz oleju wyizolowanego przez celowe rozdzielenie faz emulsji.

BADANIA WŁASNE

Skład i sposób wykonania emulsji

Emulsja z gumą arabską (3, 13):

Olej tłusty	10,0
Guma arabska	5,0
Woda	7,5
Woda	77,5

Razem 100,0 emulsji

10 cz. oleju sojowego rozcierano z 5 cz. gumy arabskiej i 7,5 cz. wody w moździerzu do chwili utworzenia się emulsji. Następnie stale mieszając dodawano porcjami pozostałą ilość wody do 100 cz.

Emulsja z Tweenem 20 (12):

Olej sojowy	30,0
Tween 20	5,0
Woda	35,0

Tween 20 ucierano z niewielką ilością oleju sojowego dodając na przemian olej i wodę. Ucierając w dalszym ciągu, dodawano pozostałą wodę. W ten sposób otrzymana emulsja była mleczno-biała o gęstości słodkiej śmietanki, trwała i nie rozdzielająca się na warstwy nawet po trzech tygodniach.

Emulsja z Tweenem 40:

Olej sojowy	30,0
Tween 40	5,0
Woda	35,0

Emulsję z Tweenem 40 przyrządzono podobnie jak z Tweenem 20. Miała ona tę samą konsystencję i trwałość. Emulsje z Tweenem 20 i 40 otrzymane metodą angielską nie były trwałe, gdyż rozdzielały się na dwie warstwy.

Emulsje otrzymane powyższymi sposobami dzielono na 2 części, jedną część homogenizowano, drugą ucierano jeszcze ręcznie w moździerzu przez określony czas i przechowywano w temp. 4°C i 21°C. Wielkość zemulgowanych kuleczek tłuszczu badano w lanametrze produkcji polskiej typu PZO Warszawa MP2 0199.

Złamanie emulsji

Na liczbę nadtlennokową mogą mieć wpływ następujące czynniki: obecność różnych odczynników, rozpuszczalniki tłuszczu, ich ilość, temperatura, obecność tlenu atmosferycznego i światło. Istnieje wiele sposobów postępowania, które nadają się do wydzielenia tłuszczu celem stwierdzenia jego zawartości wagowej w emulsji. Znacznie trudniej jest znaleźć metodę, która wydzielając tłuszcz nie zmieniałaby jego liczby nadtlennokowej. U manskij i Giengrinowicz (14) stosowali metodę polegającą na ekstrakcji oleju zawartego w emulsji eterem etylowym w obecności HCl.

W celu wyeliminowania wpływu temperatury Jauslin i Leupin (12) zastosowali ekstrakcję eterem naftowym na zimno. Olej nie ulegał całkowitej ekstrakcji i liczba nadtlennokowa nie zmieniała się. Metoda opracowana przez nich polegała na zmieszaniu w moździerzu emulsji z bezwodnym siarczanem sodu i eterem naftowym. Mieszaniną tą napełniali rurę chromatograficzną i dolewając ostatnie porcje eteru ekstrahowali pod ciśnieniem CO₂.

W naszych badaniach izolując olej z emulsji z Tweenem 20 i Tweenem 40 brano na 30 g emulsji 65—70 g bezwodnego siarczanu sodu. Mieszano w moździerzu i dodając następnie część eteru z odmierzonych

60 ml w dalszym ciągu mieszano. Mieszaniną tą napełniano rurę chromatograficzną o średnicy 3,5 cm i długości 29 cm, ubijając lekko pręcikiem szklanym. W zważeniu dolnym rury chromatograficznej umieszczono najpierw watę a na niej warstewkę czystego bezwodnego siarczuanu sodu. Dolewano pozostałą część eteru i po półgodzinnej ekstrakcji spuszczano eter powoli do erlenmajerki regulując zaciskaczem. Dolewano jeszcze 30 ml eteru do rury i ponownie zbierano wyciek. Eter naftowy odpędzano na łaźni wodnej o temperaturze 30°C, używając do destylacji próżniowej pompki wodnej.

Emulsję z gumą arabską w ilości 150 g, ze względu na dużą zawartość wody, wirowano 5 minut na wirówce elektrycznej i po oddzieleniu wody z emulsji postępowano jak wyżej. Bezwodny siarczan sodu użyty do napełniania rury chromatograficznej był suszony uprzednio w suszarce w temp. 100°C przez 2—3 godziny.

Przy większej ilości użytego do ekstrakcji eteru naftowego uzyskiwano około 75% oleju zawartego w emulsji.

Oznaczenie liczby nadtlenkowej

W pracy naszej posługiwaliśmy się: a) metodą oznaczania liczby nadtlenkowej według F. P. III (3) i b) metodą oznaczania liczby nadtlenkowej według Wheelera zmodyfikowaną przez Finholta i Hoppa (6).

Według metody Finholta 1 g tłuszczu miesza się z 20 ml chloroformu i 30 ml lodowatego kwasu octowego w kolbce stożkowej. Dodaje się 1 ml nasyconego roztworu jodku potasu i pozostawia na 3 minuty w ciemności. Następnie dodaje się 100 ml wody i miareczkuje 0,01 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ używając skrobii jako wskaźnika. Równolegle wykonuje się ślepa próbę z samymi odczynnikami. Zawartość nadtlenków określa się liczbą nadtlenkową, tj. ilością ml 0,01 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na 1 g tłuszczu.

Tabele 1, 2 i 3 wykazują zależność liczby nadtlenkowej od metody (3, 6, 9, 11), czasu trwania reakcji i ilości użytych odczynników. Każdy wynik podany w tab. 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 i 10 jest średnią z trzech oznaczeń.

Zmniejszona o połowę ilość odczynników powodowała obniżenie liczby nadtlenkowej. Zmiana odczynników wyrażała się również skokami liczby nadtlenkowej, dlatego też do serii badań używano jednych i tych samych odczynników oraz przestrzegano jednakowych warunków przy oznaczaniu. W toku dalszych badań przy oznaczaniu liczby nadtlenkowej stosowano metodę F. P. III. W przeliczeniu na 1 g oleju; ilości używanych odczynników wynosiły:

6,66 ml chloroformu, 10,0 ml lodowatego kwasu octowego i 0,33 ml wody.

Tab. 1. Liczba nadtlenkowa oleju sojowego oznaczana według metody F. P. III i metody Finholta wyrażona w ml 0,01n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na 1g oleju (temp. pokojowa 21°C).

	L i c z b a n a d t l e n k o w a	
	metoda F. P. III	metoda Finholta
1	0,67	1,10
2	1,53	1,87
3	1,63	2,10
4	1,67	2,20
5	1,72	2,25
6	2,63	3,01
7	2,78	3,11

W obu metodach ilość użytych odczynników była ta sama — różna była natomiast ilość oleju użytego do oznaczeń i czas trwania reakcji.

Tab. 2. Liczba nadtlenkowa oleju sojowego oznaczana według metody F. P. III z uwzględnieniem czasu trwania reakcji (1 minuta, 3 minuty) między nadtlenkami a jodkiem potasu wyrażona w ml 0,01n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na 1 g oleju (temp. pokojowa 21°C)

	L i c z b a n a d t l e n k o w a w g F. P. III	
	czas stania 1 min.	czas stania 3 min.
1	1,39	1,87
2	1,44	1,91
3	1,63	2,15
4	1,67	2,20

Tab. 3. Liczba nadtlenkowa oleju sojowego oznaczona według metody F. P. III z użyciem całkowitej ilości odczynników i połowy ilości, wyrażona w ml 0,01n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na 1 g oleju (temp. pokojowa 21°C)

	L i c z b a n a d t l e n k o w a w g F. P. III	
	całkowita ilość odczynników	połowa ilości odczynników
1	1,34	1,19
2	1,39	1,15
3	1,58	1,29
4	1,63	1,34
5	1,72	1,39

Wykonanie i badanie emulsji z Tweenem 20

a) Emulsje z Tweenem 20 przygotowano w ilości 210 g, rozlano do buteleczek i przechowywano dwa tygodnie w szafce (temp. 21°C) oznaczając codziennie przez jeden tydzień i po dwóch tygodniach liczbę nadtlenkową według metody F. P. III. Olej sojowy czysty przechowywany był w lodówce (temp. 4°C) i równolegle oznaczano jego liczbę nadtlenkową. Wyniki ilustruje tab. 4.

Tabela 4.

Ilość dni	Liczba nadtlenkowa wg F.P. III	
	olej czysty temp. przechowywania 4°C	olej z emulsji, temp. przechowywania 21°C
1	2,80	2,85
2	2,85	2,92
4	2,95	2,99
5	3,01	3,08
7	3,04	3,32
8	3,08	3,38
14	3,38	3,66

Uwaga: każdy wynik jest średnią z 3 oznaczeń. Np. liczba nadtlenkowa oleju w 4 dniu równa 2,95, poszczególne wyniki wynoszą 2,966; 2,966; 2,918.

Emulsja oglądana w lanametrze posiadała różne wielkości kuleczek od najmniejszych, ledwie widocznych, do dużych mających średnicę 45 μ .

b) Emulsję z Tweenem 20 w ilości 210 g poddano homogenizacji w ciągu 2,5 min.; drugą część w ilości 210 g ręcznie ucierano w młynku przez 1/2 godz. W ten sposób wykonane emulsje, jak również olej, z którego zostały sporządzone, przechowywano w szafce (temp. 21°C) i oznaczano równolegle liczbę nadtlenkową oleju czystego i oleju wyizolowanego. Wynik podaje tab. 5.

Z tabeli 5 wynika, że Tween 20 nie przyspieszył w ciągu 16 dni zwiększenia liczby nadtlenkowej oleju w emulsji ręcznie wykonanej, natomiast w przeciągu pierwszych 8 dni wykazał jak gdyby własności hamujące. Biorąc to pod uwagę należałoby wysnuć dalszy wniosek, że homogenizacja emulsji z Tweenem 20 w wyżej podanych warunkach powoduje wzrost liczby nadtlenkowej.

Wielkość cząsteczek w emulsji z Tweenem 20 a) homogenizowanej i b) ręcznie ucieranej, określona w lanametrze produkcji polskiej PZO, Warszawa M.P.2 0199 przedstawiała się jak na tab. 6.

Tabela 5.

Ilość dni przechowywania	L i c z b a n a d t l e n k o w a w g F. P. III		
	olej czysty temperatura przechowywania 21°C	olej z emulsji ręcznie wykonanej, temperatura przechowywania 21°C	olej z emulsji homogenizowanej, temperatura przechowywania 21°C
1	0,81	0,96	1,01
2	0,86	0,99	1,23
3	0,90	1,00	1,35
4	0,94	1,01	1,45
6	1,00	1,03	1,58
7	1,05	1,04	1,67
8	1,10	1,12	1,78
16	1,48	1,67	2,20

Tabela 6.

Ilość dni przechowywania	Emulsja homogenizowana	Emulsja ręcznie wykonana
w dniu wykonania	Równomierna od 2 μ —10 μ	Różne wielkości od 2 μ —30 μ
8	W polu widzenia pojawiają się większe kuleczki: 15 μ , 18 μ , 20 μ	40 μ —45 μ
16	20 μ , 25 μ , 32 μ i 35 μ	45 μ —60 μ

Wykonanie i badanie emulsji z Tweenem 40

a) Emulsję z Tweenem 40 w ilości 490 g podzielono na 2 części. 280 g poddano homogenizacji w ciągu 1,5 min. (3 razy przepuszczano przez homogenizator) a drugą część w ilości 210 g ucierano ręcznie przez 1/2 godziny. Tak przygotowane emulsje rozlano do buteleczek i przechowano.

Tabela 7.

Ilość dni przechowywania	L i c z b a n a d t l e n k o w a w g F. P. III		
	olej czysty temp. przechowywania 4°C	olej z emulsji ręcznie wykonanej, temp. przechowywania 21°C	olej z emulsji homogenizowanej, temp. przechowywania 21°C
1	3,12	3,16	3,19
2	3,18	3,44	3,47
3	3,22	3,53	3,58
4	3,25	3,64	3,68
5	3,38	3,76	3,94
6	3,47	4,00	4,04
7	3,53	4,11	4,1
9	3,66	4,29	4,33
15	4,29	4,99	5,28

wywano w szafce (temp. 21°C). Olej przechowywano w lodówce (temp. 4°C). W oleju czystym i z emulsji oznaczano równolegle liczbę nadtlenkową. Wyniki ilustruje tab. 7.

Wielkość cząsteczek zemulgowanych powyższych emulsji zbadano w lanametrze (tab. 8).

Tabela 8.

Ilość dni przechowywania	Emulsja z Tweenem 40 homogenizowana	Emulsja z Tweenem 40 ręcznie wykonana
w dniu wykonania	Emulsja równomierna od 2 μ do 25 μ . Te ostatnie występują w polu widzenia rzadko	Kuleczki różnej wielkości od 2 μ do 30 μ
9	Widoczne większe kuleczki oleju o średnicy 30 μ	30 μ , 35 μ , 40 μ
14	Widoczne kuleczki o średnicy 30 μ , 32 μ i 35 μ	35 μ , 40 μ jedna 50 μ w polu widzenia

b) 270 g emulsji z Tweenem 40 poddano homogenizacji przez 2,5 min., 220 g emulsji ucierano ręcznie przez 1/2 godziny. Olej czysty, z którego wykonano emulsje oraz obie emulsje przechowywano w szafce w temp. 21°C. W oleju i oleju z emulsji oznaczano równocześnie liczbę nadtlenkową. Wyniki ilustruje tab. 9.

Tabela 9.

Ilość dni przechowywania	L i c z b a n a d t l e n k o w a w g F. P. III		
	olej czysty temp. przechowywania 21°C	olej z emulsji ręcznie wykonanej, temp. przechowywania 21°C	olej z emulsji homogenizowanej, temp. przechowywania 21°C
1	0,94	1,04	1,19
2	0,96	1,14	1,29
4	1,05	1,20	1,39
5	1,12	1,25	1,44
6	1,17	1,29	1,5
7	1,26	1,33	1,66
8	1,30	1,37	1,78
17	2,01	2,53	2,90

Na podstawie przeprowadzonych badań, należy wysnuć wniosek, że Tween 40 w ciągu 17 dni spowodował bardzo niewielki wzrost liczby nadtlenkowej oleju w emulsji ręcznie wykonanej. Homogenizacja na-

tomiast zwiększała liczbę nadtlenkową oleju sojowego. Emulsje oglądane w lanametrze miały wygląd podobny do opisanych poprzednio.

Wykonanie i badanie emulsji z gumą arabską

Emulsję z gumą arabską w ilości 800 g poddano homogenizacji w ciągu 2,5 min. (dwa razy przepuszczano przez homogenizator). Drugą część w ilości 800 g ręcznie ucierano w ciągu $\frac{1}{2}$ godz. W toku badań przed wyizolowaniem oleju z emulsji poddawano ją wirowaniu przez 5 minut na wirówce elektrycznej. Po oddzieleniu wody postępowano jak z podanymi poprzednio emulsjami. Olej, z którego wykonano emulsję i otrzymane emulsje przechowywano w szafce (temp. 21°C). W określonym czasie oznaczano w oleju czystym, oraz w oleju wyizolowanym liczbę nadtlenkową. Wyniki podaje tab. 10.

Tabela 10.

Ilość dni przechowywania	L i c z b a n a d t l e n k o w a w g F. P. III		
	olej czysty temp. przechowywania 21°C	olej z emulsji ręcznie wykonanej, temp. przechowywania 21°C	olej z emulsji homogenizowanej, temp. przechowywania 21°C
1	0,57	0,76	0,97
3	0,59	1,05	1,13
4	0,62	1,12	1,22
5	0,63	1,15	1,25
6	0,63	1,19	1,31
7	0,64	1,26	1,37
17	0,82	1,42	1,61

Z powyższych danych wynika, że guma arabska nie pozbawiona enzymów powoduje znaczny wzrost liczby nadtlenkowej oleju w emulsji nie homogenizowanej, a w emulsji homogenizowanej w 17 dniu jest ona dwukrotnie wyższa niż równocześnie oznaczona liczba nadtlenkowa oleju czystego. Wielkość cząsteczek oleju w emulsji z gumą arabską po homogenizacji i ręcznie wykonanej określona została w lanametrze (tab. 11).

Tabela 11.

Ilość dni przechowywania	Emulsje po homogenizacji	Emulsja ręcznie wykonana
w dniu wykonania	do 2 μ i do 17 μ	różne wielkości od 2 μ do 25 μ
7	20 μ , 22 μ , 25 μ	30 μ , 35 μ
18	Widoczne są rzadko cząsteczki 30 μ	nieregularnych kształtów 40 μ , 45 μ

WNIOSKI

Złamanie emulsji polegało na zastosowaniu ekstrakcji eterem naftowym na zimno, w kolumnie chromatograficznej według metody Jauslina i Leupina. Przeprowadzone badania nad utlenianiem oleju sojowego oraz zemulgowanego w emulsji wykazały, że następuje ono z różną prędkością i to zarówno w olejach jak i emulsjach. Wpływ poszczególnych emulgatorów na wartość liczby nadtlenkowej jest różny. I tak np. Tween 20 w ciągu 16 dni nie przyspieszył wzrostu liczby nadtlenkowej w porównaniu ze wzrostem tej liczby oleju czystego przechowywanego w tych samych warunkach, a nawet w ciągu pierwszych 8 dni jak gdyby przeciwdziałał. Tween 40 powodował bardzo niewielki wzrost liczby nadtlenkowej oleju zemulgowanego. Homogenizacja tak przy emulsji z Tweenem 20, jak i Tweenem 40 powodowała znaczny wzrost liczby nadtlenkowej.

Pod wpływem gumy arabskiej nie pozbawionej enzymów liczba nadtlenkowa oleju zemulgowanego w emulsji ucieranej ręcznie już w pierwszym dniu była wyższa o 30%, liczby nadtlenkowej oleju, i dalej wzrastała. Liczba nadtlenkowa oleju z emulsji homogenizowanej w pierwszym dniu była wyższa o ok. 70% wartości liczby nadtlenkowej oleju, z którego została wykonana, a w 17 dniu była dwukrotnie wyższa, niż równocześnie oznaczona liczba nadtlenkowa oleju przechowywanego w tych samych warunkach co emulsja.

PIŚMIENNICTWO

1. Modrzejewski F.: Farmacja stosowana. PZWL, Warszawa 1957, 289, 300, 417.
2. Kieruczenkova A.: Emulsje farmaceutyczne i metylceluloza jako emulgator. Farm. Inst. Wyd. Naczelnej Izby Aptekarskiej, Łódź 1950, 7—15, 34.
3. Farmakopea Polska III. PZWL, Warszawa 1954, 193, 457.
4. Gilewicz J.: Emulsje. PWN, Warszawa 1957, 5.
5. Gołucki Z.: Substancje powierzchniowe czynne, najczęściej stosowane w farmacji. Farmacja Polska 16, 103—105, 131—133, 1960.
6. Finholt P.: Die Oxydation von Fetten in Emulsionen. Pharm. Acta Helv. 35, 333, 1960.
7. Janicki J., Kordyl T., Rutkowski A.: Wpływ związków miedzi, żelaza i cynku na zmniejszenie się trwałości smalcu. Roczniki PZH, 3, 470, 1952.
8. Krówczyński L.: Zawiesiny farmaceutyczne. Farmacja Polska 15, 97, 1959.
9. Bronisz H., Raciborska I.: Uwagi o metodach oznaczania liczby nadtlenkowej. Roczniki PZH, 5, 115, 1954.
10. Krauze S., Nikonorow M.: Artykuły żywności i przedmioty użytku. PZWL, Warszawa 1953, 130.
11. Furmanek C., Monikowski K.: Oznaczanie nadtlenków w tłuszczach metodą tytanową. Roczniki PZH. 4, 448, 1953.

12. Jauslin H., Leupin K.: Beitrag zur Untersuchung der Autoxydation emulgierter Öle. Pharm. Acta Helv. 35, 148—167, 217—237, 1960.
13. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Springer-Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg 1959, 540.
14. Umańskij Z. M., Giengrinowicz A. J., Timofiewa T.: Koli-czestwiennoje opredielenije masła w farmaceutycznych emulsijach. Aptiecz-noje dzieło 3, 39, 1954.

РЕЗЮМЕ

Авторы исследовали перекисное число соевого масла а также масла, выделенного из эмульсий, приготовленных с препаратом Tween 20, Tween 40 и арабским каучуком. Эмульсии приготавливались вручную, затем гомогенизировались и хранились вместе с маслом, из которого они приготавливались.

Среди примененных эмульгаторов наибольшее влияние на увеличение перекисного числа оказывает арабский каучук, незначительное — Tween 40, а Tween 20 не оказывает никакого влияния.

SUMMARY

The authors examined the hyperoxide value of pure soybean oil and of oils isolated from emulsions which were prepared with Tween 20, Tween 40 and gum arabic. The emulsions were concocted by hand, homogenized and preserved with the oil which was used for making them.

Among the emulgators gum arabic had the greatest effect on the increase of the hyperoxide value, that of Tween 40 was much slighter. With Tween 20 there was no effect at all.