

Ćwiczenie ocena jakości substancji pomocniczych o charakterze tłuszczu

Substancje pomocnicze pod względem jakościowym muszą odpowiadać kryteriom określonym w odpowiedniej monografii opisanej w Farmakopei Polskiej, Farmakopei Europejskiej lub innej farmakopei uznawanej w państwach członkowskich Unii Europejskiej. Substancje pomocnicze, których kryteria nie zostały określone w w/w sposób, muszą spełniać wymagania jakościowe zgodne z aktualnym stanem wiedzy, a bezpieczeństwo ich stosowania powinno być potwierdzone publikacjami w literaturze fachowej lub przeprowadzonymi eksperymentami.

WSTĘP

SUBSTANCJE POMOCNICZE SŁUŻĄCE DO NADANIA SUBSTANCJI LECZNICZEJ ODPOWIEDNIEJ POSTACI

POSTAĆ LEKU – preparat nadający się do bezpośredniego użycia

Preparat składa się z substancji leczniczej i substancji pomocniczych (sacharozy, glukozy, laktozy, skrobi pszenicznej), które służą do nadania substancji leczniczej odpowiedniej postaci.

SUBSTANCJA LECZNICZA

Substancja lecznicza jest to związek chemiczny stosowany w celu wywołania określonego działania leczniczego. Substancji leczniczej jako takiej stosować jednak nie można, trzeba jej nadać odpowiednią postać umożliwiającą dawkowanie i wprowadzanie do organizmu odpowiednimi drogami w celu wywołania działania miejscowego (nie wchłania się do krwiobiegu) lub ogólnego. Może być podawana także podawana w celach diagnostycznych i profilaktycznych

SUBSTANCJE POMOCNICZE

Substancje pochodzenia naturalnego lub syntetyczne (związki chemiczne) oraz ich mieszaniny wchodzące w skład postaci leku, które swoim działaniem nie wywierają wpływu farmakologicznego na organizm chorego, ani nie wchodzą w niepożądane reakcje wpływające na trwałość leku. Substancje pomocnicze w przeciwieństwie do **czynnych** stanowią tę część składników leku, która nie bierze udziału w poprawie jego stanu, ale może ułatwiać przyjęcie leku. Niektórych substancji (np. sacharoza, glukoza, galaktoza, skrobia pszeniczna, laktoza, aspartam) nie można stosować w określonych jednostkach chorobowych (lub można stosować tylko w ograniczonych ilościach).

Substancje pomocnicze w produkcie leczniczym:

- nadają właściwą postać leku,
- decydują o właściwościach fizycznych produktu leczniczego,
- zwiększają trwałość substancji leczniczej,
- poprawiają wygląd i smak leku,
- mają wpływ na szybkość uwalniania i wchłaniania substancji leczniczej (zwiększają jego biodostępność);

Wszystkie dopuszczone substancje pomocnicze, podstawowe wymagania jakościowe dla tych substancji oraz sposób ich opisywania w dokumentacji towarzyszącej wnioskowi o dopuszczenie do obrotu w Polsce produktu leczniczego określone są w *Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 16 stycznia 2003 r. w sprawie środków konserwujących, słodzących, barwników i przeciwutleniaczy, które mogą wchodzić w skład produktów leczniczych*.

Na terenie Unii Europejskiej przepisy regulujące dopuszczenie substancji pomocniczych określone jest w Dyrektywie 2001/83/EC z dnia 6 listopada 2001 r. w sprawie wspólnotowego kodeksu odnoszącego się do produktów leczniczych stosowanych u ludzi

Podział substancji pomocniczych

Rozpuszczalniki

- woda, etanol (monografia podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 8 Alkohole), benzyna

Podłoża maściowe

Podłożem maści nazywamy ten jej składnik bądź składniki, które nadają maści jej półstałą postać, stanowią środowisko, w którym umieszczone są substancje lecznicze. Podłożami maściowymi mogą być substancje o odpowiedniej konsystencji, dobrze rozsmarowujące się, nie wchodzące w reakcję z rozproszonymi w nich lekami. Podłoże nie powinno wywierać własnego działania farmakologicznego.

- tłuszcze roślinne i zwierzęce, wazelina, lanolina, olbrot (opracowane ćwiczenie), wosk, i inne

Podłoża do czopków

Podłoża czopkowe są substancjami, lub mieszaninami substancji, stanowiącymi środowisko, w którym umieszcza się substancję leczniczą. Ich zadaniem jest nadawanie czopkom odpowiedniego kształtu i właściwości, w związku z czym muszą wykazywać pewne cechy. Podłoża czopkowe nie mogą się topić w temperaturze pokojowej, ale jednocześnie muszą wykazywać małą różnicę w temperaturze topnienia i krzepnięcia (topnieć lekko ogrzane i krzepnąć szybko w temperaturze pokojowej). Muszą wykazywać lepkość, zapewniającą równomierne rozmieszczenie substancji leczniczej i zapobiegającą jej opadaniu na dno, w trakcie procesu technologicznego. Podłoża powinny wykazywać zjawisko kontrakcji, czyli zmniejszać objętości w trakcie krzepnięcia. Cecha ta jest szczególnie korzystna w produkcji czopków metodą wylewania, z wykorzystaniem form wielokrotnego użytku - czopki

zmniejszające się podczas krzepnięcia można łatwo wyjąć z formy, bez uszkodzenia. Dobrej jakości podłoża czopkowe powinny ponadto posiadać dobre właściwości emulgujące, wysoką trwałość na powietrzu i świetle oraz nie powinny drażnić błony śluzowej odbytnicy (chyba że jest to korzystne ze względów leczniczych).

- olej kakaowy (**opracowane ćwiczenie**), olej arachidowy, glicerydy, witepsol PEG i inne

Przeciwutleniacze (*antyoksydanty, antyutleniacze*) – grupa związków chemicznych, które same występując w małych stężeniach (w porównaniu z substancją podlegającą utlenianiu), wstrzymują lub opóźniają proces utleniania tej substancji. Każdy przeciwutleniacz może występować w roli prooksydanta.

- butylohydroksyanizol (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 9 Fenole), butylohydroksytoluen (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 9 Fenole), sodu formaldehydosulfoksylan, sodu siarczyn, propylu galusan,

Środki konserwujące Konserwant (środek konserwujący) – związek chemiczny lub mieszanina związków, powodująca przedłużenie przydatności do spożycia (lub trwałości) leków, produktów spożywczych i przemysłowych. Konserwanty mają za zadanie zapobieganie rozwojowi bakterii, grzybów i wirusów.

- etylu parahydroksybenzoesan (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 12 Estry), metylu parahydroksybenzoesan (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 12 Estry), propylu parahydroksybenzoesan (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 12 Estry), kwas benzoesowy i jego sól sodowa (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 10 Kwasy karboksylowe i ich sole),

Substancje wypełniające i adsorbujące

Środki wypełniające - używa się ich, jeśli masa substancji leczniczej jest zbyt mała, aby można było wykonać z niej tabletkę. Substancje te nie mogą mieć wpływu na działanie farmakologiczne leku zawartego w tabletkę. W celu rozcieńczenia substancji czynnej stosuje się najczęściej laktozę lub skrobię. Substancjami wypełniającymi mogą być także sacharoza, mannoza, glukoza.

Adsorbenty - ich zadaniem jest zapobieganie zawilgoceniu substancji leczniczej. Mogą stanowić jednocześnie substancję wypełniającą. - laktoza, skrobia ziemniaczana, pszeniczna, ryżowa, kukurydziana, sacharoza, glukoza, mannitol, celuloza mikrokrystaliczna, kaolin, krzemionka koloidalna, bentonit, glinika biała,

Substancje wiążące (zwilżające, lepiszcza)

- wiążą sproszkowany lek, zapobiegają przedwczesnemu rozpadowi się tabletek. Używa się ich na wstępnym etapie formowania tabletek - do przygotowania masy tabletkowej.

- woda, etanol (*Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 8 Alkohole), izopropanol, kleik skrobiowy, gumy (arabska, xantan), PVP, PVA, HPMC, etyloceluloza, celuloza i jej pochodne

Substancje rozsadzające

- przyspieszają proces rozpadu tabletek, zwiększając dostępność farmaceutyczną leku. Do tej grupy zalicza się również substancje pęczniejące w środowisku wodnym, powodujące zwiększenie się objętości tabletki po zażyciu. Do produkcji tabletek musujących, jako substancji rozsadzających, używa się mieszaniny kwasu organicznego i węgla. Po dostaniu się tabletki do wody zachodzi reakcja między użytym kwasem organicznym (winowym lub cytrynowym), a węglanem, w wyniku której wydziela się CO₂ obserwowany w postaci uwalniających się pęcherzyków gazu. Technologia ta jest wykorzystywana również do produkcji napojów gazowanych.

- organiczne: skrobia ziemniaczana, glikolan sodu, skrobia modyfikowana, celuloza mikorkrystaliczna, pochodne celulozy, pektyny, PVP, agar

- nieorganiczne: bentonit, aerosil, NaHCO₃, CaCO₃, kwasy organiczne: winowy, cytrynowy (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 10 Kwasy karboksylowe i ich sole)

Substancje utrzymujące wilgoć

Substancje utrzymujące wilgotność - substancje zapobiegające wysychaniu poprzez przeciwdziałanie wpływom atmosferycznym, posiadające niski stopień wilgotności lub ułatwiające rozpuszczanie się proszku w środowisku wodnym.

- skrobia, sorbitol (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 8 Alkohole), syrop cukrowy, mleczan sodowy, glicerol (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 8 Alkohole), glikol propylenowy

Substancje powlekające

- tworzące cienką warstewkę na powierzchni tabletki. Powlekanie stosuje się w celu:

- zwiększania odporności tabletek na czynniki zewnętrzne i tym samym ich trwałości,
- maskowania przykrego smaku lub zapachu składników tabletki,
- ułatwiania połykania,
- nadania koloru i estetycznego wyglądu,
- modyfikowania miejsca i czasu uwalniania substancji czynnej.

- sacharoza, żelatyna, polibursztynian żelatyny, poliakrylan, etyloceluloza, metyloceluloza,

Substancje przyspieszające wchłanianie substancji leczniczej (promotory sorpcji)

- kwasy tłuszczowe i glicerynowe, sole kwasów żółciowych, związki chelatujące (EDTA), IV-rzędowe sole amoniowe, salicylany, cyklodekstryny,

- sulfotlenek dimetylowy, kwas olejowy, terpeny, azon, mocznik, glikol propylenowy, etanol (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 8 Alkohole),

Substancje antystatyczne

- talk (monografia w opracowanym ćwiczeniu), stearynian magnezu i wapnia, laurylosiarczan sodu, makrogle (PEG 4000), laktoza, mannitol (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 8 Alkohole), IV-rzędowe sole amoniowe

Substancje poślizgowe i antyadhezyjne

używane przy sporządzaniu masy tabletkowej, do zmniejszenia tarcia między cząstkami proszku lub granulatu. Ułatwiają zsypywanie się masy do matrycy. Substancje te zmniejszają również przyczepność tabletek do matrycy, na której są prasowane.

- talk, skrobia, glikole polioksyetylenowe, stearynian magnezu lub wapnia, krzemionka

Surowce poprawiające smak

- olejki eteryczne: miętowy, cytrynowy
- drażetki powleka się cukrem i czekoladą

Surowce słodzące

- laktoza, mannitol, glicerol, sorbitol, maltoza, glukoza, ksylitol, sacharoza, fruktoza, cukier inwertowany (podręcznik *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych* Rozdział 8 Alkohole)

Surowce poprawiające zapach

- owocowe: malinowe, pomarańczowy
- korzenne: anyżkowy
- specyficzne: mięta pieprzowa

Celem ćwiczenia jest zapoznanie z metodami używanymi w ocenie jakości podłoży do maści i czopków o charakterze tłuszczu

Ocena jakości surowców o charakterze tłuszczu, wosków i olei

Podłoża tłuszczowe podczas przechowywania ulegają pod wpływem czynników zewnętrznych niepożądanym zmianom chemicznym i fizycznym. Zmiany te obniżają jakość samego podłoża jak i w licznych przypadkach zawartych w nim substancji aktywnych. Procesem wywołującym najbardziej destrukcyjne zmiany jest jęczenie tłuszczu lub wosków podczas, którego zachodzą reakcje hydrolizy, utleniania, polimeryzacji i inne. Reakcje te zachodzą pod wpływem tlenu, wilgoci, enzymów, mikroorganizmów i mogą być katalizowane przez światło, temperaturę i metale ciężkie.

Następstwem zachodzących procesów hydrolitycznych jest zwiększenie liczby kwasowej. W celu ograniczenia tego typu procesów stosuje się odwadnianie lub odkwaszanie podłoża.

W procesie starzenia podłoża poważną rolę odgrywają również reakcje utleniania. Proces ten zachodzi głównie w podłożach tłuszczowych, zawierających glicerydy nienasyconych kwasów tłuszczowych. Pod wpływem tlenu w wyniku polimeryzacji powstają związki wielkocząsteczkowe jak również małowcząsteczkowe jak aldehydy, ketony i ketonokwasy. Tworzenie się tych związków jest następstwem samoutleniania czyli autooksydacji. Miarą stopnia utlenienia jest liczba nadtlenkowa, wprowadzona przez Lea, nazywana też liczbą Lea. Utlenianie jest reakcją łańcuchową, a czynnikami przerywającymi ten proces są przeciwutleniacze (antyoksydanty). Ich działanie związane jest z potencjałem oksydoredukcyjnym, który powinien być niższy od potencjału oksydoredukcyjnego chronionej substancji. Przewodzący łatwiej się utleniają niż glicerydy kwasów tłuszczowych, zapobiegając lub opóźniając ich rozkład. Zastosowanie znalazły następujące przeciwutleniacze: tokoferol (witamina E), estry kwasu galusowego, butylohydroksytoluen (BHT), butylohydroksyanizol (BHA) i estry kwasu askorbowego (np. palmitynian, mirystynian). Występowanie naturalnych przeciwutleniaczy (tokoferoli) w olejach roślinnych tłumaczy ich większą odporność na jęczenie niż tłuszczu zwierzęcych. W celu zabezpieczenia tłuszczu, olejów i wosków przed utlenianiem należy również dążyć do ograniczenia dostępu tlenu i obniżenia temperatury przechowywania.

Bardzo ważną cechą podłoża jest jego zdolność wiązania wody (im większa tym większe znaczenie podłoża) wyrażona liczbą wodną. Woda jest składnikiem znacznej liczby produktów stosowanych w podłożach maściowych i czopkowych i ułatwia wnikanie ich składników w głąb skóry, a zatem też wpływa na skuteczność leku. Liczbę wodną można zwiększyć poprzez dodanie emulgatorów (np. lanolina, cholesterol, laurylosiarczan sodu, alkohole alifatyczne: cetylowy, stearynowy).

Ocena jakości tych surowców polega między innymi na potwierdzeniu ich tożsamości, czystości (w tym badania zawartości wody, straty masy po suszeniu, popiołu siarczanowego i inne specyficzne dla danego surowca) oraz oznaczaniu zawartości. Poniżej przedstawiono definicje i opis metod oznaczania najczęściej określanych parametrów świadczących o jakości i trwałości surowców o charakterze tłuszczu. Rodzaj analizowanych parametrów jest uzależniony od rodzaju badanego surowca..

Liczba wodna (I_w) jest wskaźnikiem zdolności trwałego wiązania wody przez podłoże maściowe mierzonym w g wody wiązanej przez 100 g podłoża.

Badanie wykonuje się w temp. 20°C. Do zważonej parownicy porcelanowej z pistlem dodaje się 25 g podłoża lub maści oraz ilość wody odpowiadającą 110% wynikającej z przewidywanej liczby wodnej. Następnie należy mieszać zawartość parownicy, aż cała objętość wody zostanie zemulgowana i pozostawić na 24 h. Wydzieloną po tym czasie wodę należy usunąć bibułą, a parownicę z zawartością zważyć.

Liczba kwasowa (I_A) jest to ilość miligramów wodorotlenku potasu potrzebna do zobojętnienia wolnych kwasów organicznych zawartych w 1,0 g badanego tłuszczu, oleju itp.

W tym celu ok. 10 g badanej substancji rozpuszcza się mieszaniną (1:1) etanolu (760 g/l) z eterem etylowym, uprzednio zobojętnionej mianowanym roztworem wodorotlenku potasu (0,1 mol/l) wobec fenoloftaleiny. Rozpuszczoną substancję miareczkuje się mianowanym roztworem wodorotlenku potasu (0,1 mol/l) do różowego zabarwienia utrzymującego się 1 min. 1,0 ml roztworu wodorotlenku potasu (0,1 mol/l) zawiera 5,61 mg wodorotlenku potasu (KOH).

Liczbę kwasową (mg) oblicza się z następującego wzoru:

$$I_A = \frac{V \cdot c \cdot 5,61}{m \cdot 0,1}$$

V – objętość roztworu mianowanego KOH, ml

c – stężenie roztworu mianowanego KOH, mol/l

m – odważka, g

Liczba estrowa (I_E) jest to ilość miligramów wodorotlenku potasu potrzebna do zmydlenia estrów zawartych w 1,0 g badanego olejku, balsamu itp.

W tym celu ok. 2,0 g badanej substancji rozpuszcza się w etanolu (760 g/l) uprzednio zobojętnionego (j.w.) i w razie potrzeby, po rozpuszczeniu, dalej zobojętnia do uzyskania różowego zabarwienia. Następnie dodaje się mianowanego etanolowego roztworu wodorotlenku potasu (0,5 mol/l) i ogrzewa pod chłodnicą zwrotną ok. 1,5 h na łaźni wodnej. Następnie po ochłodzeniu, nadmiar wodorotlenku potasu odmiareczkuje się mianowanym kwasem solnym (0,5 mol/l) do odbarwienia się roztworu. Równoległe należy wykonać próbę ślepą. 1,0 ml roztworu wodorotlenku potasu (0,5 mol/l) zawiera 28,05 wodorotlenku potasu (KOH). W przypadku tłuszczu liczbę estrową oblicza się jako różnicę między liczbą zmydlenia a liczbą kwasową.

Liczbę estrową po zacetylowaniu (A) oznacza się w przypadku badania olejków.

Reakcję acetylacji wykonuje się w kolbie do acetylowania, w obecności bezwodnika kwasu octowego, świeżo stopionego bezwodnego octanu sodu, ostrożnie ogrzewając mieszaninę reakcyjną pod chłodnicą zwrotną (1 h) utrzymując roztwór we wrzeniu. Po ochłodzeniu mieszaninę rozcieńcza się wodą i ogrzewa 15 min na łaźni wodnej. Po ochłodzeniu, przeniesieniu mieszaniny do rozdzielacza i rozwarstwieniu, warstwę wodną odrzuca się. Warstwę olejową przemywa się kilkakrotnie nasyconym roztworem chlorku sodu aż do zaniku kwasowego odczynu warstwy wodnej (warstwę wodną za każdym razem odrzuca się). Pozostały olejek należy osuszyć bezwodnym siarczanem sodu, przesączyć i następnie oznaczyć liczbę estrową. Procentową **zawartość wolnych alkoholi (Y)** oblicza się z wzoru:

$$Y = \frac{(C - A) \cdot M}{(560 - 0,42 \cdot C) \cdot n}$$

A – liczba estrowa olejku przed acetylowaniem

C – liczba estrowa olejku po acetylowaniu

M – masa cząsteczkowa alkoholu

n – ilość grup hydroksylowych w cząsteczce alkoholu.

Liczba hydroksylowa (I_{OH}) jest to ilość miligramów wodorotlenku potasu równoważnego ilości kwasu octowego, związanego w czasie acetylowania przez 1,0 g substancji.

W tym celu odważkę substancji poddaje się acetylacji mieszaniną acetylującą ogrzewając mieszaninę reakcyjną na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną (1 h). Po ochłodzeniu do temp. pok., chłodnicę przemywa się wodą i bezwodną pirydyną. Następnie mieszaninę ogrzewa się 10 min mocno wstrząsając, chłodzi do temp. pok. oraz przemywa chłodnicę i szlif etanolem (760 g/l) uprzednio zobojętnionym. Mieszaninę następnie miareczkuje się mianowanym etanolowym roztworem wodorotlenku potasu (0,5 mol/l) wobec fenoloftaleiny do różowego zabarwienia. Równoległe należy wykonać próbę ślepą. 1,0 ml roztworu wodorotlenku potasu (0,5 mol/l) zawiera 28,05 wodorotlenku potasu (KOH). Przy obliczaniu liczby hydroksylowej należy uwzględnić liczbę kwasową (K):

$$I_{OH} = \frac{28,05 \cdot (V_1 - V_2)}{m} + I_A$$

I_{OH} – liczba hydroksylowa

V_1 – objętość roztworu wodorotlenku potasu zużyta w próbie ślepej

V_2 – objętość roztworu wodorotlenku potasu zużyta w próbie badanej

m – odważka

I_A – liczba kwasowa.

Liczba jodowa (I₁) jest to ilość chlorowca obliczona w gramach jodu, która w określonych warunkach przyłącza się do 100,0 g badanego tłuszczu. Liczba jodowa określa stopień nienasycenia tłuszczu i jest proporcjonalna do liczby wiązań nienasyconych w cząsteczce. W tym celu próbkę badanego tłuszczu rozpuszcza się w chloroformie lub czterochlorku węgla, dodaje roztworu bromku jodu w kwasie octowym i natychmiast szczelnie zamyka korkiem zwilżonym kroplą jodku potasu. Zawartość kolby należy zmieszać powolnym ruchem kołowym i pozostawić w ciemnym miejscu na 30 min (przy liczbie jodowej do 100) lub 1 h (przy liczbie jodowej ponad 100). Następnie dodaje się roztworu jodku potasu i wodę (popłukując korek) i miareczkuje mianowanym roztworem tiosiarczanu sodu (0,1 mol/l), pod koniec miareczkowania dodając skrobi. Miareczkowanie kontynuuje się do odbarwienia roztworu utrzymującego się 1 min. Równoległe należy wykonać próbę ślepą. 1,0 ml roztworu tiosiarczanu sodu (0,1 mol/l) odpowiada 12,69 mg jodu (I₂).

W badaniu liczby jodowej odważka badanej substancji jest uzależniona od przewidywanej liczby jodowej i tak:

<u>Liczba jodowa</u>	<u>Odważka (g)</u>
0 – 30	1,100 – 0,700
31 – 50	0,701 – 0,500
51 – 100	0,501 – 0,250
101 – 150	0,251 – 0,150
ponad 150	mniej niż 0,150

Liczbę jodową (mg) oblicza się z następującego wzoru:

$$I_1 = \frac{(V_s - V) \cdot c \cdot 12,39 \cdot 100}{m \cdot 0,1 \cdot 1000}$$

V – objętość roztworu mianowanego Na₂S₂O₃ zużyta na zmiareczkowanie próby badanej, ml

V_s – objętość roztworu mianowanego Na₂S₂O₃ zużyta na zmiareczkowanie próby ślepej, ml

c – stężenie roztworu mianowanego Na₂S₂O₃, mol/l

m – odważka, g.

Liczba nadtlenkowa (I_p) jest to ilość milimoli aktywnego tlenu zawarta w 1,0 g tłuszczu, oleju itp. Wyrażana jest liczbą Lea. **Liczba Lea** określana jest przez ilość ml mianowanego roztworu tiosiarczanu sodu (0,002 mol/l), użytą do miareczkowania jodu wydzielonego z jodku potasu w wyniku działania nadtlenków zawartych w 1,0 g tłuszczu.

W tym celu ok. 5 g badanego tłuszczu rozpuszcza się w mieszaninie (3:2) kwasu octowego (1,05 kg/l) z chloroformem w temp. nie wyższej niż 50°C. Następnie dodaje się świeżo przyrządzony roztwór jodku potasu i kolbę natychmiast zamyka dokładnie wytrząsając roztwór. Do roztworu dodaje się wody i natychmiast miareczkuje mianowanym roztworem tiosiarczanu sodu (0,01 mol/l), po dodaniu skrobi, do całkowitego odbarwienia utrzymującego się 30 s. Równolegle należy wykonać próbę ślepą. Liczbę nadtlenkową (X) oblicza się z wzoru:

$$I_p = \frac{5 \cdot (a - b)}{c}$$

a – objętość roztworu tiosiarczanu sodu (0,01 mol/l) zużyta do miareczkowania

b – objętość roztworu tiosiarczanu sodu (0,01 mol/l) zużyta w próbie ślepej

c – odważka.

Oznaczenie należy wykonać chroniąc próbę przed światłem słonecznym.

Liczba zmydlenia (I_s) jest to ilość miligramów wodorotlenku potasu potrzebna do zmydlenia i zobojętnienia wolnych kwasów zawartych bądź powstałych przy rozkładzie 1,0 g badanego tłuszczu, wosku, balsamu itp. Liczba zmydlenia jest odwrotnie proporcjonalna do średniej masy cząsteczkowej kwasów tłuszczowych wchodzących w skład tłuszczu. Używana jest do charakterystyki tłuszczów różnego pochodzenia.

W tym celu ok. 2 g badanej substancji rozpuszcza się w mianowanym etanolowym roztworze wodorotlenku potasu (0,5 mol/l) i ogrzewa na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną, utrzymując 1 h we wrzeniu, co pewien czas wstrząsając. Gorący roztwór miareczkuje się mianowanym kwasem solnym (0,5 mol/l) wobec fenoloftaleiny (substancje jasno zabarwione) lub tymoloftaleiny (substancje ciemno zabarwione). Równolegle należy wykonać próbę ślepą. 1,0 ml etanolowego roztworu wodorotlenku potasu (0,5 mol/l) zawiera 28,05 mg wodorotlenku potasu (KOH).

Substancje niezmydlające się oznacza się poprzez 2-krotną ekstrakcję eterem mieszaniny otrzymanej w wyniku ogrzewania na łaźni wodnej, pod chłodnicą zwrotną (1 h we wrzeniu) ok. 2,5 g tłuszczu w etanolowym roztworze wodorotlenku potasu (100 g/l). Połączone wyciągi eterowe przemywa się na przemian 3-krotnie wodą i roztworem wodorotlenku potasu (28 g/l) i dalej ponownie wodą do zaniku odczynu zasadowego warstwy wodnej, po dodaniu fenoloftaleiny. Warstwę wodną odrzuca się, a eterową przenosi do odważonej kolby, oddestylowuje się eter i pozostałość suszy do stałej masy. Wysuszoną pozostałość rozpuszcza się w etanolu (760 g/l) uprzednio zobojętnionym wobec fenoloftaleiny i miareczkuje mianowanym roztworem wodorotlenku potasu (0,1 mol/l) do różowego zabarwienia. Oznaczenie należy powtórzyć jeśli zużyto więcej niż 0,20 ml mianowanego roztworu wodorotlenku sodu (0,1 mol/l).

Oznaczanie zawartości popiołu w olejach wykonuje się w tygliku platynowym lub kwarcowym, wyprażonym w temp. od 550°C do 650°C, schłodzonym i zważonym z dokładnością do 0,0001 g. Ok. 100 ml oleju umieszcza się w zlewce i waży z dokładnością do 0,05 g. Olejem ze zlewki napełnia się tygiel do połowy, umieszcza w nim knot bezpopiołowy i po nasyceniu zapala. Gdy pierwsza porcja oleju spali się, wówczas dodaje się do tygla następne porcje aż do opróżnienia zlewki, po czym zlewkę należy zważyć. Następnie tygiel praży się w temp. od 550°C do 650°C do stałej masy. Zawartość popiołu w procentach (x) oblicza się ze wzoru:

$$x = \frac{b - a}{c - d} \cdot 100$$

a – masa tygla

b – masa tygla z popiołem

c – masa zlewki z próbką badaną

d – masa zlewki po opróżnieniu.

Dopuszczalna różnica między dwoma równoległymi oznaczeniami nie powinna być większa niż 10% - przy zastosowaniu tygla platynowego, 5% - przy zastosowaniu tygla kwarcowego

**Wykonanie oznaczenia liczby kwasowej w
THEOBROMATIS OLEUM (Masło kakaowe)**

Liczba kwasowa

Do kolby stożkowej poj. 200 ml z doszlifowanym korkiem:

- odważyć dokładnie ok. 5 g oleju kakaowego
- dodać cylindrem 25 ml mieszaniny etanol (760 g/l) – eter etylowy (1:1)
- rozpuścić (ogrzewając na łaźni wodnej)

Roztwór miareczkować mianowanym roztworem wodorotlenku potasu (0,1 mol/l) do różowego zabarwienia utrzymującego się co najmniej 15 s.

1,0 ml roztworu wodorotlenku potasu (0,01 mol/l) zawiera 0,561 mg wodorotlenku potasu.

1,0 ml roztworu wodorotlenku potasu (0,1 mol/l) zawiera 5,61 mg wodorotlenku potasu.

Liczbę kwasową (mg) obliczyć z następującego wzoru:

$$I_A = \frac{V \cdot c \cdot 5,61}{m \cdot 0,1}$$

V – objętość roztworu mianowanego KOH, ml
c – stężenie roztworu mianowanego KOH, mol/l
m – odważka, g.

Obliczenia:

Wykonanie oznaczenia liczby jodowej w THEOBROMATIS OLEUM (Masło kakaowe)

Liczba jodowa

Liczba jodowa: od 34 do 40

Do kolby stożkowej z doszlifowanym korkiem poj. 200 ml:

- odważyć dokładnie ok. 0,6 g oleju kakaowego
- dodać cylindrem 10 ml chloroformu (chloru metylenu) i mieszać do rozpuszczenia
- dodać pipetą 20,0 ml roztworu bromku jodu (20 g/l) w kwasie octowym (1,02 kg/l) i kolbę natychmiast szczelnie zamknąć korkiem
- zmieszać zawartość kolby powolnym ruchem kołowym
- kolbę pozostawić w ciemnym miejscu na 30 min
- dodać cylindrem 15 ml roztworu jodku potasu (100 g/l),
- dodać zlewką 150 ml wody

Roztwór miareczkować roztworem mianowanym tiosiarczanu sodu (0,1 mol/l) stale energicznie mieszając aż żółte zabarwienie prawie zniknie.

Pod koniec miareczkowania dodać roztworu skrobi (10 g/l) i miareczkować do całkowitego odbarwienia utrzymującego się 1 min.

Wykonać próbę ślepą (bez zawartości oleju kakaowego).

1,0 ml roztworu tiosiarczanu sodu (0,1 mol/l) odpowiada 12,39 mg jodu.

Liczbę jodową (mg) obliczyć z następującego wzoru:

$$I_l = \frac{(V_s - V) \cdot c \cdot 12,39 \cdot 100}{m \cdot 0,1 \cdot 1000}$$

V – objętość roztworu mianowanego $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ zużyta na zmiareczkowanie próby badanej, ml

V_s – objętość roztworu mianowanego $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ zużyta na zmiareczkowanie próby ślepej, ml

c – stężenie roztworu mianowanego $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, mol/l

m – odważka, g.

Obliczenia:

Monografie substancji pomocniczych o charakterze tłuszczu wg FP XII

THEOBROMATIS OLEUM

Masło kakaowe

Cocoa butter; Cacao (beurre de)

DEFINICJA

Stały tłuszcz otrzymywany z prażonych nasion *Theobroma cacao* L.

WŁAŚCIWOŚCI

Wygląd: żółtawobiała, stała masa.

Rozpuszczalność: substancja łatwo rozpuszczalna we wrzącym bezwodnym etanolu i w eterze naftowym, trudno rozpuszczalna w etanolu (96%)

Gęstość względna: ok. 0,895 w temp. 40°C

Współczynnik załamania światła: ok. 1,457 w temp. 40°C

TOŻSAMOŚĆ

- A. Temperatura topnienia (2.2.15): od 31°C do 35°C.
Umieścić 10 substancji badanej w zlewce i stopić w temp. 55°C. Ochłodzić w łaźni wodnej do temp. 25°C i kontynuować mieszanie do otrzymania konsystencji zbliżonej do pasty, unikając powstawania pęcherzyków powietrza. Umieścić zlewkę w łaźni wodnej o temp. 32-33°C. Kontynuować mieszanie ok. 30 minut dopóki substancja nie osiągnie temperatury łaźni wodnej i zmieni się w płynny krem. Przenieść do innej zlewki i pozostawić do zestalenia w temperaturze pokojowej co najmniej 2h. Umieścić substancję badaną w kapilarze i pozostawić co najmniej 48h w temp. 2-8°C.
- B. Skład kwasów tłuszczowych (patrz „Badania”)

BADANIA

Liczba kwasowa (2.5.1); nie więcej niż 4,0

Liczba nadtlenkowa (2.5.5, metoda A); nie więcej niż 3,0

Roztwór skrobi OD musi zostać dodany przed rozpoczęciem miareczkowania.

Liczba zmydlenia (2.5.6): od 188 do 198; do wykonania badania użyć 2,5 g substancji badanej.

Zanieczyszczenia zasadowe

Mieszanina rozpuszczalników: Uzpełnić 15 mL *wody OD* *acetonem OD* do 500 mL i zmieszać. dodać 2,5 mL roztworu (1g/L) *błękitu bromofenolowego OD* w *etanolu (50% V/V)* od i zmieszać ponownie. Jeżeli roztwór jest niebieski lub żółty zamiast zielonego, zobojętnić odpowiednio *kwasem solnym (0,01 mol/L) RM* lub roztworem *wodorotlenku sodu (0,01 mol/L) RM*, do otrzymania zielonego roztworu.

Stopić 50 g substancji badanej w temperaturze ok. 50°C i dokładnie zmieszać. Umieścić 10,0 g stopionej substancji w kolbie stożkowej poj. 150 mL mieszaniny rozpuszczalników. Zmieszać energicznie i pozostawić do rozdzielania 2 warstw. Do zmiany zabarwienia górnej warstwy na żółte zużywa się nie więcej niż 2 mL *kwasu solnego (0,01 mol/mL) RM*; zabarwienie musi się utrzymywać po energicznym zmieszaniu.

Skład kwasów tłuszczowych. Chromatografia gazowa (2.4.22 metoda C) z następującymi zmianami.

Użyć mieszaniny substancji kalibrujących z tabeli 2.4.22.-1.

Kolumna:

- *materiał*: stopiona krzemionka, szkło lub kwarc;
- *wymiary*: długość 30 m; średnica wewnętrzna 0,32 mm;
- *faza nieruchoma*: *makrogol 20 000 OD* (grubość warstwy 0,25 µm).

Gaz nośny: *hel do chromatografii OD*

Szybkość przepływu: 1,3 mL/min

Stosunek strumienia dzielonego: 1:50

Temperatura:

	Czas (min)	Temperatura (°C)
Kolumna	0 – 15	70 → 205
	15 – 25	205
	25 – 27,5	205 → 230
	27,5 - 50	230
Dozownik próbki		250
Detektor		250

Detekcja: *płomieniowo-jonizacyjna*.

Wprowadzenie: 0,5 µL

Skład frakcji kwasów tłuszczowych substancji:

- *kwas laurynowy*: nie więcej ni 0,5%
- *kwas mirystynowy*: nie więcej niż 0,5%
- *kwas palmitynowy*: od 24,0% do 31,0%
- *kwas stearynowy*: od 30,0% do 38,0%
- *kwas oleinowy*: od 31,0% do 38,0%
- *kwas linolowy*: nie więcej niż 4,5%
- *kwas arachidowy*: nie więcej niż 1,5%

PRZECHOWYWANIE

W hermetycznym pojemniku, chroniąc od światła, w temperaturze nie wyższej niż 25°C.