

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JANJA JAMNIK

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI
PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JANJA JAMNIK

**VPLIV DODANIH ANTIOKSIDANTOV NA IZBOLJŠANJE
FIZIKALNO-KEMIJSKIH LASTNOSTI VAZELINA PO
TEMPERATURNIH OBREMENTVAH**

**THE EFFECT OF ADDED ANTIOXIDANTS TO IMPROVE
PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF WHITE
PETROLATUM AFTER TEMPERATURE STRESS**

Ljubljana, 2016

Magistrsko nalogo sem opravljala v Leku d. d., Sandozovem Razvojnem centru Slovenija, na oddelku Farmacevtska tehnologija in oddelku Prototipna analitika pod mentorstvom prof. dr. Janeza Kerča, mag. farm. in somentorstvom dr. Javorja Kaca, mag. farm.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Janezu Kerču, mag. farm. za možnost opravljanja magistrske naloge v farmacevtski družbi Lek d.d.

Za strokovnost in usmerjanje magistrske naloge se zahvaljujem delovnemu mentorju dr. Mihi Homarju, mag. farm. ter somentorju dr. Javorju Kacu, mag. farm.

Za pomoč, razlage, nasvete, prijaznost in prijetno družbo na Leku se zahvaljujem delovnemu kolektivu ter študentom iz naših in tujih fakultet.

Zahvaljujem se tudi družini za moralno in finančno podporo v vseh letih študija. Prijateljicam pa en velik hvala, za vse spodbudne besede in nepozabna druženja.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Janeza Kerča, mag. farm. in somentorja dr. Javorja Kaca, mag. farm.

Ljubljana, september 2016

Janja Jamnik

Predsednik komisije: prof. dr. Janko Kos

Član komisije: doc. dr. Tihomir Tomašič

KAZALO VSEBINE

KAZALO SLIK	VI
KAZALO PREGLEDNIC	VII
POVZETEK.....	VIII
ABSTRACT	IX
SEZNAM OKRAJŠAV	X
1 UVOD	1
1.1 VAZELIN	1
1.1.1 Zgodovina.....	1
1.1.2 Pridobivanje.....	2
1.1.3 Sestava in lastnosti	2
1.1.4 Uporaba	3
1.1.5 Farmakopejski predpisi	4
1.1.6 Stabilnost	4
1.2 REOLOGIJA	5
1.2.1 Viskoelastične lastnosti snovi.....	7
1.2.2 Vrste reometrov	8
1.2.3 Oscilatorni test.....	10
1.2.4 Rotacijski test	10
1.3 ANTIOKSIDANTI	11
1.3.1 Definicija	11
1.3.2 Lipidna peroksidacija	11
1.3.3 Vitamin E.....	11
1.3.4 Butilhidroksitoluen (BHT) in butilhidroksianizol (BHA).....	14
2 NAMEN DELA	16
3 MATERIALI IN METODE	17

3.1	MATERIALI	17
3.1.1	Beli vazelin	17
3.1.2	α -tokoferol	18
3.1.3	Butilhidroksitoluen (BHT)	18
3.1.4	Reagenti	18
3.1.5	Naprave in pripomočki	19
3.1.6	Laboratorijski pribor	20
3.2	METODE	20
3.2.1	Obdelava vazelinov	20
3.2.2	Dodatek antioksidantov vazelinom	20
3.2.3	Stabilnost vazelinov	21
3.2.4	Mazljivost	21
3.2.5	Slikanje	21
3.2.6	Reologija	22
3.2.7	Potenciometrična titracija	23
3.2.8	Tekočinska kromatografija	24
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	25
4.1	Mazljivost	25
4.2	Slikanje	29
4.3	Reologija	35
4.4	Določanje peroksidnega števila	39
4.5	Določanje vsebnosti α -tokoferola in BHT s tekočinsko kromatografijo	41
5	SKLEP	43
6	LITERATURA	45

KAZALO SLIK

Slika 1: Tokovne krivulje newtonskih in ne-newtonskih tekočin.....	6
Slika 2: Geometrije reometrov: a) sistem koaksialnih valjev, b) sistem stožec-plošča, c) sistem dveh vzporednih plošč.....	9
Slika 3: Kemijska struktura tokoferolov in tokotrienolov.	12
Slika 4: Kemijska struktura a) butilhidroksitoluena in b) butilhidroksianizola.....	14
Slika 5: Mazljivost neobdelanih in obdelanih vzorcev vazelinov (1–8) po 15 minutah z 2 kg utežjo.	25
Slika 6: Mazljivost vzorcev vazelina 1, 2 in 8 z dodanima antioksidantoma (ATF, BHT) po 15 minutah z 2 kg utežjo.	27
Slika 7: Mazljivost vazelina 2 pred in po trimesečnem staranju pri različnih temperaturah.	29
Slika 8: Mazljivost vazelina 8 pred in po trimesečnem staranju pri različnih temperaturah.	29
Slika 9: Rezultati za zeleni kanal pri slikanju neobdelanih in obdelanih vzorcev posameznega vazelina.	32
Slika 10: Vrednosti zelenega kanala pri vazelinu 8.	35
Slika 11: Vrednosti elastičnega (G') in viskoznostnega (G'') modula neobdelanega in obdelanega vazelina 5.....	36
Slika 12: Vrednosti elastičnega (G') modula neobdelanih in obdelanih vzorcev vazelinov pri $\tau = 40,57$	37
Slika 13: Vrednosti viskoznega (G'') modula neobdelanih in obdelanih vzorcev vazelinov pri $\tau = 40,57$	37
Slika 14: Vrednosti elastičnega modula (G') vazelina 1, 2 in 8.....	38
Slika 15: Vrednosti viskoznega modula (G'') vazelina 1, 2 in 8.	38

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Beli vazelini, ki smo jih preučevali.	17
Preglednica II: Uporabljeni antioksidanti.	18
Preglednica III: Reagenti za potenciometrično titracijo.	19
Preglednica IV: Naprave in pripomočki za vrednotenje vazelina.	19
Preglednica V: Pogoji za določanje vsebnosti antioksidanta s HPLC/UPLC metodo.	24
Preglednica VI: Ujemanje rezultatov vazelinov glede na barvne kanale z dvostranskim testom ANOVA.	30
Preglednica VII: Rezultati barve neobdelanih in obdelanih vzorcev vazelinov z enostranskim testom ANOVA.	31
Preglednica VIII: Povezava med petrijevkami (A, B in C) v barvnih kanalih z enostranskim testom ANOVA.	33
Preglednica IX: Rezultati barve vazelina 8 z enostranskim testom ANOVA.	34
Preglednica X: Peroksidna števila in standardna deviacija neobdelanih in obdelanih vazelinov ter vazelinov z dodanimi antioksidanti.	40
Preglednica XI: Začetno peroksidno število in peroksidno število po treh in šestih mesecih za vazelina 2 ter 8, ki sta bila izpostavljena različni temperaturi.	41
Preglednica XII: Koncentracije (v ppm) antioksidanta α -tokoferola v vzorcih.	42
Preglednica XIII: Koncentracije (v ppm) antioksidanta BHT v vzorcih.	42

POVZETEK

Uporaba vazelina je precej razširjena v kozmetični in farmacevtski industriji, saj izkoriščata njegove učinke, ki omogočajo zadrževanje vlage na koži in jo mehčajo. Pri izdelavi dermalnih pripravkov je vazelin podvržen velikim temperaturnim stresom, kar vpliva na njegove fizikalno-kemijske lastnosti. Namen magistrske naloge je bil ugotoviti fizikalno-kemijske lastnosti belega vazelina, izpostavljenega temperaturnim obremenitvam in staranju pri različnih temperaturah. Preverjali smo tudi vpliv dodatka antioksidanta na vazelin po temperaturnih obremenitvah. Fizikalne lastnosti smo ovrednotili z znanima metodama mazljivosti in reologije, za ugotavljanje barve pa smo razvili oziroma izpopolnili prejšnjo metodo slikanja. Kemijske lastnosti vazelina smo preverjali z določanjem peroksidnega števila in z vsebnostjo antioksidantov.

Z metodo mazljivosti smo ugotovili, da se po temperaturni obdelavi vazelinom brez ali z dodanim antioksidantom (α -tokoferol ali butilhidroksitoluen) mazljivost zmanjša. Zanimalo nas je tudi, kaj se zgodi, če vazelin hranimo določen čas v temnem prostoru pri različnih temperaturah. Tem vazelinom se je mazljivost manjšala z višanjem temperature shranjevanja.

Z metodo slikanja smo zaznali spremembo barve pri zelenem kanalu med neobdelanimi in obdelanimi vazelini. Vrednosti zelenega kanala so se pri obdelanih vazelinah povečale. Reološke lastnosti smo izmerili z oscilacijskim testom pri konstantni frekvenci. V območju linearnega viskoelastičnega odziva smo pri določeni strižni napetosti primerjali dinamična modula. Temperaturno obdelanim vazelinom brez in z dodanim antioksidantom sta se modula elastičnosti in viskoznosti povečala.

Vsem vzorcem vazelinov pred in po temperaturni obdelavi, kot tudi vsem staranim vzorcem, smo določili peroksidno število s potenciometrično titracijo. Rezultati so zadovoljivo nizki pri vseh testiranih vzorcih.

S tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti smo določili koncentracije antioksidantov v dveh izbranih vazelinah po staranju in ugotovili, da se vsebnost ni spremenila.

Z uporabljenimi testi in metodami nismo uspeli dokazati vpliva antioksidanta na fizikalno-kemijske lastnosti vazelina. Uspešno pa smo dokazali razliko med temperaturno neobdelanimi in obdelanimi vazelini ter med neobdelanimi vazelini in vazelini po staranju.

ABSTRACT

White petrolatum is widespread in both cosmetic and pharmaceutical industry, because of its moisturizing and soothing effect on the skin. During the production of skin-care products, white petrolatum undergoes significant temperature stress, which affects its physico-chemical properties. The purpose of this thesis was to determine the physico-chemical properties of white petrolatum after temperature stress and its aging under different temperatures. We also tested the effect of antioxidant addition after temperature stress. Physical properties were tested rheometrically and through the method of spreadability, while for colour determination, we developed and improved the photographic method. The chemical properties of white petrolatum were evaluated by determining its peroxide count and antioxidant quantity.

With the spreadability method we determined that white petrolatum spreads less with or without the added antioxidant (α -tocopherol or butylhydroxytoluene). We were also interested in changes that occur, when we store white petrolatum in a dark space under different temperatures for a certain time. In this case, the spreadability of white petrolatum decreased with increasing temperature.

Using the photographic method, a change in colour in the green channel was detected between processed and unprocessed petrolatum. The values in the green channel increased with the processed petrolatum. The rheological characteristics were measured by using the oscillation test at a constant frequency. In the area of linear viscoelasticity we compared the shear strength of the dynamic modules. The modules of elasticity and viscosity increased in processed petrolatum with or without antioxidant addition.

We determined the peroxide count to all samples of petrolatum prior and after temperature tests as well as the aged samples, by using the potentiometric titration. The results were surprisingly low with all tested samples.

By using high performance liquid chromatography we evaluated the antioxidant concentration in two selected petrolatum samples after aging and determined that its quantity has not changed.

With all the tests and method used we were unable to show any effect of antioxidant on the physical and chemical properties of white petrolatum. We were however able to determine the difference between processed and unprocessed petrolatum and between unprocessed and aged petrolatum.

SEZNAM OKRAJŠAV

ANOVA	analiza variance
ATF	α -tokoferol
BHA	butilhidroksianizol
BHT	butilhidroksitoluen
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (high-performance liquid chromatography)
LVO	linearni viskoelastični odziv
ppm	število delcev na milijon (parts per milion)
rpm	obrati na minuto (revolution per minute)
SZO	Svetovna zdravstvena organizacija
UPLC	tekočinska kromatografija ultra visoke ločljivosti (ultra-high-pressure liquid chromatography)

1 UVOD

1.1 VAZELIN

1.1.1 Zgodovina

Leta 1859 je 22-letni ameriški kemik iz Brooklyna, Robert Augustus Chesebrough, potoval v Titusville, majhno mesto v Pennsylvaniji, kjer se je nahajalo eno prvih naftnih črpališč v ZDA. Zanimal ga je stranski produkt nafte, nadležna voskasta snov, ki so jo delavci uporabljali pri urezninah in opeklinah, saj so menili, da pospeši celjenje. Delavci sicer niso marali te črne viskozne, parafinu podobne snovi, saj jim je povzročala težave z mašenjem črpalk. Chesebrough je iz radovednosti s seboj odnesel nekaj kozarcev te snovi in začel z njo eksperimentirati. Po nekaj mesecih je dobil sprejemljiv in koži prijazen ekstrakt. Po petih letih izpopolnjevanja destilacije je leta 1865 patentiral proces izdelave vazelina: trojno prečiščevalno tehniko, ki je vključevala filtracijo in destilacijo. Ta je vazelin očistila in mu odstranila vse zračne mehurčke. (1, 2)

Več kot desetletje je izvajal procese ekstrakcije in čiščenja, preden je predstavil svoj izdelek »Wonder jelly« ameriški javnosti. Leta 1870 je ustanovil svoje podjetje v Brooklynu. V tem času je potoval po New Yorku in širil besede o čudežnem izdelku, katerega učinke je dokazoval na sebi. Kisline si je polil po koži ali se opekel s plamenom, nato pa na rano mazal vazelin in primerjal s prejšnjimi poškodbami, kako so se zacelile. Delavcem, ki so utrpeli poškodbe na delovnem mestu, je nudil pomoč, saj je vazelin pripomogel k hitrejšemu celjenju ran in zmanjšanju bolečin. (1, 2)

Čeprav je ime izdelka »Wonder jelly« lepo zvenelo, ga je Chesebrough leta 1872 patentiral kot Vaseline® (registrirana blagovna znamka podjetja Unilever). Obstajata dve teoriji o izvoru tega imena. Prva teorija pravi, da ime izhaja iz nemške besede za vodo »wasser« in grške besede za nafto »elaion«. Druga teorija pa pravi, da izhaja iz angleške besede za vazo »vase«, kajti ko mu je primanjkovalo posode za shranjevanje vazelina, je uporabil ženske vaze. (1)

Le dve leti po registraciji naziva Vaseline® se je izdelek prodajal po vsej ZDA. Vazelin se je našel v shrambi vsakega gospodinjstva. Uporabljal se je pri blaženju pleničnih

izpuščajev, pri zelo suhi, razpokani koži in za zaščito pred mrazom. V tistem času so poznali tri vrste vazelina glede na stopnjo čistosti. Beli vazelin se je uporabljal v medicinske namene in kot hladilno mazilo, rumeni v farmacevtski industriji kot mazilna podlaga in v frizerstvu, najmanj prečiščen rdeči pa za veterinarske namene, ohranjanje lesa in usnja ter kot lubrikant. Uporaba vazelina se je hitro širila na druge celine, zato je Chesebrough leta 1904 proizvodnjo preselil v veliko večjo tovarno v Perth Amboyu, New Jersey, ZDA. Leta 1911 je ustanovil tovarne tudi po Evropi, Kanadi in Afriki. (1–3)

Med prvo svetovno vojno, leta 1917, je vazelin imelo s seboj na tisoče ameriških vojakov. Vazelin je bil pakiran v aluminijaste tube, enostavne za uporabo. Olajšal je težave pri modricah, urezninah in opeklinah, ki so bile posledica napadov z bojnimi plini. Zaradi odsotnosti antiseptikov in sanitarnih pogojev je vazelin postal nepogrešljiv v medicinskem kompletu generalov. V drugi svetovni vojni, leta 1943, je bila uporaba vazelina spet zelo razširjena. Bombni napadi so povzročili hude telesne opekline, za katere je Chesebroughova tovarna proizvedla sterilne antiseptične gaze z vazelinom, ki so bile dobro narejene in varne za uporabo. (1)

1.1.2 Pridobivanje

Vazelin je poltrdni stranski produkt destilacije nafte. Parafinski vosek ločijo od olja s filtracijo pri nizkih temperaturah, nato pa mu odstranijo barvo in vonj s hidrogeniranjem in adsorpcijo. Hidrogeniranje izvajajo s katalizo pri visoki temperaturi in tlaku, kjer odstranijo polarne ogljikovodike, ki vsebujejo žveplo, dušik in kisik. Nato sledi adsorpcija s filtracijo tekočega vazelina nad glino ali boksitom. Produkt adsorpcije ima nižjo vsebnost aromatskih in polarnih ogljikovodikov in je prav tako kot pri hidrogeniranju veliko svetlejša barva kot izhodna snov. Z dodatnimi postopki prečiščevanja lahko rumenemu vazelinu odstranijo vso barvo in tako dobijo beli vazelin. (4)

1.1.3 Sestava in lastnosti

Vazelin (rumeni: yellow petrolatum, yellow soft paraffin, yellow petroleum jelly, yellow paraffin jelly, petroleum jelly; beli: white petrolatum, white petroleum jelly, white soft paraffin, vaseline officinale) je zmes nasičenih ogljikovodikov s splošno formulo C_nH_{2n+2} .

Sestavljen je iz trdne (10–30 %) in tekoče (70–90 %) faze. Koliko odstotkov olja (tekoče faze) in koliko voska (trdne faze) vazelin vsebuje, je odvisno predvsem od geografskega porekla surove nafte. Trdno fazo sestavljajo trdni ogljikovodiki (daljše verige), ki tvorijo kristalne in mikrokristalne strukture. Tekočo fazo pa sestavljajo tekoči ogljikovodiki (kratke verige), ki s trdno fazo tvorijo šibke interakcije. Na površini kristalov, ki jih tvorijo nerazvejani n-parafini, se nahajajo razvejani izo-parafini, ki lahko vežejo tekoče parafine. Tekoči n-parafini, izo-parafini (nasičeni ogljikovodiki) ter nenasičeni ogljikovodiki se imobilizirajo v mrežno strukturo in sistem se stabilizira. Obe fazi sta enakega kemizma, zato govorimo o t. i. izogelu. (5–8, 20)

Poznamo štiri različne tipe vazelina: a) naravni vazelin »natural petrolatum«, pridobljen z destilacijo nafte, ki mu za izboljšanje stabilnosti lahko dodamo antioksidante; b) umetni vazelin »artificial petrolatum«, zmes tekočega in trdnega parafina; c) »gatsch« ali »slack wax petrolatum«, zmes tekočega parafina in dobljenih stranskih produktov pri izdelavi lubrikativnih olj; d) sintetični vazelin »synthetic petrolatum« pridobljen s polimerizacijo ali kohidrogenacijo etilena, ki mu za izboljšanje mazljivosti lahko dodamo poliizobutilen in ester poliakrilne kisline. Prvi trije tipi so pridobljeni iz naravnih virov in prečiščeni s katalitskim hidrogeniranjem, ki mu sledi filtracija, kot je opisana zgoraj. (7)

Na splošno je vazelin netoksična in nedražeča snov, vendar je znanih nekaj primerov alergijskih reakcij na koži pri topikalni uporabi. Ugotovili so, da lahko dražeče na kožo delujeta rumeni in beli vazelin, čeprav je beli bolj prečiščen. Vzrok za kožno reakcijo je v izvoru neobdelanega materiala in v dolžini čiščenja vazelina. Za alergijski odziv naj bi bila kriva vsebnost policikličnih aromatskih ogljikovodikov, ki jih farmakopeja navaja kot nečistote. (7)

1.1.4 Uporaba

Uporaba vazelina je precej razširjena v kozmetični in farmacevtski industriji. Izkorišča se njegov okluzivni in emolientni učinek, kar pomeni, da na koži zadržuje vlago in jo mehča. V farmaciji se pogosto uporablja kot sestavina mazilnih podlag pri izdelavi dermalnih krem in mazil. Ima tudi terapevtsko funkcijo v sterilnih nelepljivih vazelinskih mrežicah, ki se uporabljajo za odrgnine, praske in rane. S temi mrežicami preprečimo, da bi se gaza

prilepila na rano. Veliko se uporablja tudi na področju kozmetike. Vazeline z višjo stopnjo voska imajo višje tališče, tisti z višjo stopnjo olja pa so mehkejši in imajo nižje tališče. Mehkejši vazelin se uporablja npr. v kremah, trdnejši pa v balzamih za ustnice. V industriji je potrebno upoštevati tudi značilnosti polimernih verig in konsistenco. Običajno so v farmacevtski in kozmetični industriji zaželeni vazeline s srednje dolgimi polimernimi verigami, saj imajo primerno tališče in konsistenco. Vazeline s kratkimi polimernimi verigami so značilni za sintetične vazeline in ne zagotavljajo enakomerne konsistence, vazeline z dolgimi polimernimi verigami pa so lepljivi in preveč viskozni. Poleg teh lastnosti je pomembno, da se končni izdelek ne utekočini že pri nekoliko povišanih temperaturah. Pravilna in enotna sestava vazelina je eden najpomembnejših dejavnikov za ustreznost vazelina v industriji. (7–9)

1.1.5 Farmakopejski predpisi

Kot smo že omenili, poznamo vazeline različnih barv in z različnimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi. Evropska farmakopeja vsebuje monografiji za beli vazelin (white soft paraffin) in za rumeni vazelin (yellow soft paraffin). V farmacevtski industriji je predvsem pomembna čistost vazelina, zato evropska farmakopeja predpisuje teste za določanje barve, gostote, alkalnosti oziroma kislosti, vsebnosti sulfatov ter policikličnih aromatskih ogljikovodikov. Osnovna razlika med monografijama je v barvi, ostali predpisi so enaki. Evropska farmakopeja dovoljuje vsebnost antioksidantov, vendar ne predpisuje najvišje dovoljene koncentracije. Če je vazelinu dodan antioksidant, mora biti navedeno na etiketi in specifikaciji. Za industrijsko uporabo je zelo pomembna fizikalna in kemijska stabilnost vazelina, vendar farmakopeja posebej ne zahteva nobenega testa stabilnosti. (7, 10)

1.1.6 Stabilnost

Vazelin je zaradi nereaktivnih ogljikovodikov sam po sebi kemijsko zelo stabilna snov. Znano je, da vazelin na svetlobi, ob povišani temperaturi ali dolgotrajnem stanju razvije perokside, ki so neželeni. Do spremembe barve in vonja pride zaradi prisotnosti majhnih količin nečistot (nenasičeni ogljikovodiki), ki lahko na svetlobi oksidirajo. Odstotek nečistot je odvisen od izvora nafte in dolžine prečiščevanja vazelina. Za preprečitev oksidacije vazelinu lahko dodamo antioksidante, kot so npr. butilhidroksianizol (BHA),

butilhidroksitoluen (BHT) in α -tokoferol. V magistrski nalogi M. Benčan so ugotovili, da eden od petih belih vazelinov ni ustrezen za uporabo v farmacevtski industriji, saj se mu je peroksidno število po temperaturni obremenitvi značilno povečalo. Presegalo je vrednost 1 mEq O₂/kg. Razlog za to pripisujejo odsotnosti antioksidantov ter pomanjkljivemu čiščenju v procesu proizvodnje. Temu vazelinu sta se značilno spremenila tudi barva in vonj. (7, 8, 11)

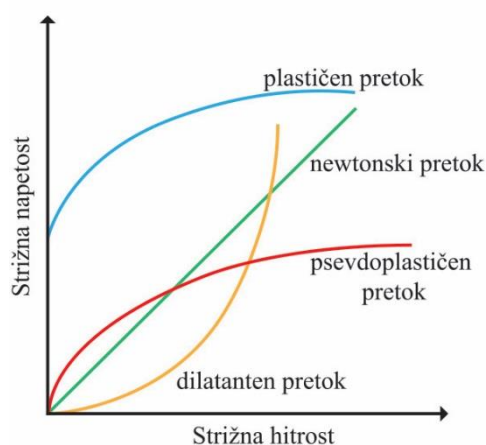
Zaradi prisotnih nenasičenih ogljikovodikov v vazelinu je le-ta podvržen oksidaciji in mu zato lahko določimo peroksidno število. Definicija v Evropski farmakopeji pravi, da je peroksidno število tisto število, ki v miliekvivalentih (milimolih na kilogram) aktivnega kisika (enota mEq O₂/kg) izraža količino peroksidov v 1000 g substance. Posebej za vazelin pa ne definira peroksidnega števila, ker so vrednosti zelo nizke. (10)

1.2 REOLOGIJA

Reologija je interdisciplinarna veda o tokovnem obnašanju in deformaciji snovi. Beseda reologija izhaja iz grških besed »rheos«, ki pomeni tok, reka, in »logos«, ki pomeni vedo. Reologija omogoča ovrednotiti mehanske lastnosti tekočin in poltrdnih snovi ter viskoelastičnih trdnih snovi pod vplivom strižne sile v območju delovanja Newtonovega in Hookovega zakona. Ta dva zakona predstavljata odziv idealne tekočine, ki se deformira ireverzibilno, oziroma idealne trdne snovi, ki se deformira elastično (po odstranitvi napetosti se obnovi). Realne snovi, ki jih srečujemo v praksi, ne sodijo ne v eno in ne v drugo skupino. Večina snovi, kot tudi vazelin, izkazuje viskoelastične lastnosti, ki so odvisne od strižnih pogojev in časa delovanja striga. Poznavanje reoloških lastnosti je bistveno za učinkovito in izboljšano obdelavo izdelka do končnega produkta sprejemljivega za potrošnika. Najtežje je določiti reološke lastnosti poltrdnim materialom (npr. vazelinu), saj združujejo karakteristike tekočih in trdnih snovi v enem materialu. (6, 12, 13)

Z reološkega vidika snovi delimo na newtonske in ne-newtonske tekočine (slika 1). Newtonske tekočine so tiste, ki pri dani temperaturi in tlaku izkazujejo konstantno viskoznost in so neodvisne od strižnih pogojev (smeri, jakosti in časa delovanja). Odvisnost med strižno napetostjo in strižno hitrostjo je linearna. Ne-newtonske tekočine pa so realne tekočine, katerih viskoznost ni konstantna pri dani temperaturi in tlaku, ampak se

spreminja glede na smer, jakost in čas delovanja strižnih sil. Odvisnost med strižno napetostjo in strižno hitrostjo ni linearna. Ne-newtonske tekočine naprej delimo na psevdoplastične (slika 1), katerim viskoznost z naraščajočim strigom pada, ter dilatantne (slika 1), pri katerih viskoznost z naraščajočim strigom raste. Za plastične sisteme je značilna točka mejne strižne napetosti (minimalna strižna napetost), pri kateri sistem steče. Pod mejno strižno napetostjo se ti sistemi obnašajo kot elastični, nad njo pa kot plastični. Točka mejne strižne napetosti za določen sistem ni konstantna, ampak je vedno odvisna od nastavitve meritev uporabljene naprave. Vazelin uvrščamo med ne-newtonske tekočine s psevdoplastičnim obnašanjem in s strižno odvisnim upadanjem viskoznosti. Notranja struktura vazelina se preuredi v smeri strižnega toka oziroma se poruši. (12–15)



Slika 1: Tokovne krivulje newtonskih in ne-newtonskih tekočin.

Na južnokorejski univerzi so v širokem območju striga in temperature (med 25 °C in 60 °C) preučevali reološke lastnosti vazelina. Ugotovili so, da se vazelin v temperaturnem območju pod 40 °C obnaša kot viskoelastičen material. Statistično se meja plastičnosti vazelina zmanjšuje s povečanjem temperature in zmanjšanjem striga zaradi postopnega porušenja tridimenzionalne mreže. V temperaturnem območju nad 45 °C postane viskozna tekočina brez meje plastičnosti. Z naraščajočo temperaturo vazelin izkazuje newtonsko obnašanje pri majhnem strigu. Mikrokrystalna struktura se popolnoma poruši zaradi sinergističnega delovanja visoke temperature in strižne deformacije. (16)

Nekaj let kasneje so na isti univerzi ugotavljali obnašanje vazelina pri telesni temperaturi (37 °C) v širokem razponu strižne hitrosti. Ugotovili so, da vazelin izkazuje izrazito ne-

newtonsko vedenje, ki ga lahko razložimo s porušenjem tridimenzionalne strukture, na katero vplivamo z mehansko strižno deformacijo. Ta reološka značilnost izboljšuje kakovost farmacevtskih in kozmetičnih izdelkov, v katerih je vazelin uporabljen kot osnovni material. (5)

1.2.1 Viskoelastične lastnosti snovi

Realne snovi, ki imajo tako viskozne kot elastične lastnosti, imenujemo viskoelastične snovi. To so suspenzije, mazila, geli, s katerimi se vsakodnevno srečujemo v živilski, kozmetični in farmacevtski industriji. Viskoznost in elastičnost sta dve osnovni lastnosti tekočin in trdnih snovi kot odziv na delovanje treh sil: strižne, natezne ali tlačne. Trdne snovi lahko izpostavimo vsem trem silam, tekoče pa le strigu. Energija, ki je potrebna za deformacijo idealne trdne snovi, omogoča popolno obnovo strukture snovi po prenehanju delovanja strižnih sil. Tukaj velja Hookov zakon (enačba 1), ki pravi, da je strižna napetost (τ) premosorazmerna deformaciji (γ). Premosorazmernostni faktor je strižni modul (G).

$$\tau = G * \gamma \quad (\text{enačba 1})$$

Idealna tekočina se deformira ireverzibilno, saj se energija porabi v obliki toplote in se ne povrne v začetno stanje po prenehanju delovanja strižnih sil. Za idealne tekočine velja Newtonov zakon (enačba 2), kjer je strižna napetost (τ) premosorazmerna hitrosti ($\dot{\gamma}$) deformacije.

$$\tau = \eta * \dot{\gamma} \quad (\text{enačba 2})$$

Realne tekočine le redko izkazujejo lastnosti idealnih tekočin, saj del energije, ki vstopa v sistem, lahko shranijo in po odvzemu napetosti del deformacije povrnejo. Večina realnih snovi izkazuje viskoelastične lastnosti, ki so odvisne od strižnih pogojev in časa delovanja strižnih sil.

Deformacija viskoelastične snovi linearno narašča s silo, vendar le do neke mere. Pri velikih deformacijah pride do spremembe mikrostrukture in notranja struktura snovi se poruši. Snov se pri veliki strižni deformaciji pogosto obnaša tiksotropno. Tiksotropna struktura se poruši ob dovolj dolgem delovanju strižne sile, nato pa se ponovno obnovi ob

prenehanju delovanja sile. Za razliko od tiksotropnega obnašanja se pri viskoelastičnem obnašanju po prenehanju delovanja sile takoj vzpostavi začetna mikrostruktura sistema. Zato snovem, ki se obnašajo viskoelastično, določujemo modula elastičnosti (G') in viskoznosti (G'') v območju linearnega viskoelastičnega odziva (LVO). Te fizikalne lastnosti strukture nam veliko povedo o stabilnosti sistema. (12)

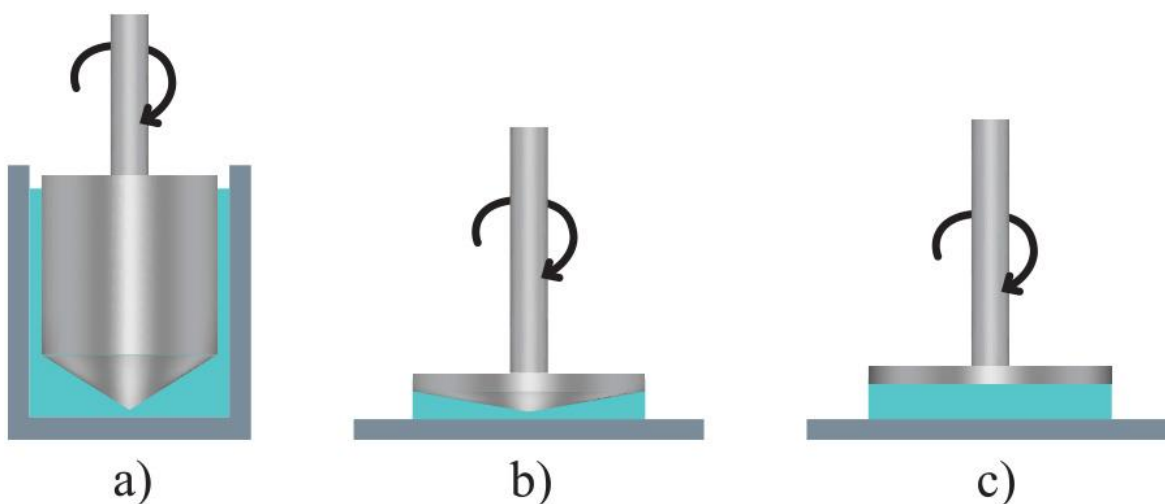
1.2.2 Vrste reometrov

Za določanje reoloških lastnosti tekočin in poltrdnih snovi poznamo veliko različnih reometrov, ki se razlikujejo glede na natančnost, točnost, čas, potreben za meritve, ceno itd. V splošnem jih razdelimo v dve skupini. Prva skupina so absolutni inštrumenti (rotacijski ter kapilarni reometri in viskozimetri), ki omogočajo izračun strižne hitrosti oziroma strižne napetosti s pomočjo merljivih in nastavljivih količin. V drugo skupino spadajo relativni inštrumenti (viskozimeter s padajočo kroglico, viskozimeter s turbinskimi mešali, penetrometer itd.), pri katerih strižni pogoji niso natančno določeni, viskoznost pa določimo primerjalno na že znano viskoznost tekočine. (12)

Med absolutne inštrumente spadajo rotacijski reometri in viskozimetri, ki se v reologiji pogosto uporabljajo za določevanje lastnosti ne-newtonskih tekočin. Naprave so sestavljene iz rotirajočega in statičnega dela ali obeh rotirajočih delov. Za določevanje reoloških lastnosti tekočin je potrebno zagotoviti konstantno temperaturo in izbrati pravi način merjenja. Ločimo dve vrsti merjenja. V prvo skupino spada rotacijski reometer z nastavljivo strižno hitrostjo, pri katerem merimo strižno napetost. Strižna hitrost je sorazmerna nastavljivi obodni hitrosti, strižna napetost pa je sorazmerna izmerjenemu navoru, ki je posledica upora tekočine proti strigu. Rotacijski reometri so zgrajeni iz dveh delov. Eden rotira, drugi pa miruje: sistem, pri katerem zgornji stožec ali plošča rotira in spodnja plošča miruje (Searle sistem), ter sistem, kjer spodnja plošča rotira in zgornji stožec ali plošča miruje (Coutte sistem). Strižni pogoji so lahko različni. Pri stacionarnih ali kontinuiranih tokovnih pogojih je vrednost strižne hitrosti stalna ali pa jo zvezno spreminjamo. Pri dinamičnih ali oscilatornih strižnih pogojih pa strižno deformacijo sinusno spreminjamo. V drugo skupino sodi rotacijski reometer z nastavljivo strižno napetostjo, pri katerem merimo strižno deformacijo ali strižno hitrost. Bistvena prednost reometrov novejših generacij so natančnejše meritve v širšem območju delovanja striga in

drugačna konstrukcija naprave. Vrednost navora je predhodno nastavljena na rotirajočem delu senzorskega sistema, ki ga poganja motor. (12)

Za optimalno določanje reoloških lastnosti je potrebno izbrati primeren senzorski sistem. Senzorski sistem izberemo glede na vrsto tekočine (viskoznost, sestavo, stopnjo strukturiranosti, hlapnost, prisotnost in velikost delcev), pogoje pri merjenju (meritve pri destruktivnih ali nedestruktivnih pogojih), temperaturno območje in dodatne zahtevane pogoje (inertna atmosfera, povišan tlak). Sisteme ločimo tudi glede na geometrijo. Prvi je senzorski sistem koaksialnih valjev (slika 2a), kjer se vzorec nahaja med valjema. Deluje tako, da en valj (notranji ali zunanji) rotira z določeno kotno hitrostjo, drugi pa miruje. Drugi je senzorski sistem stožca in ploščice (slika 2b), kjer se vzorec nahaja v reži med stožcem in ploščico. Prednosti tega sistema so enostavno čiščenje in uporaba majhne količine vzorca. Tretji je senzorski sistem dveh vzporednih plošč (slika 2c), kjer se vzorec nahaja v reži med ploščama z določeno razdaljo. Od prejšnjega sistema se razlikuje v tem, da se strižna hitrost spreminja po polmeru plošče in s tem po celotnem vzorcu. Uporablja se za merjenje poltrdnih snovi in visoko viskoznih tekočin. Prednosti tega so prav tako enostavno čiščenje in večja razdalja med ploščama, kar zmanjša možnost napak. (5, 12)



Slika 2: Geometrije reometrov: a) sistem koaksialnih valjev, b) sistem stožec-plošča, c) sistem dveh vzporednih plošč.

V območju LVO izvajamo meritve pri nedestruktivnih strižnih pogojih z uporabo dinamičnih testov (oscilatorni testi) ali statičnih testov (testi lezenja in obnove). Pri tem lahko uporabimo rotacijski reometer z nastavljivo strižno napetostjo ali z nastavljivo

strižno hitrostjo. Merimo lahko tudi v območju nelinearnega viskoelastičnega odziva pod destruktivnimi strižnimi pogoji z določanjem normalnih napetosti ali z deformacijskim nabrekanjem pri iztoku iz kapilare. Poznamo dva načina izvedbe meritve: rotacija in oscilacija. Za raziskovanje veliko bolj kompleksnega obnašanja (pseudoplastičnost, dilatacija) tekočin, disperzij in gelov uporabljamo rotacijo. Za določevanje reoloških lastnosti vseh vrst viskoelastičnih materialov, od polimernih raztopin, talin, past, gelov do trdnih snovi, pa lahko uporabimo oscilatorne teste. (12)

1.2.3 Oscilatorni test

Teste, ki jih pri konstantni frekvenci izvajamo tako, da spreminjamo amplitudo oscilacije, pravimo napetostni testi. Kot rezultat teh testov dobimo dinamična modula G' in G'' v odvisnosti od strižne napetosti ali deformacije. Ločimo linearno viskoelastično območje, v katerem sta G' in G'' konstantna in zavzemata različne vrednosti v območju nizkih amplitud, neodvisno od amplitude oscilacije. Za napetostne teste je ključna določitev območja LVO. Pod mejno vrednostjo LVO je struktura materiala stabilna, če sta G' in G'' konstantna. Ko strižna napetost preseže mejno napetost, se struktura vzorca poruši ali spremeni ireverzibilno. Mejna napetost v farmacevtskih in kozmetičnih izdelkih mora biti dovolj velika, da snov ne steče iz vsebnika zaradi svoje lastne teže. Hkrati ne sme biti prevelika, saj mora nuditi ustrezno aplikacijo (ne sme biti preveč odporna) na človeško telo. Mejna napetost ima ključno vlogo pri debelini plasti, ki se tvori na površini kože. (5, 13)

1.2.4 Rotacijski test

Rotacijske teste razdelimo v dve skupini. Prvi so testi z nastavljivo strižno hitrostjo (angl. controlled shear rate test oziroma CSR test), kjer je neodvisna spremenljivka strižna hitrost, merimo pa strižno napetost. Pogosto se uporabljajo pri tekočinah, ki nimajo mejne napetosti in če je viskoznost definirana s strižno hitrostjo. Drugi pa so testi z nastavljivo strižno napetostjo (angl. controlled shear stress test oziroma CSS test), kjer je neodvisna spremenljivka strižna napetost, merimo pa strižno hitrost ali strižno deformacijo. Uporablja se kot splošen test za določanje mejne napetosti disperzij, gelov in past. (14)

1.3 ANTIOKSIDANTI

1.3.1 Definicija

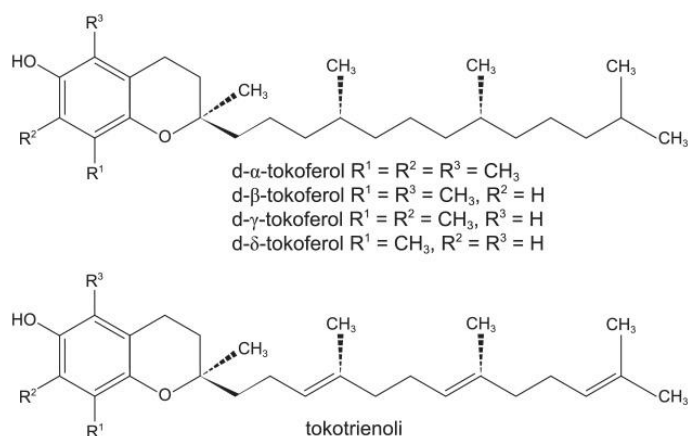
Po definiciji je antioksidant vsaka snov, ki zavre oksidacijo *in vitro* in zmanjša oksidativni stres *in vivo*. V živilski, kozmetični in farmacevtski industriji se antioksidanti pogosto dodajajo, da upočasnijo ali preprečijo oksidacijo sestavin. V živilski industriji se uporabljajo kot zaviralci lipidne peroksidacije in posledično žarkosti hrane. V industriji gum, plastike in barv/lakov z antioksidanti kontrolirajo polimerizacijo in zaščitijo plastiko pred UV žarki. V velikem obsegu antioksidante uporabljajo tudi v industriji strojnega olja, kjer je mehanizem nastanka radikalov pri gorivu in mazivih dobro poznan. Vse te industrijske panoge imajo svoje kriterije o tem, kaj je dober antioksidant. (17, 18)

1.3.2 Lipidna peroksidacija

Antioksidanti delujejo na različne načine tako, da prekinejo ali preprečijo lipidno peroksidacijo in reagirajo z radikali ter jih spremenijo v stabilnejše produkte. Med seboj se razlikujejo po mehanizmu delovanja, redoks potencialu in stabilnosti nastalega radikala. Lipidna peroksidacija je razgradnja, nastanek radikalov, ki so odgovorni za razvoj neprijetnih vonjav in okusa maščob, olj in živil, ki jih vsebujejo. (17)

1.3.3 Vitamin E

Vitamin E je v maščobah topen vitamin in je najpomembnejši inhibitor lipidne peroksidacije *in vivo*. Odkrila sta ga Herbert McLean Evans in Katharine Scott Bishop med raziskovanjem vpliva prehrane na razmnoževanje podgan. Ime tokoferol izvira iz grških besed »tokos« (rojstvo otroka) in »pherein« (nositi), s končnico »-ol«, ki spojino označuje kot alkohol. Vitamin E je skupina osmih spojin, ki jih sestavljata kromanska glava (dva obroča: fenolni in heterociklični) in fitilni rep. Razdelimo jih na naravne izomere: d- α -, d- β -, d- γ - in d- δ -tokoferole ter d- α -, d- β -, d- γ - in d- δ -tokotrienole (slika 3). (17, 19)



Slika 3: Kemijska struktura tokoferolov in tokotrienolov.

Tokoferoli imajo nasičene repe pripete na kromansko glavo, ki se razlikujejo v številu metilnih substituentov na fenolnem obroču. Tokotrienoli imajo podobne kromanske glave, ki ustrezajo tokoferolnim, in rep s tremi izoliranimi dvojnimi vezmi. Tokoferoli obstajajo samo v prosti fenolni obliki, medtem ko so trienoli lahko tudi v estrski. Vsak tokoferol ima tri asimetrične ogljikove atome, ki tvorijo po osem optičnih izomerov ter so velikega pomena za biološko aktivnost. Največjo biološko aktivnost ima izomer RRR- α -tokoferol (d- α -tokoferol) ali kot ga splošno imenujemo α -tokoferol. (17, 19)

α -tokoferol je zelo lipofilna spojina in je odlično topilo za mnoge slabo topne učinkovine. V farmacevtskih izdelkih se običajno uporablja v koncentraciji med 0,001 % in 0,05 %. Bolj dolgotrajen in intenziven kontakt s kožo lahko povzroči eritem in kontaktni dermatitis. Tokoferoli lahko pri prekomernem zaužitju povzročijo glavobol, utrujenost, slabost in prebavne motnje. SZO je določila sprejemljiv dnevni vnos, ki je med 0,15–2,0 mg/kg telesne mase. (20)

Tokoferoli in tokotrienoli zavirajo lipidno peroksidacijo, ker reagirajo s peroksilnimi radikali (LOO^\bullet) veliko hitreje ($K > 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), kot bi potekla reakcija z lipidi ali membranskimi proteini (enačba 3). Fenolna skupina je bistvena za antioksidativno delovanje in je donor vodika ali elektrona. Tokoferilni radikal (α -tokoferol $^\bullet$), ki nastane, je manj reaktiven in lahko reagira še z enim prostim peroksilnim radikalom do ne-radikalnih produktov (enačba 4). Ena molekula α -tokoferola lahko reagira z dvema molekulama LOO^\bullet ter hitro in učinkovito ustavi oksidacijo lipidov v membrani. Antioksidativna

aktivnost tokoferolov in tokotrienolov je *in vitro* malo različna ali enaka, *in vivo* pa antioksidativna aktivnost tokoferolov narašča od α proti δ . (17, 19)



Tokoferoli lahko reducirajo Fe^{3+} do Fe^{2+} in Cu^{2+} do Cu^+ in vplivajo na prooksidativni efekt *in vitro*. Pri velikem vnašanju tokoferolov v telo lahko pride do toksičnega učinka na koagulacijo krvi, saj vplivajo na vitamin K. γ -tokoferol in njegovi metaboliti ter α -tokoferol imajo poleg antioksidativnega učinka tudi fiziološke učinke. Študije na celičnih kulturah so pokazale, da α -tokoferol inhibira razne encime vključno s 5-lipoksigenazo, protein kinazo C in fosfolipazo A2, ki imajo vlogo pri celični proliferaciji. Ta ne-antioksidativni učinek je morda *in vivo* bolj pomemben od antioksidativnega. Nekatere študije dokazujejo tudi rahel protivnetni učinek pri visokih odmerkih α -tokoferola. (17, 18)

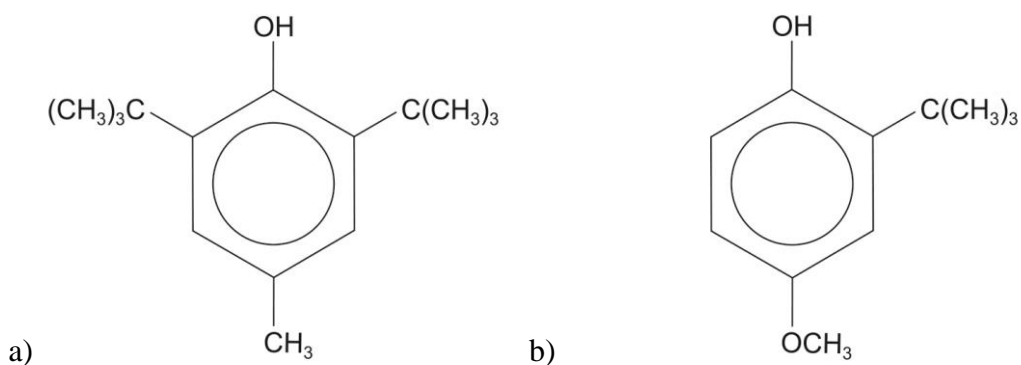
Sintezni analogi vitamina E so estri α -tokoferola z očetno kislino (α -tokoferil acetat) in jantarno kislino (α -tokoferil sukcinat), ki so pri skladiščenju bolj stabilni. Estra nista antioksidanta, ampak to postaneta s hidrolizo. Poznamo tudi vodotopno sintezno obliko vitamina E: Trolox, ki ima nekoliko drugačno strukturo, vendar skoraj enako antioksidativno aktivnost *in vitro*. (17)

Na Švedskem je potekala raziskava stabilnosti vazelinskih obližev z in brez dodanega α -tokoferil acetata. Ugotovili so, da je stabilnost hidroperoksidov (osredotočili so se predvsem na hidroperokside D-limonena) močno odvisna od dodatka antioksidanta, saj se v njegovi prisotnosti hidroperoksidi razgradijo v večjem obsegu. Z uporabljenimi analizami so zaznali zmanjšanje D-limonen hidroperoksidov, domnevajo pa, da so z dodatkom α -tokoferil acetata lahko zmanjšane tudi druge vrste hidroperoksidov. (21)

1.3.4 Butilhidroksitoluen (BHT) in butilhidroksianizol (BHA)

BHT (slika 4a) je sintezni analog vitamina E, derivat fenola z antioksidativnimi lastnostmi. Uporablja se kot aditiv za živila in antioksidant v industriji nafte, kozmetike in farmacevtskih izdelkov. Čeprav so znani posamezni primeri kožnih reakcij, na splošno velja za nedražečo snov. Pri vdihovanju nas lahko draži, zato je z njim treba rokovati v dobro prezračenih prostorih (priporočeno) z rokavicami in zaščito za oči. Ima šibko protivirusno delovanje in terapevtsko delovanje za zdravljenje labialnega herpesa. Hitro se absorbira iz gastrointestinalnega trakta in metabolizira ter izloči z urinom po konjugaciji z glukuronsko kislino. (20)

V farmaciji se pri topikalnih formulacijah uporablja v koncentracijah od 0,0075 % do 0,01 %, v kozmetičnih izdelkih pa od 0,0002 % do 0,5 %. Študije *in vitro* in *in vivo* so pokazale, da ga skozi kožo prodira manj kot 4 %. Čeprav nekateri rezultati dermalne aplikacije BHT kažejo na počasno absorbiranje skozi kožo, v glavnem BHT ostane na koži. O fotosenzibilizaciji ali draženju kože niso poročali. Ugotovili so tudi, da se BHT uporablja v pripravkih za zaščito pred soncem, kjer še ni bilo nobenih kliničnih primerov draženja, preobčutljivosti ali fotosenzibilnosti. BHT je v nizkih koncentracijah varen antioksidant v farmacevtskih in kozmetičnih izdelkih. V kombinaciji s prav tako sintetično pridobljenim antioksidantom BHA je učinek sinergističen. (20, 22)



Slika 4: Kemijska struktura a) butilhidroksitoluena in b) butilhidroksianizola.

BHA je antioksidant z nekaterimi protimikrobnimi lastnostmi. Je zmes dveh položajnih izomerov, vendar prevladuje (90 %) v izomeru kot je na sliki 4b. Uporablja se v širokem

razponu v živilski, kozmetični in farmacevtski industriji. Pri topikalnih formulacijah je koncentracijski razpon širok od 0,005 % do 0,02 %. Njegovo protimikrobno delovanje je podobno *p*-hidroksibenzoatu (parabenom) in najboljšje učinkuje proti plesnim in po Gramu pozitivnim bakterijam. (20, 23)

2 NAMEN DELA

Namen magistrske naloge je ovrednotiti fizikalno-kemijske lastnosti belega vazelina, izpostavljenega temperaturnim obremenitvam in staranju pri različnih temperaturah, ter vpliv dodatka antioksidanta na vazelin po temperaturnih obremenitvah. Fizikalne lastnosti bomo ovrednotili z znanima metodama mazljivosti in reologije, za ugotavljanje barve pa bomo razvili metodo slikanja (izpopolnili bomo metodo slikanja, ki jo je uporabila M. Benčan v magistrski nalogi (11)). Določili bomo tudi peroksidno število s potenciometrično titracijo in vsebnost antioksidantov s tekočinsko kromatografijo (HPLC oziroma UPLC).

Osem belih vazelinov različnih serij bomo izpostavili temperaturnim obremenitvam (segrevanju, zamrzovanju) in jih na ta način skušali približati temperaturnim stresom, ki so jim vazelini lahko izpostavljeni pri proizvodnji in shranjevanju. Trem vzorcem bomo pred temperaturno obremenitvijo dodali določeno koncentracijo antioksidanta (α -tokoferol in butilhidroksitoluen) in preverili vpliv na fizikalno-kemijske lastnosti vazelina. Za primerjavo bomo enemu vzorcu dodali enako koncentracijo antioksidanta po temperaturni obdelavi. Dva vzorca bomo z in brez dodanih antioksidantov izpostavili različnim temperaturam za časovno obdobje treh in šestih mesecev ter nato izvedli meritve.

Z metodo mazljivosti bomo ovrednotili, kako se sistem obnaša pred in po temperaturni obremenitvi ter po staranju, kadar nanj deluje določena sila. Vazelinom, katerim bomo dodali antioksidante, bomo preverili, ali se bo mazljivost približala začetnemu stanju.

Z reološkimi parametri bomo vrednotili viskoelastičnost vazelinov pri določeni strižni napetosti. Ocenili bomo spremembe pred in po temperaturnih obremenitvah ter pred in po dodatku antioksidantov.

Za določanje spremembe barve vazelina bomo izpopolnili predhodno razvito metodo slikanja. Za vsak vzorec vazelina bomo poskusili poenotiti pogoje slikanja, za katere je zelo pomemben enak način obdelave vazelinov.

Določili bomo tudi peroksidno število vsem vzorcem vazelinov pred in po temperaturni obdelavi kot tudi vsem staranim vzorcem. S tekočinsko kromatografijo (HPLC oziroma UPLC) bomo po določenem časovnem obdobju (treh in šestih mesecev) preverili vsebnost antioksidantov v vazelinih, ki bodo izpostavljeni različnim temperaturam.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

3.1.1 Beli vazelin

Beli vazelin je očiščena, v celoti ali skoraj v celoti razbarvana poltrdna zmes tekočih in trdnih ogljikovodikov, pridobljenih iz nafte. Je brez vonja in okusa, bela ali skoraj bela, mehka mastna masa, ki je na dnevni svetlobi nekoliko fluorescentna, kadar je raztaljena. Vazelin je praktično netopen v vodi, alkoholu in glicerolu, topen pa v metilen kloridu. Vrednotili smo osem različnih vzorcev belih vazelinov, ki so navedeni v preglednici I. (10, 20)

Preglednica I: Beli vazelini, ki smo jih preučevali.

Vzorec	Naziv produkta	Proizvajalec	Država	Serijska	Datum proizvodnje	Rok uporabe
Vazelin 1	WHITE PROTOPET 1 SH	Sonneborn	Nizozemska	30644826	Feb 2013	Feb 2016
Vazelin 2	WHITE SOFT PARAFFIN BP/EP	Fuchs	Anglija	4C030	Mar 2014	Mar 2016
Vazelin 3	VASELINE WEIß DAB PERMULGIN 3500	Koster Keunen	Nizozemska	30250765	Jan 2011	Mar 2013
Vazelin 4	PHARMA PETROLEUM JELLY CD 806	Parafluid	Nemčija	PK1-0382	Ni podatka	Ni podatka
Vazelin 5	VAZELIN SNOW WHITE MD	Sonneborn	Nizozemska	607174	Mar 2014	Mar 2017
Vazelin 6	WHITE PETROLEUM JELLY	Hansen & Rosenthal KG	Nemčija	997911	Okt 2013	Okt 2017
Vazelin 7	VASELINE WEIß DAB PERMULGIN 3500	Koster Keunen	Nizozemska	30233634	Nov 2010	Nov 2012
Vazelin 8	WHITE PROTOPET 1 SH	Sonneborn	Nizozemska	30768754	Okt 2013	Okt 2016

3.1.2 α -tokoferol

α -tokoferol je zelo viskozna tekočina, rumenkasto-rjave barve, brez specifičnega vonja. V vodi je netopen, dobro topen pa je v acetonu, etanolu, etru in rastlinskih oljih. Je eden izmed štirih tokoferolov vitamina E, ki se od druge skupine vitaminov E – tokotrienolov razlikujejo po nasičeni stranski verigi. Pridobivajo ga tako naravno kot sintezno in je najboljši lipofilni antioksidant skupine vitaminov E. Na stabilnost tokoferola lahko vplivajo okoliški dejavniki (temperatura, svetloba), na katere je manj občutljiv sintetično pridobljen α -tokoferol. Kadar je tokoferol v obliki acetata ali sukcinata, je bolj stabilen, vendar posledično manj učinkovit kot antioksidant. Po navadi se v obliki estra uporablja v živilski, kozmetični in farmacevtski industriji. (20, 23)

3.1.3 Butilhidroksitoluen (BHT)

BHT je bel ali rumenkasto bel kristaliničen prah z rahlim, značilnim vonjem. Praktično je netopen v vodi, glicerolu, propilen glikolu, topen pa je v acetonu, benzenu, etanolu, etru, metanolu, toluenu in tekočem parafinu. Je sintetično pridobljen analog vitamina E, saj v svoji strukturi vsebuje fenolni obroč, ki je pomemben za njegove antioksidativne lastnosti. (20, 22, 23)

Preglednica II: Uporabljeni antioksidanti.

Antioksidant	Proizvajalec	Država	Serija	Datum proizvodnje	Rok uporabnosti
α -tokoferol	Sigma Aldrich	ZDA	K43110149	25. 1. 2012	31. 1. 2014
Butilhidroksitoluen	Merck	Nemčija	30657782	22. 10. 2012	22. 10. 2015

3.1.4 Reagenti

V preglednici III so navedeni reagenti, ki smo jih uporabili pri potenciometrični titraciji za določevanje peroksidnega števila.

Preglednica III: Reagenti za potenciometrično titracijo.

Reagenti	Proizvajalec	Država
Natrijev tiosulfat, 0,01 M Na ₂ S ₂ O ₃	Sigma Aldrich	ZDA
Kalijev jodid (KI)	Merck	Nemčija
Kalijev jodat (KIO ₃)	Merck	Nemčija
Žveplova kislina (10 % (m/V), H ₂ SO ₄ (5,7 mL koncentrirane ~96 % H ₂ SO ₄ razredčimo z prečiščeno vodo v 100 mL)	Merck	Nemčija
Ocetna kislina, C ₂ H ₄ O ₂	Merck	Nemčija
Kloroform, CHCl ₃	Merck	Nemčija
Prečiščena voda	Lek	Slovenija

3.1.5 Naprave in pripomočki

V preglednici IV so navedene naprave in pripomočki, ki smo jih uporabili za vrednotenje vazelina.

Preglednica IV: Naprave in pripomočki za vrednotenje vazelina.

Oprema	Proizvajalec	Država
Tehtnica	Mettler Toledo	Švica
Magnetno mešalo z gretjem IKA RET basic	IKA	Nemčija
Hladilnik HZS 2761	Gorenje	Slovenija
Uteži 500 g in 2 kg	Häfner	Nemčija
Steklene plošče	/	/
Rotacijski reometer Haake Rheostress RS 75	Thermo Scientific	ZDA
Titratore Mettler Toledo T70	Mettler Toledo	Švica
Kombinirana platinova (Pt) elektroda DMI 147-SC (0 °C – 80 °C)	Mettler Toledo	Švica
Fotoaparati Nikon DSC V1	Nikon Corporation	Japonska
Svetilka z lečo 190 x 157 mm (230 V, 50 Hz, 2 x 9 W)	Fervi	Italija
Termostat Binder BF 115	Binder	Nemčija
Klima komora Vötsch VC 0100	Vötsch	Nemčija

3.1.6 Laboratorijski pribor

Čaše, palčke, magnetki, parafilm, spatule, čolniček, žličke, petrijevke (premer 7 cm), merilne bučke, merilni valji, dispenzete, avtomatske pipete, nastavki za pipete, vodna kopel, aluminijasta folija.

3.2 METODE

3.2.1 Obdelava vazelinov

Vzorci vazelinov smo izpostavili različnim temperaturnim in fizikalnim obremenitvam, nato pa primerjali njihove meritve z neobdelanimi vazelini.

Vseh osem vazelinov smo natehtali v 250 mL čaše (200 g) in izpostavili temperaturni obremenitvi, ki je potekala 96 ur. Najprej smo vsak posamezen vzorec na magnetnem mešalu 24 ur segrevali in mešali (81 °C in 320 rpm), nato pa ga postavili v zamrzovalnik ($T = -10\text{ °C}$ do -25 °C) za naslednjih 24 ur. To smo ponovili dvakrat, ga postavili v škatlo, ki je bila na sobni temperaturi ($23\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$) in čez nekaj dni (< 30 dni) izvajali meritve.

3.2.2 Dodatek antioksidantov vazelinom

Vazelinom smo dodali antioksidant (α -tokoferol ali BHT) na dva načina:

- V čašo smo natehtali 20 mg antioksidanta in dodali 200 g belega vazelina (vazelin 1, vazelin 2 in vazelin 8) ter vzorce obdelali po zgoraj opisanem postopku (obdelava vazelinov).
- Natehtali smo 600 g vazelina 8 v 1000 mL čašo in ga obdelali po zgornjem postopku (obdelava vazelinov), nato smo ga en dan hranili na sobni temperaturi, ga razdelili v tri 250 mL čaše po 200 g ter ga ponovno segreli (81 °C, 200 rpm, 10 min) do tekočega stanja. V eno čašo smo dodali 20 mg α -tokoferola, v drugo pa 20 mg BHT. Čaši smo dve uri segrevali (81 °C) in mešali (320 rpm), nato pa vse tri čaše postavili nazaj v škatlo, da se je vazelin ohladil.

3.2.3 Stabilnost vazelinov

Vzorci vazelina 2 in 8 brez ali z antioksidantom smo v treh paralelah izpostavili trem različnim stabilnostnim pogojem (klimatiziran prostor, 25 ± 2 °C, vlažnost 60 ± 5 %; klima komora, 30 ± 2 °C, vlažnost 65 ± 5 %; termostat, 40 ± 2 °C) za časovno obdobje treh in šestih mesecev. Po treh mesecih smo določili mazljivost, peroksidno število in vsebnost antioksidantov s tekočinsko kromatografijo (HPLC oziroma UPLC), po šestih mesecih pa ponovno preverili vrednost peroksidnega števila in vsebnost antioksidantov. V vsako temno stekleničko smo natehtali 50 g (± 3 g) vazelina. Vzorci so bili: a) neobdelan vazelin, b) vazelin z α -tokoferolom in c) vazelin z BHT. Antioksidant smo najprej natehtali (0,015 g) v 200 mL čašo in ga segrevali (81 °C, 200 rpm, 10 min) s 150 g vazelina. Nato smo vzorec razdelili v tri stekleničke in jih izpostavili zgoraj zapisanim stabilnostnim pogojem.

3.2.4 Mazljivost

Stekleno ploščo smo položili na tehtnico in tarirali. Vazelin, ki smo ga hranili pri sobni temperaturi, smo v obliki kroglice natehtali (1,00 - 1,03 g) na sredino plošče. Nato smo jo položili na pult in čim bolj enakomerno in počasi spustili drugo stekleno ploščo na njo, da se je vazelin krožno razlezel po površini. Na sredino stekla smo postavili 500 g utež in po 5 min in 15 min označili premere vazelina, nato smo utež odmaknili. Z ravnilom smo natančno izmerili premer v vodoravni in navpični smeri. Enak postopek smo ponovili še z 2 kg utežjo. Meritve smo izvajali pri sobni temperaturi (23 ± 1 °C) in jih za vsak vzorec ponovili trikrat. Podatke smo vnesli v tabele in izračunali povprečen premer vzorca.

3.2.5 Slikanje

Za določanje spremembe barve vazelina smo predhodno (11) metodo A izpopolnili, nato pa še sami razvili metodo B po spodaj opisanem postopku.

V čašo smo natehtali 35 g vazelina in segrevali na magnetnem mešalu (80 °C, 300 rpm) tako dolgo (5–10 min), da se je vazelin raztalil in postal tekoč. Petrijevko (premer 7 cm) smo postavili na tehtnico in tarirali. Nato smo vazelin počasi vlivali v sredino petrijevke, da se je enakomerno razporedil brez zračnih mehurčkov do mase 10 g (10,000–10,150 g).

Razdelili smo ga v tri enake petrijevke (A, B in C), jih postavili na pult ter pustili 10–15 min, da se je vazelin popolnoma strdil. Nato smo izvajali slikanje na dva načina:

- Metoda A: V sobi z dnevno svetlobo smo petrijevko postavili na bel list pisarniškega papirja in fotoaparata (Nikon DSC V1) na stojalu nastavili na razdaljo 30 cm. Vsak vzorec smo slikali petkrat zapored (vsakih 5 s).
- Metoda B: Petrijevko smo postavili na sredino dna škatle (40 x 32 cm), ki je bila v celoti obložena s črnim blagom. Na pokrovu škatle smo naredili dve odprtini. Ena je ustrezala velikosti objektiva fotoaparata (Nikon DSC V1), druga velikosti svetilke (svetilka z lečo Fervi 230 V). Vsak vzorec smo zaporedno (vsakih 5 s) slikali petkrat.

Slike vzorcev smo obdelali s programom Image J 1.49. Vsaki sliki smo na sredini petrijevke označili območje (približno 40 % površine petrijevke) in program nam je s pomočjo histograma izračunal povprečje in standardno deviacijo rdečega, modrega in zelenega kanala. Vrednosti, ki smo jih dobili z metodo B, smo v programu Minitab (verzija 17) statistično obdelali z enostranskim in dvostranskim testom ANOVA.

Nastavitve na fotoaparatu Nikon DSC V1:

Velikost slike: 2896 x 1944

Format slike: JPEG

Kvaliteta slike: Fine

ISO standard: ISO 400

Čas osvetlitve: 1/200 sekunde

3.2.6 Reologija

Za določanje viskoelastičnih lastnosti vazelina smo uporabili rotacijski reometer Haake Rheostress RS 75 s sistemom dveh vzporednih plošč. Na spodnjo ploščo reometra smo nanegli vzorec vazelina tako, da smo zapolnili vse prostorčke. Zgornjo ploščo smo spodnji približali na razdaljo 100 μm in obrisali odvečen vazelin. Pred vsako izvedbo meritev smo napravo termostatali na $23 \pm 0,1$ °C. Nato smo pričeli z meritvami oscilatornega testa po naprej določenih pogojih v programu RheoWin Job. Z amplitudnim testom, ki predstavlja odvisnost elastičnega G' in viskoznega G'' modula od strižne napetosti τ , smo določili LVO

vazelina. Frekvenca oscilacije je bila konstantna, 1 Hz, prav tako je bila konstantna kotna hitrost, $\omega = 6,283 \text{ rad/s}$. Zvezno smo povečevali strižno napetost v območju od 1 do 2000 Pa. Iz grafičnega prikaza rezultatov smo v območju LVO določili G' in G'' pri strižni napetosti $\tau = 40,57$ in primerjali rezultate.

3.2.7 Potenciometrična titracija

Peroksidno število smo določali s potenciometrično titracijo s titratorjem Mettler Toledo T70. Pri tej metodi določimo končno točko titracije na podlagi merjenja razlike potenciala med primarno in referenčno elektrodo v odvisnosti od volumna titranta.

Najprej smo izvedli standardizacijo za titrirno raztopino (0,01 M raztopina $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) in izračunali korekcijski faktor. V plastične lončke smo natehtali med 4 g in 6 g vzorca. Maksimalni volumen standardne raztopine smo pri večini vzorcev omejili na 1 mL, pri nekaterih, ki s takim volumnom niso dosegli ekvivalentne točke, pa smo ga povečali na 5 mL. Končno točko titracije smo računsko določili iz poteka titracijske krivulje in izračunali peroksidno število iz spodnje formule (enačba 5) s programom LabX.

$$I_p = (V_1 - V_0) * f * 10 / m_s \text{ (enačba 5)}$$

V_1 : poraba 0,01 M standardne raztopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ za vzorec (mL)

V_0 : poraba 0,01 M standardne raztopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ za slepo (mL)

f: korekcijski faktor za 0,01 M standardne raztopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

m_s : natehta vzorca (g)

3.2.8 Tekočinska kromatografija

Vsebnost α -tokoferola smo preverjali s HPLC metodo, vsebnost BHT pa z UPLC metodo. Obe določitvi sta gradientni tekočinski kromatografiji z metodo zunanjega standarda.

Preglednica V: Pogoji za določanje vsebnosti antioksidanta s HPLC/UPLC metodo.

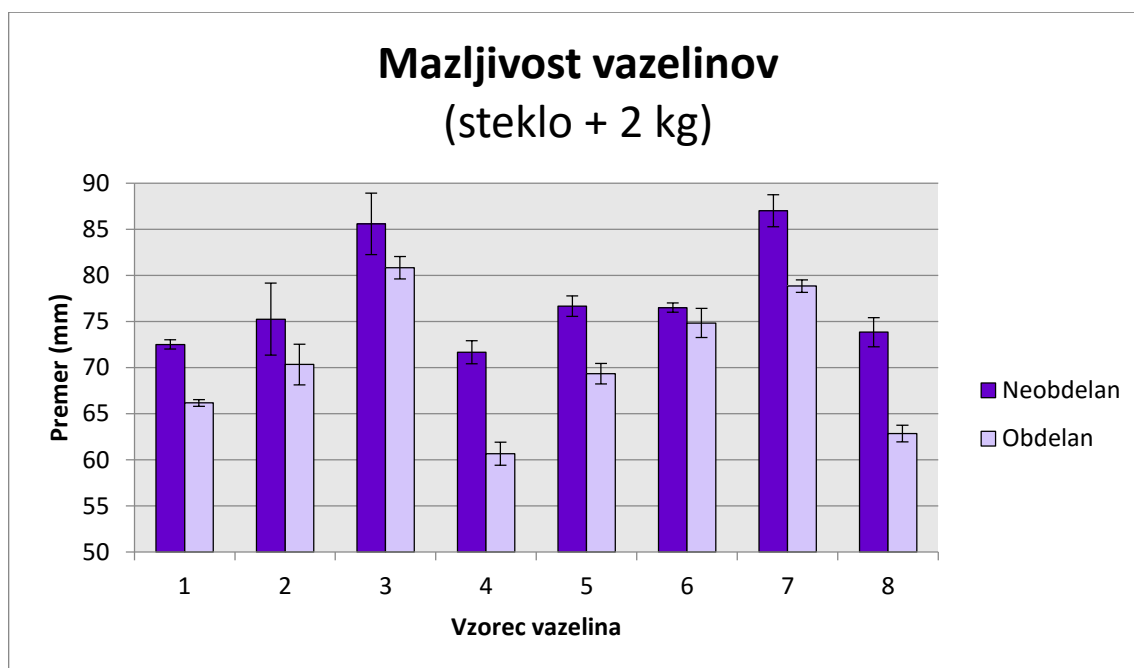
	Določanje vsebnosti α -tokoferola	Določanje vsebnosti BHT																																				
Sistem	Waters HPLC	Waters UPLC																																				
Kolona	Luna Silica (2) 5 μ m 150 x 4,6 mm	Luna 2,5 μ m C18(2) HST 100 x 3,0 mm s predkolono, SecurityGuard ULTRA Cartridge UPLC C18																																				
Mobilna faza (pufer)	pA: 99 % n-heksan, 1 % 2-propanol, pB: 50 % n-heksan, 50 % 2-propanol	pA: 55 % fosfatni pufer pH = 6,8, 40 % acetonitril, 5 % metanol, pB: 90 % acetonitril, 5 % metanol, 5 % milliQ voda																																				
Temperatura v koloni	25 °C	25 °C																																				
Ekvilibracija	5 minut	2,5 minute																																				
Gradient	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Čas (min)</th> <th>% pA</th> <th>% pB</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2,5</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>4,5</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>5,5</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	Čas (min)	% pA	% pB	0	100	0	2,5	100	0	4,5	0	100	5,5	0	100	6	100	0	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Čas (min)</th> <th>% pA</th> <th>% pB</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>25</td> <td>75</td> </tr> <tr> <td>2,5</td> <td>25</td> <td>75</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>4,5</td> <td>25</td> <td>75</td> </tr> </tbody> </table>	Čas (min)	% pA	% pB	0	25	75	2,5	25	75	3	0	100	4	0	100	4,5	25	75
Čas (min)	% pA	% pB																																				
0	100	0																																				
2,5	100	0																																				
4,5	0	100																																				
5,5	0	100																																				
6	100	0																																				
Čas (min)	% pA	% pB																																				
0	25	75																																				
2,5	25	75																																				
3	0	100																																				
4	0	100																																				
4,5	25	75																																				
Pretok	2,0 mL/min	1,0 mL/min																																				
Detekcija	294 nm	277 nm																																				
Volumen injiciranja	50 μ L	5 μ L																																				

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Mazljivost

Metoda določanja mazljivosti nam pove, kako se sistem obnaša ob določeni obremenitvi oziroma sili pri enakih pogojih. Po predpisani metodi smo uporabili 500 g in 2 kg utež, vendar je do bolj vidnih sprememb prišlo pri obremenitvi z 2 kg utežjo po 15 minutah, zato smo uporabili te rezultate.

Obdelani vazelini imajo statistično značilno ($p < 0,05$) manjšo mazljivost od neobdelanih, kar potrjuje ugotovitve v magistrski nalogi M. Benčan (11). Razlikoval se je le vazelin 6 ($p = 0,065$), na katerega temperaturna obremenitev ni značilno vplivala (slika 5), je pa opazen trend zmanjšane mazljivosti. Premeri neobdelanih vazelinov so se gibali med 71–87 mm, obdelanih pa med 60–80 mm. Večja variabilnost rezultatov mazljivosti je opazna pri obdelanih vazelinih. To lahko razložimo s spremenjeno notranjo strukturo vazelinov in njihovo manjšo homogenostjo.

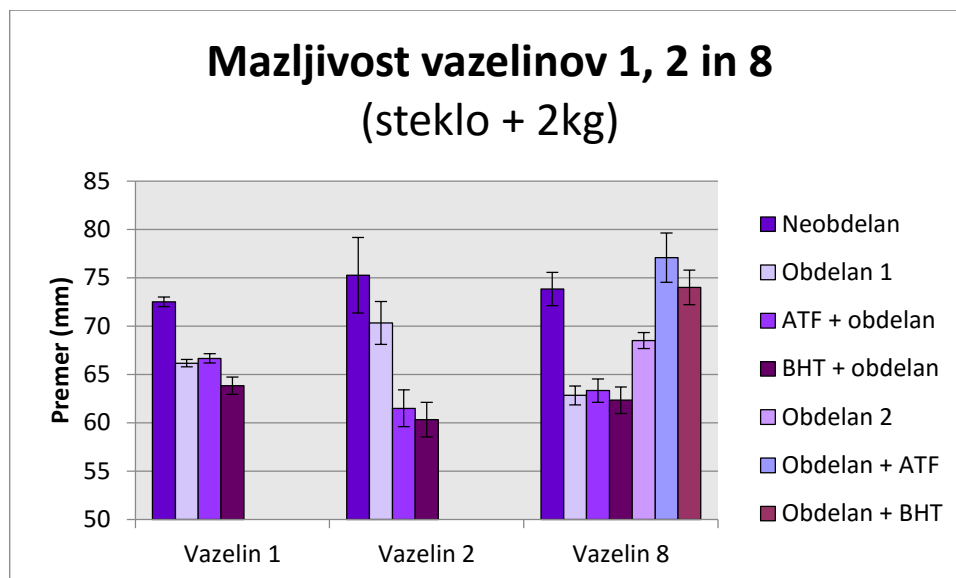


Slika 5: Mazljivost neobdelanih in obdelanih vzorcev vazelinov (1–8) po 15 minutah z 2 kg utežjo.

Vazelinom 1, 2 in 8 smo pred obdelavo dodali antioksidanta α -tokoferol (ATF) in BHT (slika 6). Vsi vzorci vazelina 1 so med seboj statistično različni ($p < 0,05$), razen med

obdelanim vzorcem in vzorcem z α -tokoferolom ni razlike ($p = 0,092$). Pri vazelinu 2 so imeli vzorci po obdelavi manjšo mazljivost ($p < 0,05$) od neobdelanega vzorca, le mazljivost vzorcev z antioksidantoma je približno enaka ($p = 0,34$). Pri vazelinu 8 ni razlike med obdelanim vzorcem in vzorcema obdelanima z antioksidantoma (ATF $p = 0,45$; BHT $p = 0,48$), imajo pa vsi statistično značilno manjšo mazljivost od neobdelanega vzorca ($p < 0,05$). Tako kot pri vazelinu 2 tudi pri vazelinu 8 ni razlike med obdelanima vzorcema z antioksidanti ($p = 0,21$). Na spodnjem grafu (slika 6) vidimo, da so izmerjene mazljivosti, kjer smo dodali antioksidanta, značilno manjše od mazljivosti neobdelanih vazelinov. Menimo, da v splošnem dodatek enega ali drugega antioksidanta pred obdelavo ne vpliva na zmanjšanje mazljivosti vazelinov, ampak je le posledica obdelave vazelinov.

Zanimalo nas je, kaj se zgodi, če vazelin najprej obdelamo in potem dodamo antioksidant. Eksperiment smo izvedli le na vazelinu 8. Vidimo (slika 6), da se je mazljivost približala neobdelanemu vazelinu, kar ni v skladu s prejšnjo ugotovitvijo, da dodatek antioksidantov nima vpliva na mazljivost pri obdelavi vazelina. Možno je tudi, da je do te razlike prišlo zaradi različnih pogojev obdelave vzorcev *obdelan 1* in *obdelan 2* vazelina 8 ali zaradi ponovnega segrevanja vzorca ob dodatku antioksidantov. Vzorec *obdelan 1* je imel maso 200 g v 250 mL čaši, vzorec *obdelan 2* pa je imel maso 600 g v 1000 mL čaši. Temperatura in hitrost mešanja sta bili enaki, prav tako smo uporabili isti grelnik in termometer pri obeh vzorcih. Zaradi različne površine čaše na grelniku in količine vzorca je bil vzorec *obdelan 1* izpostavljen večjim obremenitvam in temperaturi. Vzorec *obdelan 2* pa je med mešanjem in segrevanjem doživel manjše obremenitve. Najverjetneje je bila temperatura v spodnjem delu čaše višja kot pri vrhu vazelina zaradi oddaljenosti od grelnika in veliko večje količine vzorca, zato je bil prenos toplote dosti počasnejši pri vzorcu *obdelan 2*. Temperatura vazelina je bila sicer pri obeh vzorcih kontrolirana, vendar je odvisna tudi od nastavitve termometra, temperaturne izgube, gradienti pa so vsekakor različni, kot je omenjeno zgoraj. Po dveh ponovitvah segrevanja in zamrzovanja vzorca *obdelan 2*, smo vazelinu dodali antioksidant in ponovno segrevali dve uri ($T = 81\text{ }^{\circ}\text{C}$, 320 rpm). Morda se je po tej temperaturni obremenitvi porušena struktura vazelina obnovila. Za potrditev katere izmed teh treh teorij bi bile potrebne nadaljnje raziskave.



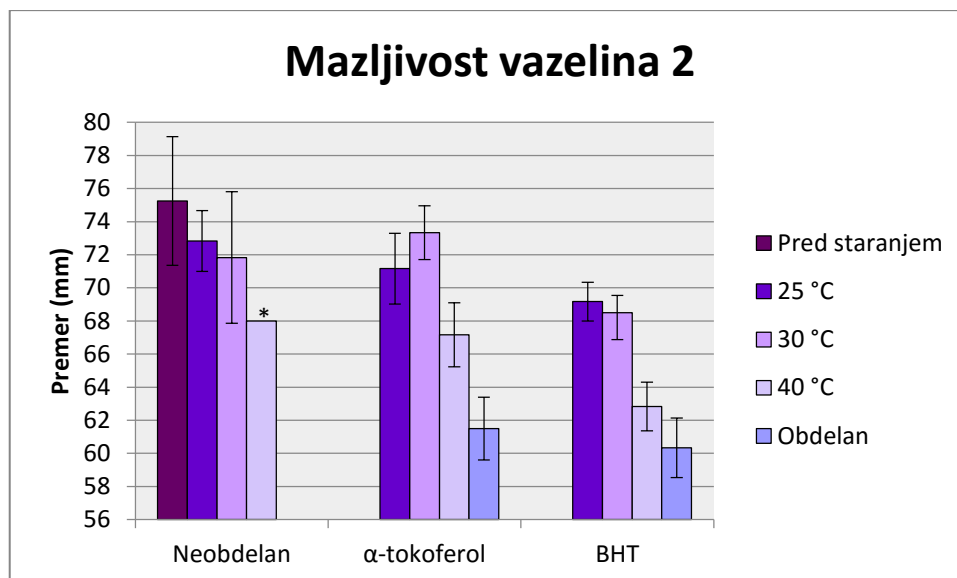
Slika 6: Mazljivost vzorcev vazelina 1, 2 in 8 z dodanima antioksidantoma (ATF, BHT) po 15 minutah z 2 kg utežjo.

Vzorci vazelina 2 in vazelina 8 smo tri mesece hranili v temnem prostoru pri različnih temperaturah (25 °C, 30 °C in 40 °C) in nato izmerili mazljivost. Pri vazelinu 2 ni statistično značilne razlike med neobdelanim vzorcem pred staranjem in neobdelanimi vzorci po staranju pri 30 °C ter pri 25 °C, je pa opazen trend padanja mazljivosti (slika 7). Neobdelanim vzorcem vazelina 8 se je po staranju mazljivost izraziteje zmanjšala kot pri vzorcih vazelina 2. Vsi trije neobdelani starani vzorci vazelina 8 so značilno manjši od neobdelanega vzorca pred staranjem (slika 8). Vidimo, da se pri neobdelanih vzorcih vazelina 2 in vazelina 8 z višanjem temperature mazljivost zmanjšuje. Temperaturno obremenjeni vzorci so primerljivi s staranimi, saj se mazljivost vedno zmanjša. Pričakovano pa je mazljivost obdelanih vazelinov najmanjša, kajti pri obdelavi je vazelin podvržen največjim temperaturnim obremenitvam v primerjavi z vazelini pri različnih pogojih staranja.

Neobdelanim vzorcem vazelina 2 in vazelina 8 smo dodali antioksidanta (ATF in BHT) ter jih prav tako starali tri mesece pri različnih temperaturah. Mazljivost vzorcev vazelina 2 z antioksidanti se je zmanjšala v primerjavi z neobdelanim vzorcem pred staranjem (slika 7 in slika 8). Pri vazelinu 2 imajo vzorci z dodanim α -tokoferolom na 40 °C statistično manjšo mazljivost od neobdelanih na staranju pri 25 in 30 °C. Kjer je bil dodan BHT, so mazljivosti statistično manjše od neobdelanih vzorcev pri vseh temperaturah. Na zmanjšanje mazljivosti je verjetno vplivalo segrevanje ($T = 81$ °C in 320 rpm, 2 h)

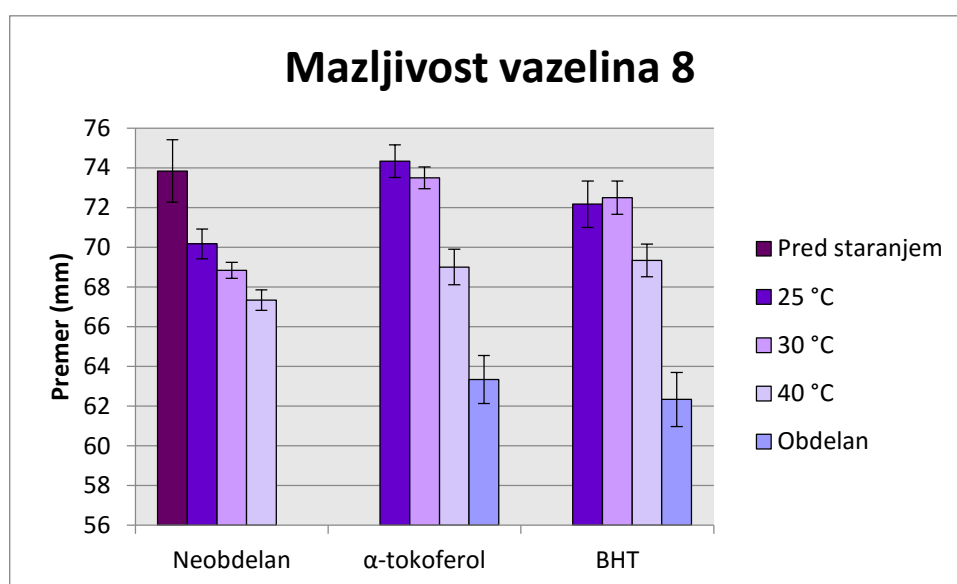
vazelina ob dodatku antioksidanta, saj to predstavlja temperaturno obremenitev in lahko vodi v spremembo strukture vazelina. Pri vazelinu 8 segrevanje verjetno ni imelo tolikšnega vpliva, saj so rezultati mazljivosti vzorcev z antioksidanti primerljivi z mazljivostjo neobdelanega vzorca pred staranjem. Med neobdelanimi vzorci po staranju in vzorci z antioksidanti ni razlike v mazljivosti pri nižjih temperaturah, medtem ko je pri 40 °C razlika opazna. Enako kot pri neobdelanih vzorcih po staranju je opazen trend padanja mazljivosti z višanjem temperature pri vzorcih z dodanima antioksidantoma. Ponovno domnevamo, da dodatek antioksidanta ne vpliva na mazljivost, četudi je vazelin izpostavljen različnim temperaturam za določen čas.

Ugotovili smo, da se vazelinu po določenem času shranjevanja v temnem prostoru mazljivost zmanjša, kar je primerljivo s temperaturno obremenjenimi vzorci. Višja kot je temperatura prostora, v katerem je hranjen, manjša je mazljivost. Pri neobdelanih vzorcih in vzorcih z dodanim antioksidantom je značilen trend padanja mazljivosti. Trend padanja mazljivosti z višanjem temperature je opazen pri neobdelanih vzorcih kot tudi pri vzorcih z dodanimi antioksidanti. Najizrazitejši padec mazljivosti je opazen pri vzorcih vazelina 2 in 8, kjer sta dodana antioksidanta, ki so bili hranjeni pri najvišji temperaturi (40 °C). Če primerjamo starane neobdelane vazeline z obdelanimi, ki smo jim dodali antioksidanta, vidimo, da so pri vazelinu 2 vse mazljivosti manjše od neobdelanih vzorcev pri enaki temperaturi shranjevanja, razen vzorca z α -tokoferolom pri 30 °C. Pri vazelinu 8 so vse mazljivosti vzorcev z antioksidanti pri enaki temperaturi višje od neobdelanih. Za natančnejšo razlago teh rezultatov bi morali izvesti več meritev oziroma ponovitev.



*– predvidena mazljivost, saj zaradi premajhne količine vzorca meritev nismo mogli izvesti

Slika 7: Mazljivost vazelina 2 pred in po trimesečnem staranju pri različnih temperaturah.



Slika 8: Mazljivost vazelina 8 pred in po trimesečnem staranju pri različnih temperaturah.

4.2 Slikanje

Z metodo slikanja smo preverjali spremembo barve vazelina, ki je s prostim očesom nismo opazili. Uporabili smo dve metodi slikanja, vendar pri metodi A nismo dobili enotnih rezultatov s programom Image J 1.49. Predvidevamo, da je na različne vrednosti vplivala predvsem sprememba svetlobe v prostoru, ki je odvisna od dnevne svetlobe. Odločili smo

se za statistično obdelavo vrednosti, ki smo jih pridobili z metodo B, saj so bili pogoji slikanja bolj konstantni in zato bolj ponovljivi.

Z dvostranskim testom ANOVA ($\alpha = 0,05$) smo ugotavljali, kateri izmed kanalov (rdeč, zelen ali moder) je ustrezen za razlikovanje med neobdelanimi in obdelanimi vzorci vazelinov. Koliko je posamezni barvni kanal prepoznal razliko med vzorci vazelinov 1–8, med neobdelanim in obdelanim vazelinom ter obema faktorjema skupaj, je prikazano v preglednici VI. Za nas najpomembnejši rezultat je sprememba barve med neobdelanim in obdelanim vazelinom, ki jo je najbolje zaznal zelen kanal (16,29 %). V preglednici VI je prikazan tudi odstotek napake med rezultati, ki so lahko posledica priprave vzorcev, pogojev slikanja ali drugih nam neznanih vzrokov.

Preglednica VI: Ujemanje rezultatov vazelinov glede na barvne kanale z dvostranskim testom ANOVA.

	Rdeč	Zelen	Moder
Vzorci vazelina	19,92 %	14,36 %	48,22 %
Proces (N/O)	8,60 %	16,29 %	5,80 %
Oba faktorja skupaj	23,11 %	18,83 %	16,33 %
Napaka	48,11 %	50,52 %	29,66 %

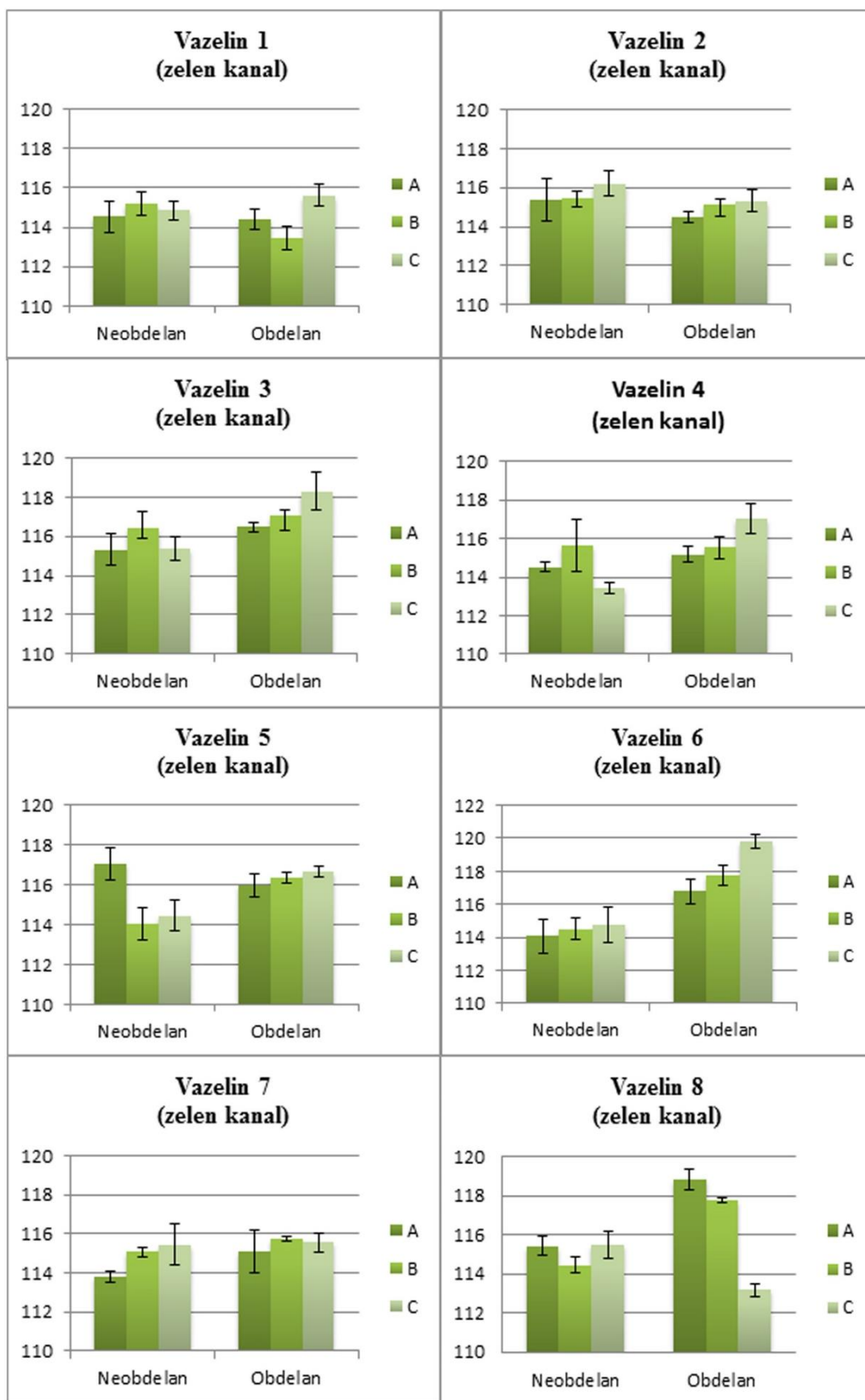
Predvsem nas je zanimalo, ali s temperaturno obdelavo vazelina vplivamo na spremembo barve. Na pogled so se zdeli vsi vzorci vazelinov pred in po obdelavi enake barve, razen obdelanega vazelina 3, ki se je zdel rahlo rumenkast. Te spremembe barve z enostranskim testom ANOVA ($\alpha = 0,05$) nismo zaznali. Smo pa ugotovili, da se barva neobdelanega vazelina od obdelanega vazelina značilno razlikuje pri vseh vzorcih ($p < 0,05$), razen pri vazelinu 1 ($p = 0,246$), kar je prikazano v preglednici VII.

Preglednica VII: Rezultati barve neobdelanih in obdelanih vzorcev vazelinov z enostranskim testom ANOVA.

Povezava (Vazelin /obdelava)	Test enakih varianc ($\alpha = 0,05$)			Enostranska ANOVA			Komentar Je razlika med N in O?
	F-test ($F_{\text{kritična}}=$ 4.60)	p- vrednost	Rezultat	F-test ($F_{\text{kritična}}=$ 4.20)	p- vrednost	Rezultat	
Vrednotenje spremembe N/O							
Vazelin 1	4.15	0.051	H_0^*	1.40	0.246	H_0^*	Ne
Vazelin 2	1.08	0.307	H_0^*	6.82	0.014	H_1^*	Da
Vazelin 3	0.05	0.817	H_0^*	21.55	0.000	H_1^*	Da
Vazelin 4	0.29	0.594	H_0^*	11.76	0.002	H_1^*	Da
Vazelin 5	4.16	0.051	H_0^*	47.61	0.000	H_1^*	Da
Vazelin 6	3.20	0.085	H_0^*	69.48	0.000	H_1^*	Da
Vazelin 7	1.26	0.271	H_0^*	5.32	0.029	H_1^*	Da
Vazelin 8	5.17	0.003	H_1^*	6.67	0.001	H_1^*	Da

H_0^* – vse variance so enake, H_1^* – najmanj ena varianca je različna

Povprečne vrednosti zelenega kanala neobdelanih vazelinov se gibljejo med 114,4 in 115,7, obdelanih vazelinov pa med 114,4 in 118,1 (slika 9). Razlike med vrednostmi so majhne in tudi variabilnosti med meritvami so nizke, zato je odstotek napake visok. Neobdelani vzorci so imeli enotnejše vrednosti med petrijevki A, B in C kot tudi med različnimi vazelini. Le pri neobdelanem vazelinu 4 je petrijevka B imela velik razpon med vrednostmi. Večjo variabilnost zelenega kanala med petrijevki kot tudi med vazelini smo opazili pri obdelanih vzorcih vazelina. Ti rezultati slikanja so skladni z rezultati mazljivosti, pri katerih so vrednosti obdelanih vazelinov prav tako bolj variabilne. Torej obdelava vazelina povzroči spremembe, ki jih opazimo z obema metodama. Pri neobdelanih vazelinih 3, 6 in 8 je do večjega odstopanja rezultatov od povprečja prišlo le pri petrijevki C. Razlog za odstopanje vedno enake petrijevke je lahko v pripravi vzorcev, saj smo vazelin najprej vlivali v petrijevko A in nazadnje v petrijevko C. Pri vlivanju se je vazelin ohlajal, zato je bilo tekoče komponente najmanj prisotne v petrijevki C. Glede na rezultate je metoda boljše za neobdelane vazeline, saj so vrednosti posameznega vzorca vazelina enotnejše. Standardna deviacija je pri vseh vzorcih dokaj velika, kar kaže na pomanjkljivost metode v smislu slabe ločljivosti. Če bi lahko zagotovili konstantno temperaturo vazelina ves čas vlivanja, bi metodo lahko še izboljšali.



Slika 9: Rezultati za zeleni kanal pri slikanju neobdelanih in obdelanih vzorcev posameznega vazelina.

Rezultate neobdelanega in obdelanega vazelina smo razdelili na rdeč, zelen in moder kanal. Zanimalo nas je, ali so rezultati statistično enaki med različnimi petrijevki (A, B in C) istega vazelina glede na posamezen kanal. Rezultate smo obdelali z enostranskim testom ANOVA. Kot vidimo v spodnji preglednici VIII, se vzorci neobdelanega vazelina med petrijevki A, B in C najbolj ujemajo v zelenem kanalu, kar smo glede na rezultate iz preglednice VI pričakovali. Pri petih (vazelin 1, 2, 3, 5 in 6) od osmih vzorcev neobdelanega vazelina, pri zelenem kanalu ni značilne razlike med petrijevki. Najbolj homogene barve je neobdelan vazelin 6, pri katerem ni značilne razlike med petrijevki neobdelanega vzorca pri vseh treh barvnih kanalih. Barva obdelanih vazelinov je med petrijevki A, B in C enakega vzorca vazelina bolj neenotna. Nobenemu izmed osmih vzorcev obdelanih vazelinov se barve petrijevke med seboj niso ujemale v vseh treh barvnih kanalih. Barva vazelina 8 se v petrijevkah najbolj razlikuje, saj je do značilnih razlik prišlo pri vseh kanalih neobdelanega in obdelanega vzorca. Da so rezultati obdelanega vazelina 8 značilno različni, je pričakovano, saj smo že zgoraj omenili, da petrijevka C odstopa od rezultatov petrijevke A in B. Ponovno lahko potrdimo, da je metoda variabilna.

Preglednica VIII: Povezava med petrijevki (A, B in C) v barvnih kanalih z enostranskim testom ANOVA.

Povezava (petrijevka/kanal)	Neobdelan			Obdelan		
	Rdeč	Zelen	Moder	Rdeč	Zelen	Moder
Vazelin 1	×	✓	×	×	×	×
Vazelin 2	×	✓	✓	×	×	×
Vazelin 3	×	✓	×	✓	×	✓
Vazelin 4	×	×	×	✓	×	✓
Vazelin 5	×	✓	×	×	✓	×
Vazelin 6	✓	✓	✓	✓	×	×
Vazelin 7	✓	×	✓	✓	✓	×
Vazelin 8	×	×	×	×	×	×

×– variance med petrijevki so različne, ✓– variance med petrijevki so enake

Vazelin 8 smo slikali z in brez dodatka antioksidantov (α -tokoferol in BHT) in ugotovili, da statističnih razlik med obdelanim vzorcem in tistimi, ki smo jim dodali antioksidanta in nato obdelali, ni (preglednica IX, skupina A), so pa vsi različni od neobdelanega (preglednica IX, skupina B). Enak rezultat smo dobili že s statistično obdelavo metode

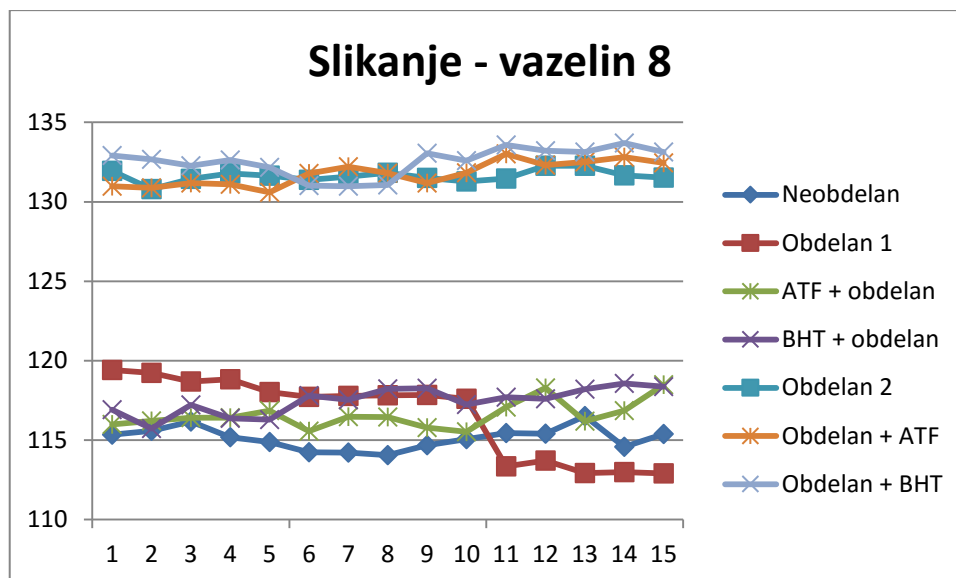
mazljivosti. Zaključimo lahko, da dodatek antioksidantov pred obdelavo pri vazelinu 8 ni vplival na spremembo barve, kot tudi ne na mazljivost vazelina.

Preglednica IX: Rezultati barve vazelina 8 z enostranskim testom ANOVA.

Povezava (Vazelin /obdelava)	Test enakih varianc ($\alpha = 0,05$)			Enostranska ANOVA			Komentar
	F-test ($F_{\text{kritična}} = 3.59$)	p- vrednost	Rezultat	F-test ($F_{\text{kritična}} = 2.77$)	p- vrednost	Rezultat	
Vrednotenje spremembe N/O							
Vazelin 8	5.17	0.003	H_1^*	6.67	0.001	H_1^*	Da
Parna primerjava – Tukey test							
	Skupina						
Obdelan + BHT	A						-
Obdelan	A						-
Obdelan + ATF	A						-
Neobdelan				B			Ne

H_0^* – vse variance so enake, H_1^* – najmanj ena varianca je različna

Na sliki 10 so prikazane vrednosti petrijevke A, B, C vazelina 8 z dodanima antioksidantoma pred in po obdelavi. Kot smo zapisali že zgoraj, vidimo, da pri vzorcu *obdelan 1* vrednosti petrijevke C odstopajo od A in B. Prav tako je lepo vidno, da ni razlike v zelenem kanalu neobdelanega vzorca ter obdelanimi z dodanima antioksidantoma. Pri vzorcih vazelina, katerega smo obdelali v večjih količinah (600 g) in mu nato dodali antioksidanta, so vrednosti zelenega kanala precej višje in enotne. Vendar, če med seboj primerjamo vzorec *obdelan 2* z vzorcema, kjer smo dodali antioksidanta po obdelavi, ni razlike med rezultati. Dodatek antioksidanta torej ne vpliva na zeleni kanal vazelina. To razliko zaradi količine vzorca smo videli že pri mazljivosti.



Slika 10: Vrednosti zelenega kanala pri vazelinu 8.
X-os: 1–5 petrijevka A, 6–10 petrijevka B, 11–15 petrijevka C

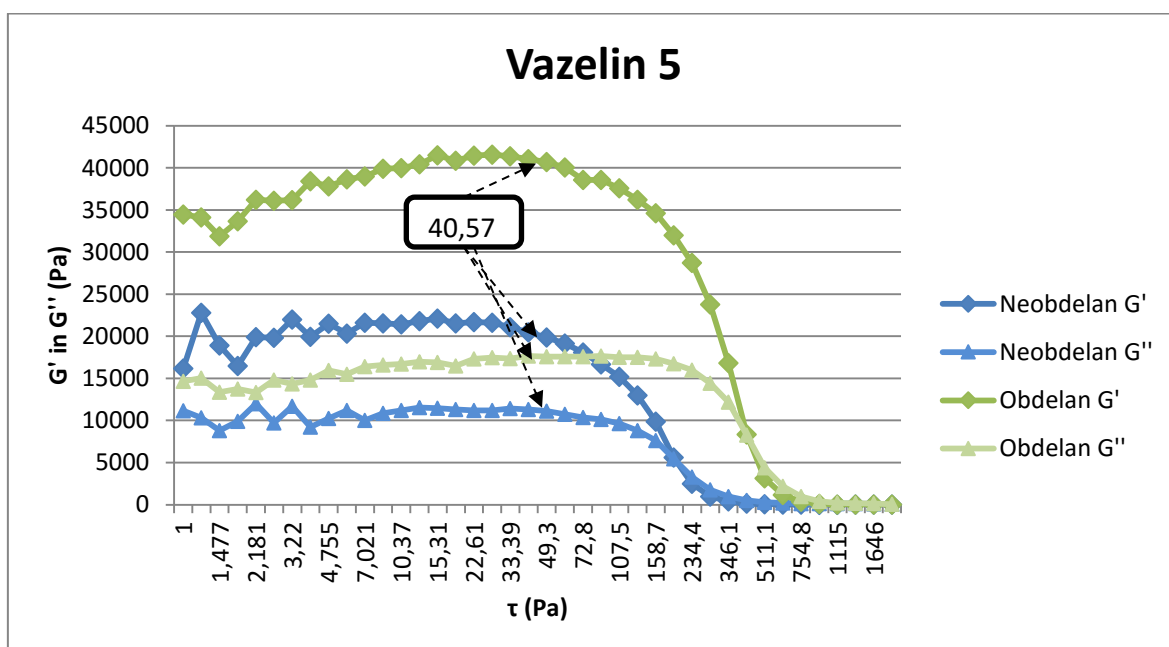
Z mazljivostjo smo ugotovili, da je statistično značilna razlika med neobdelanimi in obdelanimi vazelini, s slikanjem pa to le še potrdimo, čeprav pri obeh metodah eden izmed vzorcev (mazljivost: vazelin 1, slikanje: vazelin 6) izstopa oziroma ni prišlo do značilne razlike. Trendi so bili pri obeh metodah enaki: mazljivost se je pri temperaturni obdelavi pri vseh vzorcih zmanjšala, zeleni kanal pa pri večini vzorcev povečal. Temperaturno obdelanemu vazelinu se struktura poruši in ni več tako homogena, zato pričakovano pride do večjih odstopanj pri meritvah pri obeh metodah. Glede na rezultate obeh metod lahko zaključimo, da se vazelini po obdelavi spremenijo. Zmanjša se jim mazljivost in spremeni barva. Prav tako obe metodi potrjujeta večje odstopanje med rezultati obdelanih vazelinov.

4.3 Reologija

Z oscilacijskim testom pri konstantni frekvenci smo preučevali dinamična modula G' in viskoznosti G'' v odvisnosti od strižne napetosti oziroma deformacije. Z naraščanjem amplitude strižne napetosti smo ugotovili, da pri nizki strižni napetosti lahko določimo LVO, v katerem so reološke lastnosti vzorca neodvisne od amplitude strižne napetosti. V tem območju je značilno, da sta G' in G'' konstantna, vendar zavzemata različne vrednosti. V celotnem območju majhnih strižnih napetosti zavzema elastičen modul višje vrednosti, kar nakazuje na izrazitejšo elastične lastnosti vzorcev. Takšno obnašanje v LVO je mogoče

pripisati interakciji med tekočino, mikrokristalnimi in kristalnimi ogljikovodiki, ki tvorijo šibko tridimenzionalno mrežo. (5) Pri večjih vrednostih strižne napetosti je odziv vzorcev nelinearen, saj pride do sunkovitega padca obeh dinamičnih modulov. Notranja tridimenzionalna struktura vzorcev se poruši. Opazili smo, da je padec elastičnega modula intenzivnejši, torej nanj velike vrednosti strižne napetosti močneje vplivajo kot na viskoznost.

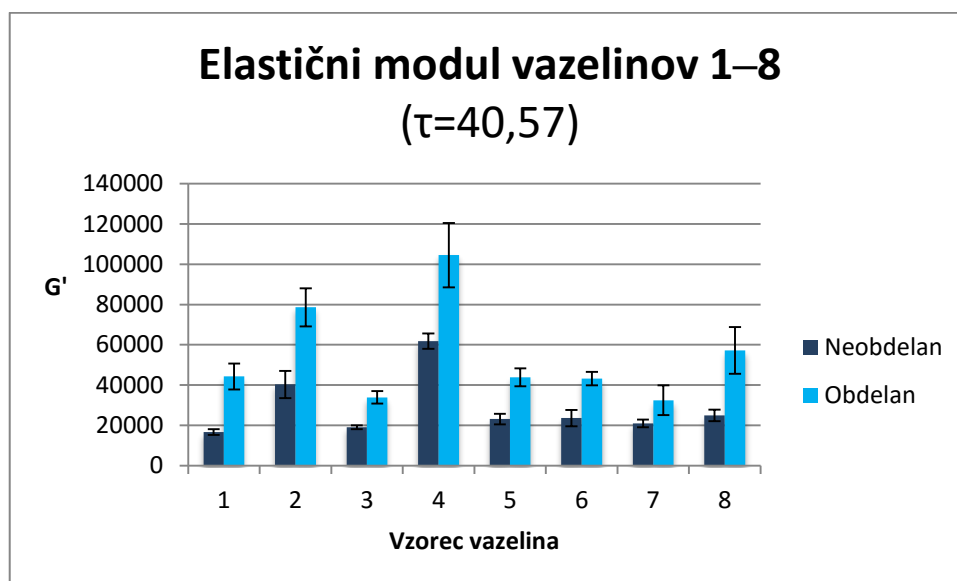
Na reogramu vazelina 5 (slika 11) je lepo vidno, da se obdelanemu vazelinu poveča čvrstost, kar smo opazili že pri mazljivosti. Po obdelavi postane vazelin bolj elastičen, saj vidimo da se G' zelo poveča v primerjavi z G'' in se mu zato podaljša tudi LVO.



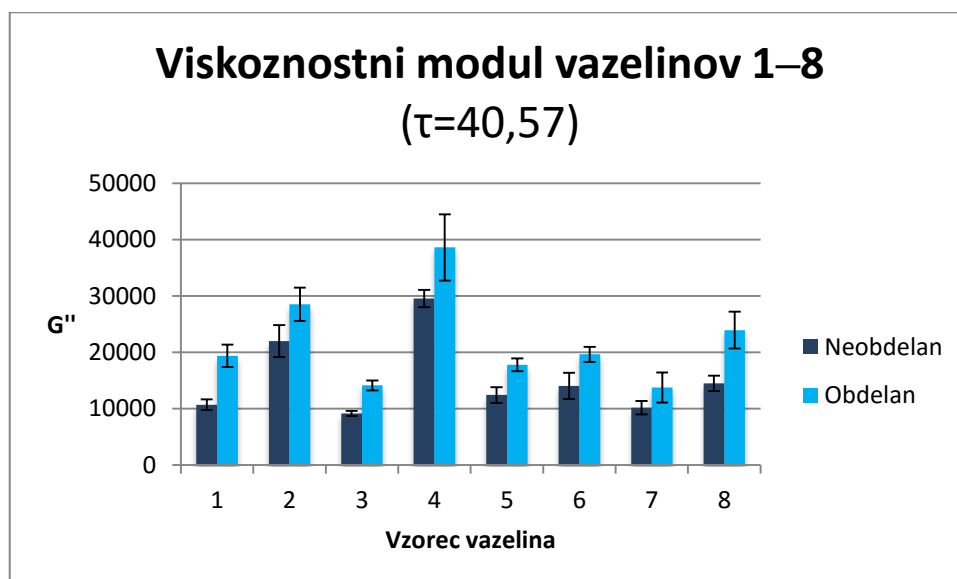
Slika 11: Vrednosti elastičnega (G') in viskoznostnega (G'') modula neobdelanega in obdelanega vazelina 5.

Za obdelavo podatkov smo izbrali točno določeno vrednost strižne napetosti (v točki $\tau = 40,57$), ki je bila pri vseh vzorcih v LVO in primerjali rezultate. Vseh 8 obdelanih vazelinov ima elastični in viskoznostni modul statistično večji v primerjavi z neobdelanim (slika 12 in slika 13). Do največje spremembe in najvišjih vrednosti med neobdelanim in obdelanim vzorcem G' ($N = 61786$, $O = 104514$) in G'' ($N = 29535$, $O = 38606$) je prišlo pri vazelinu 4. Pri meritvah mazljivosti je imel vazelin 4 najmanjšo mazljivost, tako neobdelan kot obdelan. Iz rezultatov obeh metod lahko sklepamo, da se je po temperaturni obremenitvi najbolj povečala čvrstost vazelina 4. Pri ostalih vazelinah korelacije med

mazljivostjo in dinamičnima moduloma ni, morda zaradi preveč variabilne metode mazljivosti ali ker metodi ne merita čisto enakih lastnosti vazelina.



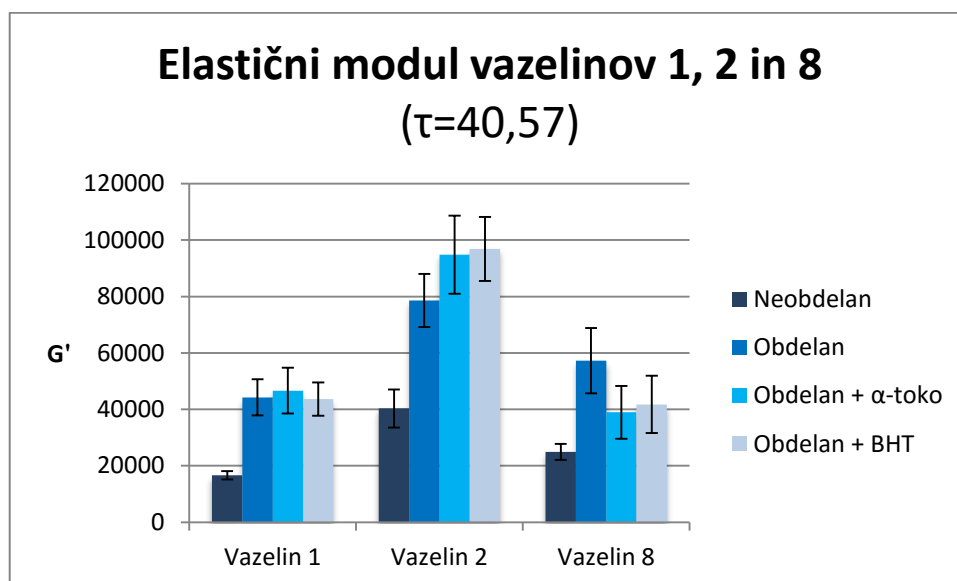
Slika 12: Vrednosti elastičnega (G') modula neobdelanih in obdelanih vzorcev vazelinov pri $\tau = 40,57$.



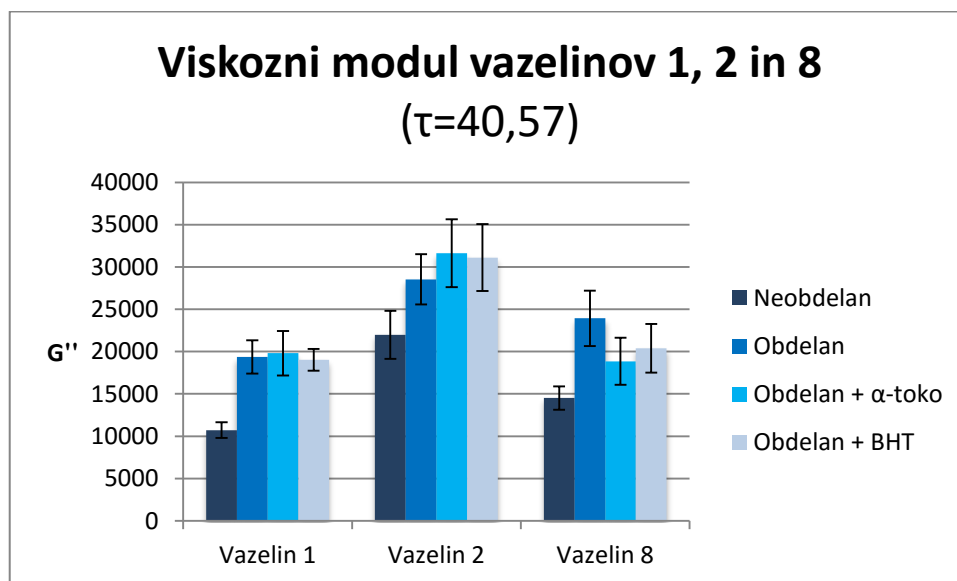
Slika 13: Vrednosti viskoznega (G'') modula neobdelanih in obdelanih vzorcev vazelinov pri $\tau = 40,57$.

Dodatek antioksidantov pri vazelinih 1, 2 in 8 ni vplival na dinamična modula, vrednosti so se gibale v enakem območju kot pri obdelanih vzorcih brez dodatka antioksidantov (slika 14 in slika 15). So pa vsi vzorci z dodanima antioksidantoma, kot tudi obdelani vazelini brez antioksidantov, izkazovali značilno razliko glede na neobdelane vzorce, enako kot pri

metodi mazljivosti in slikanja, kar dodatno potrjuje, da dodatek antioksidantov ne vpliva na opazovane spremembe pri obdelavi vazelina.



Slika 14: Vrednosti elastičnega modula (G') vazelina 1, 2 in 8.



Slika 15: Vrednosti viskoznega modula (G'') vazelina 1, 2 in 8.

Z zgornjimi metodami smo pri večini vazelinov dokazali statistično značilno razliko med neobdelanimi in obdelanimi vzorci. Pri mazljivosti eden od osmih vazelinov ni bil statistično različen, vendar menimo, da je metoda zadovoljiva, saj so standardne napake majhne, torej je ponovljivost dobra. Z določanjem barve vazelina smo prav tako zaznali statistične spremembe med neobdelanim in obdelanim vazelinom, le pri enem od osmih

vzorcev sprememba ni bila opazna. Reologija, ki je najbolj zanesljiva, natančna in ponovljiva metoda, je statistično značilno razliko med neobdelanimi in obdelanimi vazelini zaznala pri vseh osmih vzorcih. Vazelinom, ki jih temperaturno obremenimo, se spremeni notranja struktura, kar vpliva na fizikalne lastnosti in barvo vazelina. S staranjem vazelinov smo pokazali, da se pri višjih temperaturah mazljivost manjša. Višja kot je bila temperatura, kateri je bil vazelin izpostavljen tri mesece, manjša je bila mazljivost. Na podlagi tega lahko sklepamo, da se bo vazelinom tekom normalnega staranja mazljivost zmanjševala. Čeprav barve in reologije vazelinom po staranju nismo določili, predvidevamo, da bi bili rezultati podobni obdelanim vazelinom. Vrednosti zelenega kanala ter modula elastičnosti in viskoznosti bi se najverjetneje povečali.

Pri vazelinih, ki smo jim dodali antioksidanta in jih nato temperaturno obremenili z metodami mazljivosti, slikanja in reologije, v večini primerov nismo zaznali značilne razlike v primerjavi z obdelanimi vazelini brez dodanih antioksidantov. Antioksidanti torej ne vplivajo na fizikalne lastnosti in barvo vazelina, ki so jih povzročile temperaturne obremenitve.

4.4 Določanje peroksidnega števila

S potenciometrično titracijo smo neobdelanim in obdelanim vazelinom brez in z dodanim antioksidantom določili peroksidno število. V spodnji preglednici X vidimo, da so neobdelani vzorci vazelina (stolpec N) imeli začetno peroksidno število nizko, kar si za kakovosten vazelin želimo, tako tisti, ki smo jih vzeli iz originalne embalaže, kot tisti, ki so že bili izpostavljeni svetlobi. Po temperaturni obdelavi vazelinov (stolpec O) so se peroksidna števila minimalno povečala pri vseh vzorcih. Pri vazelinih 3, 5, 6 in 7 je bil porast peroksidov statistično značilno povečan, čeprav so bile vrednosti še vedno nizke. Najvišje peroksidno število neobdelanega vzorca je imel vazelin 3. Rok uporabe vazelina 3 je potekel leta 2013, zato rezultati niso presenetljivi. Prav tako je vazelin 3 vseboval največ peroksidov po obdelavi, kar je pričakovano, kajti če vzorec že v začetku vsebuje več peroksidov, mu po temperaturnih obremenitvah še hitreje narastejo. Pri obdelanih vazelinih 1, 2, 4 in 8 nismo zaznali značilnega povečanja peroksidov. Porast peroksidnega števila po temperaturni obdelavi je zelo majhen, zato lahko zapišemo, da so vazelini dobro očiščeni nečistot in zato odporni na oksidacijo.

Neobdelanim vazelinom 1, 2 in 8 smo dodali antioksidant α -tokoferol (stolpec ATF + O), ki značilno ni vplival le na vazelin 2. Vazelinu 1 in vazelinu 8 pa se je peroksidno število statistično značilno povečalo. Dodatek antioksidanta BHT (stolpec BHT + O) ni značilno vplival na vzorce vazelina 1, 2 in 8 v primerjavi z neobdelanimi vzorci (stolpec N). Vazelinu 8 smo dodali antioksidanta pred in po obdelavi in peroksidno število se je povečalo. Zaradi začetnih nizkih peroksidov z antioksidanti nismo uspeli vplivati na stabilnost vazelina. Vzorcem vazelina, ki se jim je peroksidno število statistično povečalo ob dodatku antioksidanta, se je to zgodilo verjetno zaradi same obdelave (segrevanje, zamrzovanje), saj vidimo, da so vrednosti primerljive obdelanim vzorcem. Za boljši vpogled na vpliv antioksidanta na peroksidno število, bi antioksidanta morali dodati vazelinu 3, ki je imel pred in po obdelavi najvišje peroksidno število.

Preglednica X: Peroksidna števila in standardna deviacija neobdelanih in obdelanih vazelinov ter vazelinov z dodanimi antioksidanti.

Legenda: N – neobdelan, O – obdelan, ATF – α -tokoferol, BHT – butilhidroksitoluen, n – število meritev.

Vzorec	N	O	ATF + O	BHT + O	O + ATF	O + ATF
Vazelin 1	0,02 ± 0,03 (n=3)	0,05 ± 0,01 (n=3)	0,22 ± 0,01 (n=4)	0,18 ± 0,08 (n=5)		
Vazelin 2	0,01 ± 0,02 (n=3)	0,00 ± 0,00 (n=3)	0,18 ± 0,14 (n=4)	0,09 ± 0,04 (n=5)		
Vazelin 3	0,95 ± 0,05 (n=3)	3,92 ± 1,36 (n=5)				
Vazelin 4	0,10 ± 0,07 (n=3)	0,25 ± 0,00 (n=3)				
Vazelin 5	0,06 ± 0,01 (n=3)	0,16 ± 0,02 (n=3)				
Vazelin 6	0,09 ± 0,06 (n=3)	0,26 ± 0,06 (n=3)				
Vazelin 7	0,15 ± 0,05 (n=3)	0,28 ± 0,01 (n=3)				
Vazelin 8	0,05 ± 0,02 (n=3)	0,17 ± 0,08 (n=6)	0,30 ± 0,19 (n=6)	0,28 ± 0,16 (n=6)	0,17 ± 0,02 (n=3)	0,30 ± 0,09 (n=6)

Kot smo že omenili, smo vazelin 2 in vazelin 8 izpostavili različnim temperaturam za tri in šest mesecev. Iz spodnje preglednice XI lahko razberemo, da so vzorci z in brez antioksidantov stabilni tako po treh kot po šestih mesecih pri različnih temperaturah. Na

nastajanje peroksidov nista vplivala ne čas in ne temperatura, katerima so bili vzorci izpostavljeni. Glede na rezultate ponovno potrdimo, da so vazelini kakovostni, dobro očiščeni nečistot.

Preglednica XI: Začetno peroksidno število in peroksidno število po treh in šestih mesecih za vazelina 2 ter 8, ki sta bila izpostavljena različni temperaturi.

LOQ je meja kvantifikacije.

Vzorec	Začetna	3 mesece stabilnosti			6 mesecev stabilnosti		
		25°C/60%	30°C/65%	40°C	25°C/60%	30°C/65%	40°C
Vazelin 2	0,01	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,05
Vazelin 2 + ATF		0,04	<LOQ	0,04	<LOQ	<LOQ	0,07
Vazelin 2 + BHT		<LOQ	0,04	<LOQ	<LOQ	0,05	0,04
Vazelin 8	0,05	0,08	0,07	0,07	<LOQ	0,07	0,07
Vazelin 8 + ATF		0,07	0,07	0,09	0,08	0,08	0,09
Vazelin 8 + BHT		0,06	0,07	0,07	0,07	<LOQ	<LOQ

4.5 Določanje vsebnosti α -tokoferola in BHT s tekočinsko kromatografijo

S tekočinsko kromatografijo (HPLC oziroma UPLC) smo določali vsebnost antioksidantov α -tokoferol in BHT v vazelinu 2 in 8 po treh in šestih mesecih. V preglednici XII, kjer so rezultati vsebnosti α -tokoferola, vidimo, da ni prišlo do bistvenega padca po treh in niti ne po šestih mesecih. Zaznane koncentracije α -tokoferola pri neobdelanem vazelinu 8 in obdelanem vazelinu 8 z dodanim BHT nakazujejo na dodatek antioksidanta α -tokoferol pri proizvodnji vazelina. V preglednici XIII, kjer so podane koncentracije BHT, prav tako vidimo, da ni prišlo do bistvenega padca antioksidanta v časovnem obdobju 6 mesecev.

Preglednica XII: Koncentracije (v ppm) antioksidanta α -tokoferola v vzorcih.

Začetna koncentracija antioksidanta je izračunana teoretično. LOD je meja detekcije.

Vzorec	Začetna	3 meseci stabilnosti			6 mesecev stabilnosti		
		25°C/60%	30°C/65%	40°C	25°C/60%	30°C/65%	40°C
Vazelin 2		<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Vazelin 2 + ATF	100	112	111	105	110	109	104
Vazelin 2 + BHT		<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Vazelin 8		7	7	7	8	7	7
Vazelin 8 + ATF	107	124	120	114	119	118	115
Vazelin 8 + BHT		8	9	9	8	8	9

Preglednica XIII: Koncentracije (v ppm) antioksidanta BHT v vzorcih.

Začetna koncentracija antioksidanta je izračunana teoretično. LOD je meja detekcije.

Vzorec	Začetna	3 meseci stabilnosti			6 mesecev stabilnosti		
		25°C/60%	30°C/65%	40°C	25°C/60%	30°C/65%	40°C
Vazelin 2		<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Vazelin 2 + ATF		<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Vazelin 2 + BHT	101	97	99	99	95	94	95
Vazelin 8		<LOD	<LOD	<LOD	2	<LOD	6
Vazelin 8 + ATF		<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Vazelin 8 + BHT	101	93	91	92	91	89	90

Glede na rezultate tekočinske kromatografije lahko povzamemo, da vazelinom z dodanimi antioksidanti, ki so zaščiteni pred svetlobo, koncentracija bistveno ne pade. Na vsebnost antioksidantov ne vplivata ne čas in ne temperatura (med 25 °C in 40 °C), pri kateri je vazelin skladiščen.

5 SKLEP

Vzorcem vazelina, ki smo jih temperaturno obremenili, se je mazljivost pričakovano zmanjšala zaradi spremembe notranje strukture. Pri vazelinu 6 se po obdelavi mazljivost ni statistično zmanjšala, kar pripisujemo večji variabilnosti meritev obdelanega vzorca. Je pa opazen trend zmanjšane mazljivosti. Vazelinom 1, 2 in 8, ki smo jim pred obdelavo dodali 0,01 % antioksidantov α -tokoferol in BHT, se je po obdelavi mazljivost prav tako zmanjšala. Za primerjavo smo vazelinu 8 dodali antioksidanta po tem, ko smo ga temperaturno obremenili, izmerjena mazljivost pa je bila primerljiva neobdelanemu vazelinu. Možen je vpliv dodatka antioksidanta ali različna količina vzorca *obdelan 1* in *obdelan 2*, ali pa se je struktura po 2 urah segrevanja obnovila. Za potrditev katere od teh teorij bi bile potrebne nadaljnje raziskave. Menimo pa, da v splošnem dodatek antioksidanta ni vplival na fizikalne lastnosti vazelina. Vzorcem vazelina 2 in 8, ki smo jih starali tri mesece pri različnih temperaturah, se je mazljivost zmanjšala. Višja kot je bila temperatura, manjša je bila mazljivost. Še vedno pa je bila mazljivost obdelanega vazelina najmanjša, saj je bil ta vazelin izpostavljen največjim temperaturnim obremenitvam.

Rezultate metode slikanja smo razdelili na rdeč, zelen in moder kanal. Spremembo med neobdelanimi in obdelanimi vzorci je najbolje zaznal zelen kanal. Večini obdelanih vzorcev se je vrednost zelenega kanala povečala, razen pri vazelinu 1, kjer ni bilo statistične razlike. Za natančne rezultate slikanja je pomembno, da so vzorci (petrijevka A, B in C) pripravljene pod enakimi pogoji. Rezultati med petrijevkami so dokaj variabilni in v večini primerov najbolj odstopa petrijevka C. Za pripravo optimalnih vzorcev bi morali zagotoviti konstantno temperaturo vazelina, ki smo ga vlivali v petrijevke. S tem bi metodi izboljšali ponovljivost. Posebej smo primerjali slike neobdelanega vazelina 8 z obdelanim vzorcem in z vzorci, kjer smo dodali antioksidant pred in po temperaturni obremenitvi. Statistično je bila razlika značilna pri zelenem kanalu med neobdelanim in obdelanimi vzorci ter med vzorci *obdelan 1* in *obdelan 2*. Menimo, da na razlike v rezultatih niso vplivali antioksidanti, ampak različna količina obdelanih vzorcev.

Z metodo reologije pri določeni strižni napetosti smo ugotovili, da se temperaturno obdelanim vzorcem vazelina viskoznost in elastičnost povečata. Po obdelavi se vazelinu struktura poruši, postane bolj elastičen in območje LVO se mu podaljša. Tudi pri vazelinih

1, 2 in 8 z dodanimi antioksidanti sta se modula elastičnosti in viskoznosti povečala. Bila sta primerljiva obdelanim vzorcem, torej dodatek antioksidantov ni vplival na vazelin.

Kemijske lastnosti vazelina smo določili z merjenjem peroksidnega števila. Vsebnosti so bile zelo nizke pred in po obdelavi vazelinov. Vazelin 3 je imel najvišje peroksidno število pred obdelavo in posledično tudi po obdelavi, najverjetneje zaradi pretečenega roka uporabe. Vazelinom z dodanimi antioksidanti se peroksidno število ni značilno povečalo ali zmanjšalo v primerjavi z obdelanimi vazelini. Dodatek antioksidantov torej ni vplival na stabilnost vazelinov. Staranju sta bila izpostavljena vazelina 2 in 8, ki sta kot neobdelana imela nizko število peroksidov. Po treh in šestih mesecih je bilo peroksidno število še vedno zadovoljivo nizko. S tekočinsko kromatografijo smo potrdili stabilnost vazelinov na staranju in ugotovili, da se koncentracija antioksidantov v roku treh in šestih mesecev ni spremenila. Opazili smo, da je bil vazelinu 8 α -tokoferol dodan že ob proizvodnji.

Z uporabljenimi testi in metodami nismo uspeli dokazati vpliva antioksidanta na fizikalno-kemijske lastnosti vazelina. Uspešno pa smo dokazali razliko med neobdelanimi in obdelanimi vazelini ter med neobdelanimi vazelini in vazelini po staranju.

6 LITERATURA

1. Dedicated to skin. The history of Vaseline, Unilever PLC, 2008: 1–76. Dostopno prek: https://issuu.com/transformgraphics/docs/vaseline_brand_book (22. marec 2016).
2. The Vaseline® Story. Dostopno prek: <http://www.vaseline.us/Article/vaseline-history.html> (22. marec 2016).
3. Fougere E.: Vaseline, American Druggist, 1884: 62.
4. Faust H. R., Casserly E. W.: Petrolatum and requirements. Dostopno prek: http://www.calumetspecialty.com/images/pdf/articles/NPRA2003_Pet_Regulations.pdf (16. junij 2016).
5. Park E., Song K.: Rheological Evaluation of Petroleum Jelly as a Base Material in Ointment and Cream Formulations: Steady Shear Flow Behavior, Archives of Pharmacal Research, Vol. 33, No. 1, 2010: 41–150.
6. Chang G., Koo J., Song K.: Wall slip of vaseline in steady shear rheometry, Korea-Australia Rheology Journal, Vol. 15, No. 2, 2003: 55–61.
7. Smolinske S. C.: Handbook of food, drug and cosmetic excipients, CRC Press, United states, 1992: 265–269.
8. Golden M. J.: Qualitative and Quantitative Determination of Peroxides in Petrolatum, Journal of the American pharmaceutical association, 38, 1949: 301–304.
9. Cosmetics and skin: Petrolatum/Petroleum Jelly. Dostopno prek: <http://www.cosmeticsandskin.com/bcb/petrolatum.php> (22. marec 2016).
10. European Pharmacopoeia, 8. izdaja, Council of Europe, Strasbourg, 2013: 156, 1713, 1714, 2966, 2967, 3436.
11. Benčan M.: Preučevanje vplivov temperaturnih obremenitev na fizikalno-kemijske lastnosti vazelina in njegovo stabilnost, magistrska naloga, Ljubljana, Univerza Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2014: 26–42.
12. Zupančič Valant A.: Uvod v reologijo, 1. izdaja, Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2007: 15–18, 22–38.
13. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Tehnologija premazov, Skripta za vaje, 2015: 5–8.

14. Mezger T. G.: The Rheology handbook, 2. izdaja, Vincentz Network, Hannover, 2006: 29, 30.
15. Roš E.: Razvoj sklopa metod za razlikovanje med izbranimi vzorci na osnovi belega vazelina, magistrska naloga, Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2015: 27–39.
16. Kim Y., Lee C., Song K.: Rheological behavior of semi-solid ointment base (Vaseline) in steady shear flow fields, *Journal of Korean Pharmaceutical Sciences*, Vol. 37, No. 3, 2007: 137–148
17. Pečar S., Mravljak J.: Šumi življenja ali radikali in druge reaktivne snovi v telesu, 1. izdaja, Slovensko farmacevtsko društvo, Ljubljana, 2015: 138–140, 176–180.
18. Halliwell B., Gutteridge J. M. C.: Free radicals in biology and medicine, 4. izdaja, Oxford, New York, 2007: 80.
19. KamaI-Eldin A, Appelqvist L.: The Chemistry and Antioxidant Properties of Tocopherols and Tocotrienols, *Lipids*, Vol. 31, No. 7, 1996: 671–700.
20. Rowe R. C., Sheskey P. J., Quinn M. E.: Handbook of pharmaceutical excipients, Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, Frome, 2009: 31–33, 73–76, 481–483.
21. Nilsson U., Magnusson K., Karlberg O., Karlber A.: Are contact allergens stable in patch test preparations? Investigation of the degradation of d-limonene hydroperoxides in petrolatum, *Contact dermatitis*, 1999: 127–132.
22. Lanigan R. S., Yamarik T. A.: Final Report on the Safety Assessment of BHT, *International Journal of Toxicology*, 21 (Suppl. 2), 2002: 19–94.
23. Obreza A., Bevc B., Baumgartner S., Sollner Dolenc M. in Humar M.: Pomožne snovi v farmaciji: od njihovega poimenovanja do vloge v zdravlju, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2015: 28, 46, 244.