

Enkapsulace kurkuminu v koloidních disperzích

Bc. Markéta Tillerová

Diplomová práce
2021

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Markéta Tillerová**
Osobní číslo: **T19429**
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Enkapsulace kurkuminu v koloidních disperzích**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Zpracujte literární rešerzi na téma kurkumin, jeho struktura, fyzikálně-chemické vlastnosti, vliv na zdraví, vstřebatelnost. Dále popište strategie a postupy enkapsulace aktivních komponent léčiv ve farmaceutické a potravinářské praxi.

II. Experimentální část

1. Provedte experimentální přípravu koloidních disperzí kurkuminu s cílem jejího enkapsulování v koloidních micelárních systémech. Provedte fyzikálně-chemickou charakterizaci těchto systémů. Naměřená data statisticky vyhodnotte a zpracujte ve formě tabulek a obrázků. Citujte veškerou použitou literaturu.

Rozsah diplomové práce: **70 A4**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠÍŠKOVÁ. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN 80-7080-579-x
[2] LAPČÍK, L. a RAAB, M. Nauka o materiálech II, Učební texty vysokých škol, Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2001, 115 s, ISBN 80-238-6527-7
[3] BUREŠOVÁ, R. Enkapsulace vitamínu C. Diplomová práce. FT UTB, Zlín (2018)

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Lubomír Lapčík, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 8. února 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Předložená diplomová práce je zaměřena na studium enkapsulace kurkuminu v koloidních disperzích. Literární rešerše slouží jako podklad pro zpracování praktické části. Rešerše se věnuje kurkuminu, jako aktivní látce, která nese potenciál uplatnění v oblasti potravinářského průmyslu či farmacie. Další část je věnována lipozomální enkapsulaci kurkuminu v koloidních disperzích, kde jsou lipozomy jako fosfolipidové vezikuly schopné zachytit a ochránit hydrofobní a hydrofilní látky. Tyto ochranné vlastnosti je možné posílit přidáním vhodného biopolymeru, v našem případě derivátu karboxymethylcelulózy. Dále je práce zaměřena na studium stability lipozomální disperze obsahující sójový lecitin a karboxymethylcelulózu, jako vhodné enkapsulační pouzdro pro kurkumin.

Klíčová slova: kurkumin, sójový lecitin, karboxymethylcelulóza, lipozomy, stabilita, enkapsulace, disperze

ABSTRACT

The presented Master's thesis is focused on the study of curcumin encapsulation in colloidal dispersions. Literary research serves as a basic for the elaboration of the practical part. The research focuses on curcumin, as an active substance that has the potential to be used in the food industry or pharmacy. The next part is devoted to liposomal encapsulation of curcumin in colloidal dispersions, where liposomes as phospholipid vesicles are able to capture and protect hydrophobic and hydrophilic substances. These protective properties can be enhanced by the addition of a suitable biopolymer, in our case a carboxymethylcellulose derivative. Furthermore, the work is focused on the study of the stability of a liposomal dispersion containing soy lecithin and carboxymethylcellulose, as a suitable encapsulation capsule for curcumin.

Keywords: curcumin, soya lecithin, carboxymethyl cellulose, liposomes, stability, encapsulation, dispersion

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych touto cestou velmi poděkovat vedoucímu mé diplomové práce

prof. Ing. Lubomíru Lapčíkovi, Ph.D.,

za odborné vedení, cenné rady a trpělivou pomoc při konzultacích.

Mé poděkování patří také Ing. Tomáši Valentovi, Ph.D. za odbornou asistenci v laboratoři.

Velké poděkování patří také mému manželovi, rodině a přátelům za podporu po celou dobu mého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 KURKUMA	10
1.3 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI KURKUMINU	14
1.4 VSTŘEBATELNOST A BIOLOGICKÁ DOSTUPNOST	15
1.5 VLIV KURKUMINU NA ZDRAVÍ A MECHANISMY PŮSOBENÍ	18
2 ENKAPSULACE	22
2.1 METODY ENKAPSULACE	23
2.2 KOLOIDNÍ SYSTÉMY PRO ENKAPSULACI KURKUMINU	27
2.3 VYUŽITÍ ENKAPSULACE V POTRAVINÁŘSKÉM A FARMACEUTICKÉM PRŮMYSLU.....	31
II PRAKTICKÁ ČÁST	33
3 CÍLE PRÁCE	34
4 MATERIÁL A METODIKA	35
4.1 CHARAKTERISTIKA MATERIÁLU	36
4.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	39
4.3 METODY FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ ANALÝZY	40
5 VÝSLEDKY A DISKUZE	44
ZÁVĚR	53
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	54
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	61
SEZNAM OBRÁZKŮ	62
SEZNAM TABULEK	63
SEZNAM PŘÍLOH	64

ÚVOD

Fenolové sloučeniny jsou dobře známé pro své bioaktivní účinky v organismu člověka. Mohou být přirozeně přítomny v potravinářských výrobcích nebo použity jako přísady k fortifikaci těchto výrobků. Stabilita a biologická dostupnost fenolických sloučenin může být ohrožena v důsledku několika faktorů vyskytujících se v různých fázích při zpracování a výrobě potravin, ale také při samotném trávicím procesu v lidském organismu.

V této souvislosti se nabízí enkapsulace, jako možnost překonat omezení s používáním bioaktivních látek ve volné formě. V souladu s tím roste počet studií zabývajících se enkapsulací fenolických sloučenin, rostoucí zájem je jak v oblasti akademické půdy, tak v průmyslu. Cílem je najít řešení, která by umožnila životaschopný vývoj nových potravinářských a farmaceutických produktů.

Kurkumin - žlutooranžové barvivo z rostliny *Curcuma longa*, je po staletí neodmyslitelnou součástí lidské stravy snad na všech kontinentech světa. Z potravinářského hlediska je poživatinou, která neplní sytící funkci, má však sensorickou hodnotu. Ovlivňuje barvu a chuť, jeho pestrost nabízí široké uplatnění v potravinářském a farmaceutickém průmyslu.

Náplní teoretické části je shrnout dosavadní informace o kurkuminu, jeho struktuře, fyzikálně-chemických vlastnostech, vstřebatelnosti a biologické dostupnosti, vlivu na lidský organismus. Dále popsat nejčastěji používané metody a materiály pro enkapsulaci bioaktivních látek.

V experimentální části diplomové práce byly připraveny koloidní disperze kurkuminu s cílem enkapsulování do podoby lipozomů, přidáním polymerní látky. Dále byla provedena fyzikálně-chemická charakteristika těchto systémů, naměřená data byla statisticky vyhodnocena a diskutována.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KURKUMA

Rostlina *Curcuma longa* byla kultivována déle než 5000 let především v tropické jižní Asii, kde byl její hnědý kořen s jasně oranžovou dužinou velmi ceněn pro své léčivé vlastnosti. Ve staroindické tradiční medicíně se často používala při léčbě alergií, zánětů dýchacích cest, bolestech zubů a na hrudi, infekcích močových cest, krvácení, žloutence, při kolikách a také na podlitiny [1].

Arabskými obchodními cestami se během 13. století začala dovážet na západ, a tím se stala známá po celém světě. Existuje přibližně 133 druhů této rostliny. Indičtí domorodci využívali kurkumu intenzivněji než současná populace. Árijská kultura dala kurkumě přední místo v náboženských obřadech. Věřilo se, že ochranné vlastnosti zapříčiněné zlatožlutým zbarvením kurkumy znázorňují sluneční světlo. V hinduistických rituálech má i v současnosti kurkuma své významné místo, tradičně se používá k barvení oděvů používaných při sňatcích ve společnosti. Je jedním z nejpoužívanějších koření v indickém a srílanském vaření. Indie je největším producentem a spotřebitelem kurkumy na světě [2].

Kurkuma se využívá v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Obsahuje více než sto účinných látek. Kurkumin, jako kurkuminoid, je důležitou součástí oddenku této rostliny, nejčastěji se s ním setkáváme ve formě prášku se žlutou pigmentací [1].

1.1 Kurkumin

Kurkumin je přírodní antioxidant, nízkomolekulární polyfenol označovaný také jako kurkumová žluť, turmerova žluť nebo diferuloylmethan. V kurkumě zastává klíčovou roli jako lipofilní barvivo a polyfenolová bioaktivní sloučenina. Již v minulosti byl používán v Ajurvédské medicíně pro své analgetické, protizánětlivé a antiseptické účinky. K velmi významným a příznivým účinkům kurkuminu patří jeho vliv na gastrointestinální trakt, podporuje žaludeční činnost, funkci žlučníku a jater. Napomáhá trávení stravy bohaté na tuky, tím že zvyšuje tvorbu a vylučování žlučových kyselin. V současnosti několik studií prokázalo biologické, antioxidační, protizánětlivé a farmakologické účinky kurkuminu (neurologické poruchy, gastrointestinální onemocnění, kardiovaskulární onemocnění, revmatoidní artritida, cukrovka a obezita) [1].

Celkový obsah kurkuminu v oddenku *Curcuma longa* se pohybuje okolo 2-5 %, jeho nečistá forma byla poprvé extrahována v roce 1815 [3].

Využití našel i v potravinářském průmyslu, kde se využívá jako látka určená k aromatizaci, barvení a konzervaci potravin. V potravinách se pod kódem E 100 označuje kurkumin jako přídatná látka. Jde o jednu z nejvíce prozkoumaných přírodních látek s celou škálou blahodárných a terapeutických účinků na lidský organismus. Dle EFSA panel ANS (panel pro potravinářská aditiva a nutriční zdroje přidávané do potravin), příjem E100 z běžné stravy odpovídá přibližně 3 mg/kg tělesné hmotnosti za den. Čistota kurkuminu je specifikovaná na minimálně 90 % celkových barvicích látek, ostatních 10 % je potřeba blíže specifikovat [4, 7].

Medicínským aplikacím kurkuminu však brání jeho fyzikálně-chemické vlastnosti, jako je špatná rozpustnost ve vodném prostředí (lidská střeva), není snadno absorbován střevní stěnou a rychle se metabolizuje a vylučuje ze systémového oběhu. Bylo prokázáno, že koloidní dodávací systémy, tj. nanoemulze, zvyšují fyzickou stabilitu kurkuminu a mohou překonat některé z těchto omezujících faktorů a zlepšit tak jeho funkčnost [5]. Výsledkem je zlepšení biologické dostupnosti a absorpce kurkuminu v cílových buňkách, čímž se zvyšuje místní terapeutický index [6].

1.2 Botanická charakteristika

Název rostliny: Kurkumovník dlouhý

Latinský název rostliny: *Curcuma longa*

Název čeledi: Zázvorovité

Latinský název čeledi: *Zingiberaceae*

Používaná část: hlízovitý oddenek

Eminentní látky: kurkuminoidy (kurkumin, demethoxykurkumin a bisdemethoxykurkumin), silice (éterické oleje), škrob, olejoprskyřice

Kurkumovník dlouhý je vytrvalá bylina s hlízovitě zduřelým, článkovaným oddenkem, velmi podobným oddenku zázvoru. Listy, které z oddenku vyrůstají, jsou před rozvinutím kornoutovitě svinuté, poté dlouze řapíkaté, široce kopinaté, až 50 cm dlouhé. Mezi listy vyrůstá přímý, asi 15 cm vysoký stvol, zakončený hustým klasem světle žlutých kvítků. Plodem je trojpouzdrá mnohosemenná tobolka, která se v době zralosti otevírá třemi chlopněmi [7].



Obrázek 1 Rostlina *Curcuma longa*, květ, oddenek, vzorec a prášek kurkuminu [8]

Kurkumin je celosvětově uznáván a používán v mnoha různých formách a pro mnoho potenciálních zdravotních účinků. Například v Indii se používá v kari, v Japonsku je podáván v čaji, v Thajsku našel využití v kosmetice, v Číně se používá jako barvivo, v Koreji se podává v různých nápojích, v Malajsii se používá jako antiseptikum, v Pákistánu se aplikuje jako protizánětlivý přípravek a ve Spojených státech se kromě kapslí a práškových forem používá jako barvivo a konzervant v hořčičné omáčce, sýrech, másle a hranolkách. Popularita kurkuminu značně stoupá, jelikož jeho výzkum podněcuje spoustu přínosů pro zdraví lidské populace, tím veškeré inovace pohánějí trh vpřed. Extrakt z oddenků této tropické rostliny je možné získat i z dalších tržních druhů kurkumovníku [7].

Kořen kurkumy má hlíznatý (válcovitý) tvar s mnoha oddenky, ty jsou 5-8 cm dlouhé a 1,5 cm široké, převážně rovného nebo mírně zakulaceného tvaru. Oddenky mají pepřovou vůni a mírně palčivou chuť. Barva hlízy je sytě oranžová a její povrch má žluto-oranžové až nahnědlé zbarvení. Kurkumin je získáván ze sušených oddenků kurkumy. Oddenek se několik hodin vaří, poté se suší a následně pomele na sytě žlutý prášek [7, 10, 11].

Složení hlízovitých oddenků

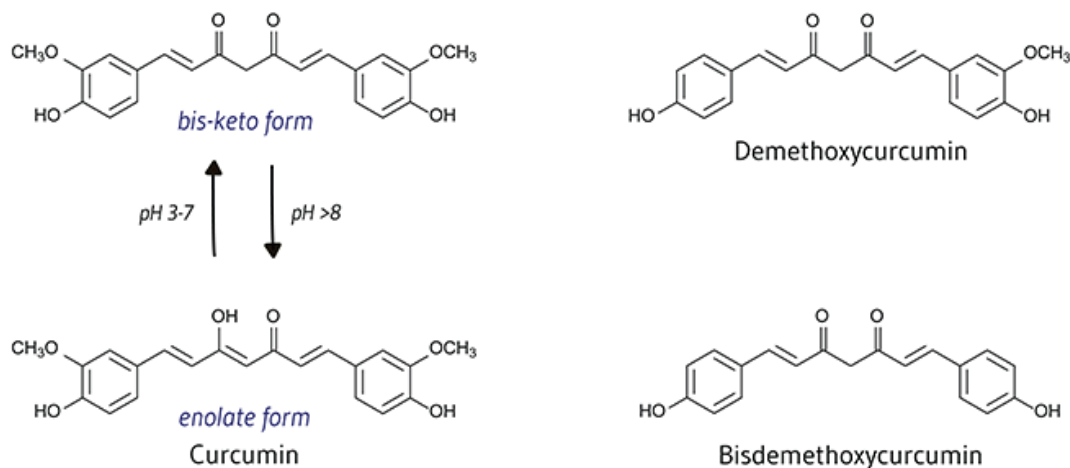
✚ Škrob: 30 %

✚ Silice: tvořeny seskviterpeny v obsahu 3-12 %,

✚ zastoupení je následující:

- turmeron 30 %
- ar-turmeron a zingiberen 25 %
- 1,8-cineol, borneol a α -fellander

✚ Kurkuminoidy: patří do skupiny zvané diarylheptanoidy, převládajícím pigmentem je kurkumin, v sušině oddenků tvoří 2 %. Dalšími pigmenty jsou demethoxykurkumin a bisdemethoxykurkumin zastoupeny v množství 0,6 % sušiny oddenku. Tyto kurkuminoidy jsou hlavními bioaktivními složkami odpovědnými za nutriční a farmakologické aktivity kurkumy. Zastoupení pigmentů se může lišit dle zralosti a původu oddenků [12].



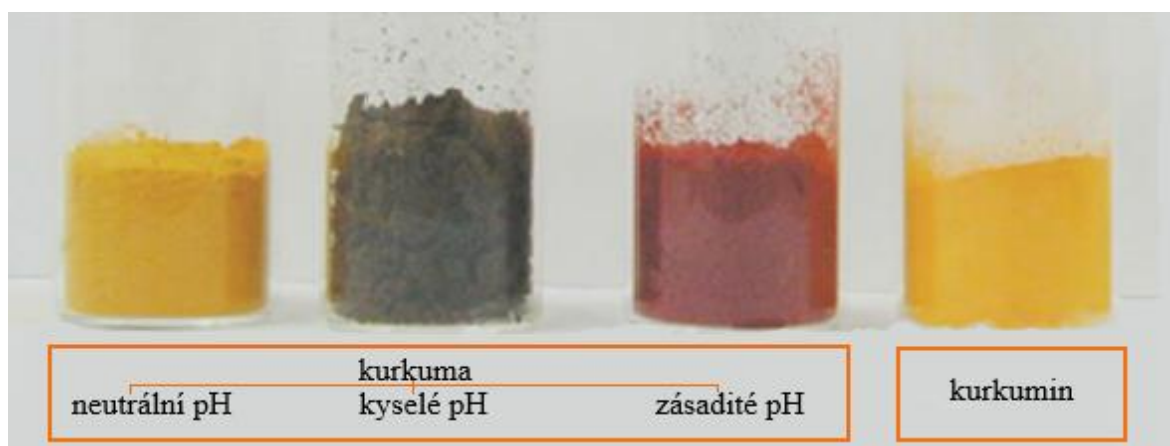
Obrázek 2 Pigmenty kurkumy [9]

1.3 Fyzikálně-chemické vlastnosti kurkuminu

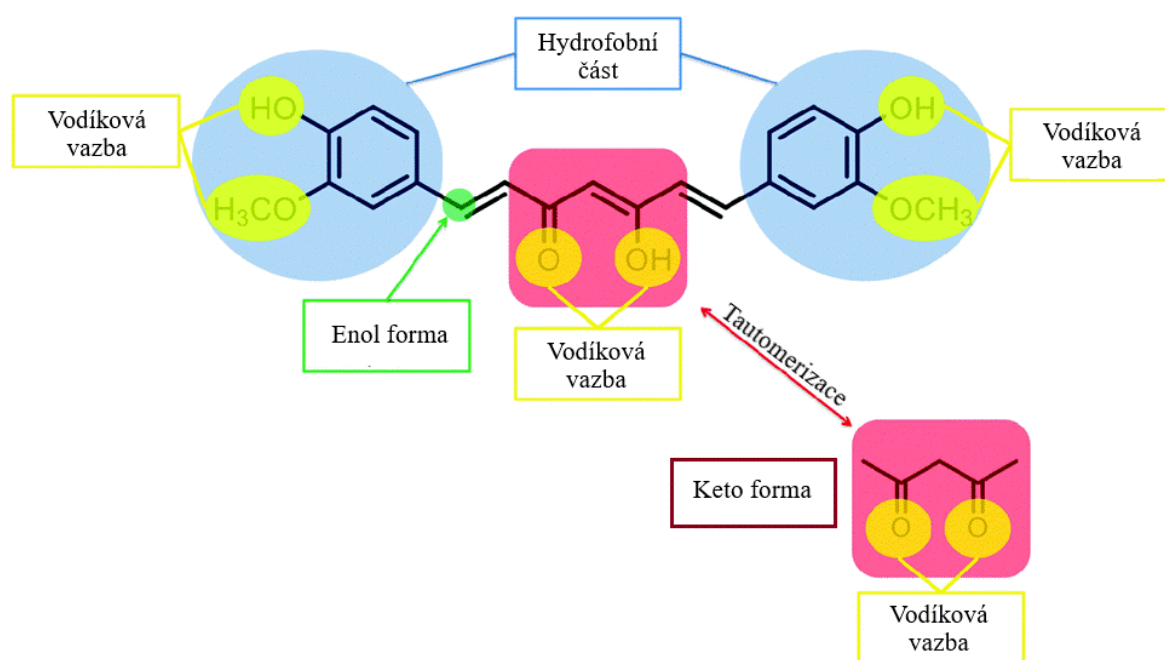
Kurkumin v podobě žluto-oranžového prášku je nejčastější formou, s kterou se můžeme setkat. Komerčně dostupný prášek ovšem neobsahuje pouze kurkumin, ale také jeho výše zmíněné deriváty v různém zastoupení. Získávání čisté krystalické podoby kurkuminu je finančně velmi nákladné [14].

Kurkumin lze nalézt pod chemickým názvem diferuloymethan, sumární vzorec je $C_{21}H_{20}O_6$, chemický vzorec (1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadien-3,5-dion. Jeho bod tání je 183 °C, bod varu je 591,4 °C a molekulární hmotnost je 368,37 g/mol. Patří mezi hydrofobní látky, rozpustný je v acetonu, ethanolu, dichlormethanu, chloroformu, kyselině octové a dobře se rozpouští v olejích. Přítomnost vodíkových vazeb způsobuje tautomerizace kurkuminu (znázorněna na obrázku 4), která je značně ovlivněna pH v daném prostředí. Kurkumin není chemicky stabilní molekula a je citlivý na alkalické pH, kyslík a ozařování. V prostředí lidského organismu (pH \pm 7) dojde během třiceti minut k 90% degradaci kurkuminu. Přijatelným řešením může být enkapsulace do vhodného nosiče (např. fosfolipidové lipozomy či inkluze do hydrofobních kavit cyklodextrinů) [1, 13, 15, 18].

Žlutý pigment kurkuminu je stálý v kyselém a neutrálním prostředí (pH > 1), což zapříčiňuje keto forma molekuly, která se chová jako elektronový akceptor. V zásaditém prostředí se jeho barva poměrně rychle mění na tmavě červenou, což je způsobeno deprotonací funkčních skupin a změnou v enol formu. Můžeme říci, že se kurkumin chová jako acidobazický indikátor. Vliv pH na zabarvení kurkuminu je znázorněno na obrázku 3. Forma izomerie je ovlivněna i druhem rozpouštědla, v polárních rozpouštědlech se kurkumin objevuje v diketo formě a v nepolárních pouze v enol formě, což ovlivňují intramolekulární interakce [16].



Obrázek 3 Vliv pH na zabarvení kurkuminu [17]



Obrázek 4 Chemická struktura molekuly kurkuminu. Znázorněna je tautomerizace mezi keto a enol formou (červeně) [18]

Významnými chemickými reakcemi spojenými s biologickou aktivitou kurkuminu jsou reakce donorů vodíku, které vedou k oxidaci kurkuminu, reverzibilním a ireverzibilním reakcím nukleofilní adice, degradaci, hydrolyze a enzymatickým reakcím [19].

Biosyntéza kurkuminoidů je podobná biosyntéze fenylypropanoidů. Meziprodukty, jako jsou 4-coumaroyl-CoA kondenzují s malonyl-CoA za vzniku bisdemethoxykurkuminu. Kurkumin vzniká následnou oxidací a methylací [15].

1.4 Vstřebatelnost a biologická dostupnost

Navzdory slibným nutričním a farmakologickým vlastnostem vykazuje kurkumin nízkou rozpustnost ve vodě, špatnou gastrointestinální adsorpci a špatnou biodistribuci. Navíc disponuje vysokou rychlostí metabolismu, metabolickou inaktivací a rychlým vylučováním z lidského organismu [21].

Kurkumin podávaný *per os* podstupuje v játrech first-pass efekt (efekt prvního průchodu játry), což znamená, že ve chvíli, kdy se kurkumin dostane portální žilou ze střeva do jater, je zde metabolizován a pouze zbylá nemetabolizovaná část se dostane do systémové cirkulace. V případě kurkuminu je first-pass efekt velmi intenzivní. Jeho sekundární fáze

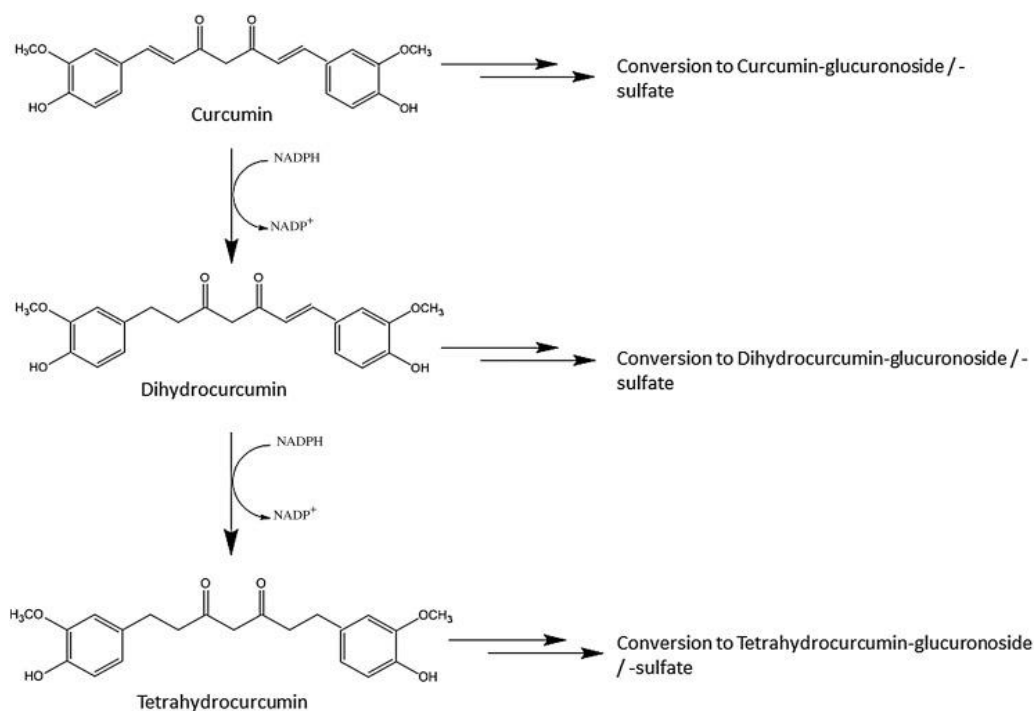
metabolismu spočívá v konjugaci s glukuronidem a sulfátem. Pokud je kurkumin aplikován intravenózně nebo intraperitoneálně, dojde k jeho přeměně hlavně na tetrahydrokurkumin a hexahydrokurkumin ve spojení s glukuronidem a jejich následné akumulaci ve žluči [18]. Kurkumin je fyziologicky aktivnější než jeho konjugované formy, předpokládá se, že hladiny volného kurkuminu v krvi odrážejí větší fyziologickou aktivitu, a aby bylo možné s nimi reagovat, musí být kurkumin dobře absorbován. Biologická dostupnost je farmakokinetický parametr, který udává, jaké množství podané látky se dostane do systémové cirkulace. Kurkumin se charakterizuje nízkou biologickou dostupností, zapříčiněnou rychlým rozkladem ve střevní sliznici. Hladiny v plazmě a cílových tkáních jsou tedy zanedbatelné [21].

Z výše uvedených důvodů je žádoucí, aby byla vstřebatelnost kurkuminu zvýšena pomocí dalších látek. Nejčastěji se používá piperin (alkaloid, extrakt z černého pepře), který výrazně zvyšuje vstřebatelnost kurkuminu, jelikož inhibuje jaterní a střevní glukuronidaci. Nevýhodou je, že piperin navyšuje propustnost nejen těch užitečných látek, ale také těch potenciálně škodlivých, což může být často nežádoucí [20].

Nízká biologická dostupnost kurkuminu ovlivňuje jeho užitečnost v obecné zdravotní péči i při léčbě různých onemocnění. K překonání špatné adsorpce a rychlého metabolismu byly použity nanotechnologie, koloidní dodávací systémy (CDS) využívané k zapouzdření, ochraně a uvolňování bioaktivních látek. Mezi nové strategie patří formulace s lipozomy, micelami, nebo interakce s makromolekulami jako je želatina či polysacharidy (y-cyklodextrin a galactomammans). Řešením je i fytozomální technologie, která poskytuje lepší biologickou dostupnost a v játrech blokuje metabolickou přeměnu kurkuminu.

Kromě zmíněných metod, byly vyvinuty i nanočásticové přípravky, které zahrnují nanoemulze, nanomicely, dendrimery, konjugáty, biopolymermikrogely, nanogely a pevné disperze. Ačkoliv je mnoho formulací při zvyšování vstřebatelnosti kurkuminu účinných, řada z nich má různě definovaná omezení, jelikož nejsou schváleny pro použití v potravinářském průmyslu. Předběžné studie naznačují, že nově vyvinutá patentovaná formulace kurkuminu zahrnující mikromicelární technologii kapalných částic, má mimořádně vysokou (~ 300 ng/ml) biologickou dostupnost [22].

Střevní mikrobiota hraje důležitou roli v metabolismu a biotransformaci kurkuminu, protože mikrobiota je schopná transformovat formulace kurkuminu, které obsahují přibližně 77 % kurkuminu, 17 % demetoxykurkuminu a 6 % bisdemethoxykurkuminu (obrázek 5) do řady katabolitů [23].



Obrázek 5 Metabolická cesta kurkuminu per os [23]

Kurkumin a jeho redukované metabolity dihydrokurkumin a tetrahydrokurkumin jsou konjugovány s glukoronidem nebo sulfátem, což vede ke vzniku kurkuminu glukuronosidu, dihydrokurkuminu glukuronosidu, tetrahydrokurkuminu glukuronosidu nebo odpovídajícího monosulfátu a směsných síranů / glukuronosidů [23]

Kurkumin se obvykle podává *per os*. K dispozici je v několika formách, včetně tablet, tobolek, energetických nápojů, mastí, mýdel a kosmetiky. Kurkuminoidy byly schváleny americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) jako „Generally Recognized as Safe“ (GRAS) a klinické studie prokázaly dobrou snášenlivost včetně bezpečnostních profilů, a to i v dávkách, které mají rozmezí 4-8 g/den a dávky 12 g/den s 95% koncentrací tří kurkuminoidů: kurkumin, bisdemethoxykurkumin a demethoxykurkumin. Obecně je kurkumin považován za bezpečné a dobře snášené léčivo. Pro jeho začlenění do léčby jednotlivých indikací, je důležité stanovení dávkování na základě klinických studií.

Rozhodujícím aspektem je také volba správné lékové formy kurkuminu, která zabezpečí jeho systémovou, popřípadě lokální dostupnost. Nutno podotknout, že většina pozitivních účinků kurkuminu jsou následkem jeho podávání ve vysokých dávkách v porovnání s množstvím kurkuminu běžně přidávaného do pokrmů [9, 24].

1.5 Vliv kurkuminu na zdraví a mechanismy působení

Výzkum účinku kurkuminu je v současnosti zaměřen převážně na antioxidační, hepatoprotektivní, protizánětlivé, antimikrobiální a antikancerogenní účinky. Kurkumin jako významný antioxidant, má mnohonásobně vyšší antioxidační aktivitu než tokoferol.

Využívá se při léčbě kardiovaskulárních chorob, žilní trombózy, onemocnění gastrointestinálního traktu a jater, dále poruch pohybového aparátu (revmatoidní artritidě, osteoartritidě), při autoimunitních onemocněních nervového systému (roztroušené sklerózy, Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby [25].

1.5.1 Antioxidant

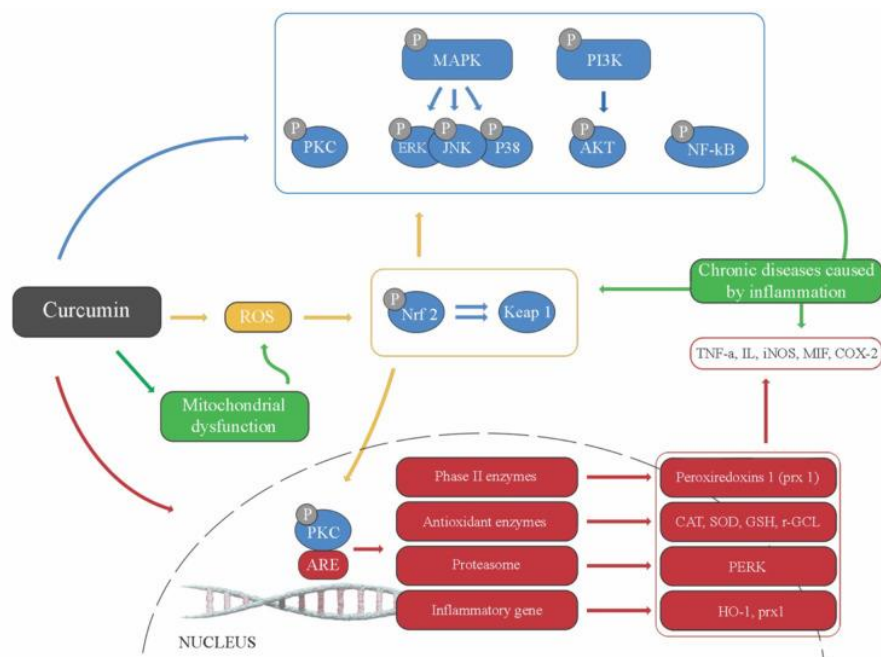
Antioxidační a protizánětlivé vlastnosti kurkuminu jsou dva primární mechanismy, které vysvětlují většinu jeho pozitivních účinků na lidský organismus. Bylo prokázáno, že kurkumin zlepšuje systémové markery oxidačního stresu a může zvýšit aktivitu antioxidantů v séru, jako je superoxid dismutáza. Nedávný systematický přehled a metaanalýza randomizovaných kontrolních údajů týkajících se účinnosti suplementace kurkuminoidy na všechny zkoumané parametry oxidačního stresu, naznačil významný účinek na tuto formu stresu, včetně plazmatických aktivit SOD a katalázy, jako sérové koncentrace glutathionperoxidázy a lipidových peroxidů [25].

Kurkumin působí na volné radikály pomocí různých mechanismů. Dokáže zachytit různé formy těchto radikálů, jako jsou reaktivní formy dusíku a kyslíku. Navíc je lipofilní sloučeninou, díky níž je účinným vychytávačem peroxylových radikálů, a proto je kurkumin považován za antioxidant ničící řetězce [26].

1.5.2 Protizánětlivé účinky

Kurkumin je řazen mezi pleiotropní molekuly. Tyto molekuly jsou schopny svým působením vyvolat účinek v různých oblastech organismu. Kurkumin je schopen modulovat zánětlivou odpověď a potlačit aktivitu enzymů podílejících se na zánětlivé reakci. Souvislost mezi zánětem a oxidačním stresem je známa, jelikož zánětlivé buňky uvolňují řadu reaktivních druhů v místě zánětu, což vede k oxidačnímu stresu, který je iniciátorem mnoha chronických onemocnění (Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, roztroušená skleróza, epilepsie, poškození mozku, kardiovaskulární onemocnění, metabolický syndrom, alergie, astma, bronchitida, rakovina, kolitida, artritida, ischemie ledvin, obezita, cukrovka, deprese a syndrom získané imunodeficience AIDS) [27].

Na podporu protizánětlivých účinků kurkuminu byl uveden výzkum ukazující schopnost kurkuminu blokovat aktivaci nukleárního faktoru (NF) - κ B několika zánětlivými stimuly. NF- κ B je považován za nejsilnější aktivátor faktoru nádorové nekrózy alfa (TNF- α), hlavního mediátoru zánětu většiny nemocí [28].



Obrázek 6 Protizánětlivé mechanismy kurkuminu [29]

Jak již bylo popsáno a znázorněno výše, kurkumin vykazuje antioxidační aktivitu a dokáže inhibovat mediátory zánětu jako je NF- κ B, cyklooxygenáza-2 (COX-2), lipoxygenáza (LOX) a inducibilní syntáza oxidu dusnatého (iNOS). COX-2 je enzym, který se vyskytuje hlavně v poškozených a zánětlivých tkáních, vytváří prostaglandiny a tromboxany.

Působením enzymu lipoxygenázy vznikají leukotrieny a iNOS poměrně neregulovaně katalyzuje tvorbu velkého množství baktericidního oxidu dusnatého, který se může vytvářet pouze tehdy, je-li aktivován imunitní systém. Kurkumin je silným inhibítoem faktoru TGF- β a fibrinogeneze, což vysvětluje jeho pozitivní účinky u nemocí, jako je fibróza ledvin a plic, cirhóza jater a Crohnova choroba [30].

1.5.3 Artritida

Jedním z takových onemocnění spojených se zánětem (chronickým, či akutním) je osteoartritida, chronický stav kloubů. Ovlivňuje více než 250 milionů lidí na celém světě, což vede ke zvýšeným nákladům na zdravotní péči, narušení běžných činností každodenního života a v konečném důsledku ke snížení kvality života [31]. Navzdory tomu, že v minulosti byla osteoartritida považována primárně za degenerativní a nezápřlivý stav, nyní bylo potvrzeno, že má zánětlivé aspekty (včetně zvýšené hladiny cytokinů) a je potenciálně spojena se systémovým zánětem. Farmaceutická léčba u těchto symptomů je možná, ale velmi nákladná, a často doprovázena nežádoucími vedlejšími účinky. V mnoha studiích bylo prokázáno, že kurkumin má antiartritické účinky u osob postižených osteoartritidou či revmatoidní artritidou, proto je nyní zvýšený zájem o alternativní léčbu včetně doplňků stravy a bylinných přípravků. Kurkumin se zdá být prospěšný pro několik aspektů osteoartritidy, bez ohledu na mechanismus, kterým vyvolává své pozitivní účinky [31, 32].

Metaanalýza dospěla k závěru: „Tento systematický přehled a metaanalýza poskytly vědecké důkazy, že 8-12 týdnů standardizovaných extraktů z kurkumy (obvykle 1 000 mg kurkuminu) denně může snížit příznaky artritidy (zejména příznaky související s bolestí a záněty) a vést k podobnému zlepšení příznaků jako ibuprofen a diklofenak sodný. Proto lze ke zmírnění příznaků artritidy, zejména osteoartrózy, doporučit výtažky z kurkumy a kurkumin“ [33].

1.5.4 Metabolický syndrom

Metabolický syndrom zahrnuje inzulínovou rezistenci, hyperglykémii, hypertenzi, lipoproteinový cholesterol s nízkou hustotou (HDL-C), zvýšený cholesterol s nízkou hustotou proteinů (LDL-C), zvýšené hladiny triglyceridů a obezitu (hlavně viscerální). Bylo prokázáno, že kurkumin dokáže tlumit několik aspektů metabolického syndromu zlepšením

citlivosti na inzulín, potlačením adipogeneze, snížením zvýšeného krevního tlaku, zánětu a oxidativního stresu [34].

Existují důkazy, že kurkuminoidy moduluji expresi genů a aktivitu enzymů podílejících se na metabolismu lipoproteinů, což má za následek snížení plazmatických triglyceridů a cholesterolu (zvyšují koncentraci HDL) [35]. S chronickým zánětem nízkého stupně je spojena nadváha i obezita, ačkoliv přesné mechanismy nebyly objasněny, je známo, že se uvolňují prozánětlivé cytokiny. Předpokládá se, že cytokiny ze zánětu jsou považovány za jádro komplikací spojených s metabolickým syndromem (DM 2, kardiovaskulární choroby). Suplementace kurkuminoidy moduluje sérové koncentrace prozánětlivých cytokinů [36].

1.5.5 Karcinogenní účinky

Možnost využití kurkuminu v léčbě rakoviny se zdá být poměrně vzdálená, avšak preklinické studie vkládají do této molekuly velký potenciál. Kurkumin dokáže potlačit zánět a inhibovat možný vznik nádorového onemocnění v jeho různých fázích (iniciace, promoce, invaze, metastázy). Stručně řečeno, kurkumin moduluje buněčné signální pochody a podporuje apoptózu nádorových buněk. Působením kurkuminu tedy dochází k inhibici nádorové buněčné proliferace. Buď může dojít ke zpomalení, nebo k zástavě buněčného cyklu v jeho jednotlivých fázích [37].

Mezi konkrétní mechanismy účinku patří inhibice množení nádorových buněk, inhibice angiogeneze, proapoptotická vlastnost, zabránění aktivace karcinogenů, inhibice COX-2, down-regulace EGFR (receptor epidermálního růstového faktoru) a HER2 (receptor 2 pro lidský epidermální růstový faktor), down-regulace NF- κ B (transkripční faktor ovlivňující imunitní a zánětlivé odpovědi, embryonální vývoj, růst a smrt buňky), inhibice AP-1 (transkripční faktor regulující geny zapojené do kancerogeneze, buněčné proliferace, přeměny benigního nádoru na maligní, metastazování). Kurkumin indukuje *in vitro* apoptózu různých linií tumorových buněk: buňky rakoviny prsou, plic, lidského melanomu, lidského myelomu, leukemie, lidského neuroblastomu, úst a prostaty [38].

2 ENKAPSULACE

Technologie balení pevných látek, kapalin nebo plyných materiálů do uzavřených kapsulí, které uvolňují svůj obsah za specifických a kontrolovaných podmínek. Částice dosahují rozměrů v řádu nanometrů až milimetrů. V potravinářském a farmaceutickém průmyslu se enkapsulace využívá již více než 60 let, zejména proto, že chrání materiály před nepříznivými vlivy okolního prostředí jako je teplota, světlo, vlhkost a vzduch. Proces enkapsulace umožňuje postupné nebo cílené uvolňování, tím lze snížit potřebné množství aditiv a konzervačních látek [40].

K uvolňování enkapsulovaných složek v závislosti na způsobu využití, lze využít změny času, teploty, pH, mechanického napětí, enzymatické aktivity, osmotické síly. Tato technologie může poskytnout bariéry mezi citlivými bioaktivními materiály a prostředím, tím umožňuje diferenciaci chuti a aroma, stabilizuje složky potravin a zvyšuje jejich biologickou dostupnost. Jedním z nejdůležitějších důvodů pro enkapsulaci aktivních komponent léčiv ve farmaceutické a potravinářské praxi je zajištění vyhovující stability finálních produktů i během zpracování [41].

Mezi další výhody této technologie patří maskování nežádoucích organoleptických a sensorických vlastností určitých látek, jako je nepříjemná chuť (hořkost a svíravost polyfenolů) či zápach, enkapsulace dokáže snížit prchavost těkavých aromatických látek, oddělit složky směsi, které by spolu jinak reagovaly. Přínosem je, že enkapsulace dokáže zpomalit degradaci aktivních látek. Vzhledem k tomu, že enkapsulované sloučeniny jsou velmi často v kapalně formě, mnoho technologií je založeno na sušení (sprejové sušení, chladové/mrazové sušení, fluidní vrstva, extruze). Obalové materiály použité pro enkapsulaci musí být potravinářské, biologicky odbouratelné a schopné tvořit bariéru mezi vnitřní fází a jejím okolím. Nejčastěji se používají polysacharidy, vhodné jsou i proteiny a lipidy [42].

2.1 Metody enkapsulace

V současné době jsou dostupné různé metody výroby mikročastic. Zahrnujeme zde všechny částicové systémy, které se pohybují v rozmezí 1-1000 μm . Produkce částic nejrůznější struktury, složení a fyzikálně-chemických vlastností je často připravována složitými technologickými postupy. Volba vhodné výrobní metody je ovlivněna základními vlastnostmi makromolekulárního nosiče a rozpustností účinné látky.

Výrobní procesy rozdělujeme na chemické a fyzikálně-mechanické. Mezi chemické metody řadíme především koacervaci (fázovou separaci), polymerovou inkompatibilitu, polymerizaci v kontinuální fázi, *in situ* polymeraci, iontovou a tepelnou gelaci. Mechanické postupy zahrnují sprejové sušení a chlazení, formování a obalování mikročastic ve fluidní vrstvě, extruzi taveniny, odstředivou extruzi a formování mikročastic odpařením rozpouštědla [43].

2.1.1 Sprejové sušení

Metoda sprejového sušení byla vyvinuta již ve třicátých letech 20. století v anglických laboratořích firmy Boake, Roberts & Co. Technologie přeměňuje kapalnou látku na práškový produkt v uzavřeném systému a v jediné výrobní operaci [45].

Výhody této technologie v potravinářském průmyslu:

- ✚ možnost kontinuální přípravy
- ✚ vysoká enkapsulační účinnost
- ✚ dobrá stabilita
- ✚ poměrně malá velikost částic
- ✚ flexibilita
- ✚ nízké provozní náklady [46]

Materiály, které se používají mají výbornou rozpustnost ve vodném prostředí a vysokou teplotu varu (typickým obalovým materiálem jsou maltodextriny, arabská guma, modifikovaný škrob a jejich směsi) [40].

Enkapsulace nastane homogenizací enkapsulované aktivní látky s obalovým materiálem. Pomocí vysokotlakých trysek nebo rotačního rozprašovače se disperzní směs rozstříkuje do prostoru vyhřáté sušárny, dochází k tvorbě filmu na povrchu kapek. Mikročástice následně padají na dno pracovní komory a poté jsou transportovány do cyklonového odlučovače prachu, kde vzniká finální produkt - suchý prášek. Velikost částic závisí na viskozitě kapaliny, povrchovém napětí, vhodné teplotě sprejování a rychlosti. Teplota přiváděného sušícího vzduchu je velmi důležitým faktorem, který předchází přehřátí pevných částic a znehodnocení senzitivních látek. Metoda se používá k přípravě stabilních a suchých přídatných látek v potravinářství. Vzniklé mikročástice v podobě suchého prášku se velmi dobře skladují a manipulace s nimi je jednoduchá [47, 49].

2.1.2 Sprejové chlazení

Principem metody je tvorba mikročástic na základě změny teploty vnějšího prostředí. Sprejové chlazení je obdobou metody sprejového sušení. Směs aktivní látky a obalového materiálu je vstříkována do chlazeného prostoru. Kapsle se tvoří ztuhnutím obalového materiálu kolem jádra, které je tvořeno enkapsulovanou látkou. Jako nosiče se zde používají hlavně lipidy, zejména olej. Mikročástice připravené touto technologií mají kulovitý tvar a dobré tokové vlastnosti, neagregují. V důsledku své lipidové vrstvy jsou nerozpustné ve vodných roztocích a převážně mohou být používány k enkapsulaci ve vodě rozpustných látek, které tvoří jádro (vitaminy, minerály, enzymy). Metoda je levná, našla využití i ve farmaceutickém průmyslu při úpravě pomocných látek, u výroby pelet a granulátů, pro zvýšení rozpustnosti určitých látek [44, 47].

2.1.3 Emulzifikace

Další často využívanou metodou je metoda emulgace, využívá se obvykle v případě enkapsulace ve vodě rozpustné aktivní látky. Existují dvě kombinace, emulze voda/olej a emulze olej/voda. Tyto emulze nejčastěji vznikají mechanickým způsobem, a to pomocí mixérů, homogenizérů a míchadel v koloidních mlýnech. Pro zvýšení jejich stability je možné přidat stabilizátory či emulgátory. Emulze je možné sušit různými způsoby, využívá

se lyofilizace či sprejové sušení. Výsledkem jsou částice ve formě prášku, které lze dále používat pro řadu potravinářských výrobků [40, 41].

2.1.4 Fluidní vrstva

Fluidní vrstva vzniká technikou enkapsulace, kde je nanášen ochranný povlak na enkapsulovanou látku. Nanášení je kontinuální proces, kde je na aktivní látku v proudu vzduchu při určité teplotě nanášen atomizovaný materiál, tvořící stěnu částic. Mezi nejpoužívanější materiál tvořící stěnu kapsle patří roztoky celulózy, škrobu a některých bílkovin [40].

V poslední době se můžeme setkat s částicemi z lipidů, mastných kyselin, emulgátorů, hydrogenovaných rostlinných olejů, vosků a jejich směsí. Původní využití metody bylo převážně ve farmaceutickém průmyslu, nyní se stále častěji používá v potravinářském průmyslu. Hlavní výhodou této metody je vznik mikrokapslí, které mají vynikající stabilitu, texturu, životaschopnost a dobrou manipulovatelnost. V potravinářském průmyslu se technologie fluidní vrstvy používá k enkapsulaci široké palety aditiv. Metoda je vhodná pro obalování mikročástic s velikostí 30 μm (až po 1-2 mm), je ovlivněna řadou faktorů (použití chladného či horkého vzduchu, koncentrace obalové látky, poloha trysky, tokové vlastnosti, rychlost atomizace atd.). Fluidní vrstva se využívá i při enkapsulaci vitaminů a jejich směsí, kyseliny mléčné, octové a sorbové, hydrogenuhličitanu sodného a dalších solí s uplatněním zejména v masném a pekárenském průmyslu. Výhodou fluidních zařízení je vysoká výtěžnost a reprodukovatelnost procesu, stejnoměrnost tloušťky a hustoty vrstvy nanesené na jádra [44,47].

2.1.5 Enkapsulace do lipozomů

Kurkumin-fosfolipidový komplex představuje mezimolekulární vazbu mezi kurkuminem a fosfatidylcholinem. Kulovitá fosfolipidová struktura, která může sloužit jako vehikulum pro jinou látku, se označuje za lipozom. Lipozomální forma je velmi výhodnou variantou, protože jednak dokáže pojmout větší množství dané látky, dále má dobrou snášenlivost, vysokou účinnost, bezpečnost a pro kurkumin je obzvláště důležité, že enkapsulace kurkuminu do lipozomů zabraňuje rychlé biotransformaci v játrech a rychlé eliminaci z organismu [39].

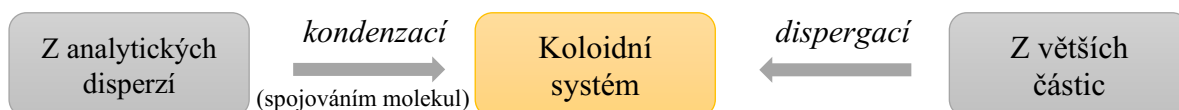
Lipozomy mají potencionální klinické využití, zejména v kombinaci s tkáňovými specifickými protilátkami jsou využívány jako nosiče léků do cílových tkání. Kromě toho se využívají pro přenos genů do cévních buněk a jako nosiče pro topické a transdermální podání léků a kosmetiky [48]. Aplikace do lipozomů se využívá v potravinářském, farmaceutickém i kosmetickém průmyslu. Jsou vhodnými nosiči pro enkapsulaci hydrofilních i hydrofobních látek (peptidy, antioxidanty, vitaminy, enzymy). Účinnost enkapsulace může být ovlivněna určitými faktory, jako je složení a koncentrace fosfolipidů, pH, velikost a koncentrace enkapsulované látky, velikost lipozomů a v neposlední řadě také interakce mezi fosfolipidy a enkapsulovanou složkou [58].

Tabulka 1 *Metody enkapsulace* [44]

Metoda enkapsulace	Metodický postup
Sprejové sušení	Příprava disperze, homogenizace, rozptýlení částic vstřikováním, dehydratace částic
Sprejové chlazení	Příprava disperze, homogenizace, rozptýlení částic vstřikováním
Potahování částic při fluidizaci	Příprava enkapsulační směsi, fluidizace jádrových částic a jejich potažení
Extruze	Příprava enkapsulační směsi, disperze jádrových částí ve směsi, chlazení nebo sušení dehydratační kapalinou
Odstředivá extruze	Příprava enkapsulační i jádrové směsi, koextruze obou směsí pomocí trysek při centrifugaci
Lyofilizace	Smíchání vnitřní látky s látkou potahovací, sušení mrazem
Koacervace	Tvorba tří nemísitelných chemických fází, uložení a tuhnutí obalové fáze
Odstředivá separace suspenzí	Smíchání vnitřní látky s látkou potahovací, pokrytí částic pomocí rotačního disku, sušení
Kokrytalizace	Příprava přesyceného roztoku sacharózy, přidání jádrových částic, krystalizace
Tvorba lipozomů	Mikrofluidizace, ultrasonikace

2.2 Koloidní systémy pro enkapsulaci kurkuminu

Podle velikosti částic leží koloidní systémy mezi pravými roztoky a makroskopickými heterogenními soustavami. Proto je můžeme připravovat:

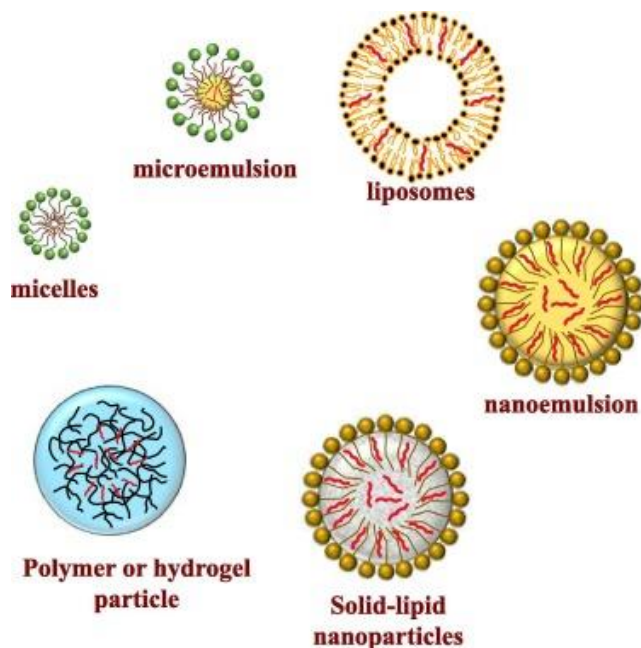


V obou případech je potřebné, aby byla příprava prováděna za podmínek, které zajišťují dostatečně velké odpudivé síly, zabraňující flokulaci či koagulaci [55].

Stavebními kameny v potravinářských koloidních dodávacích systémech mohou být různé funkční přísady, včetně vody, proteinů, lipidů, polysacharidů, fosfolipidů, povrchově aktivních látek, vitaminů, minerálů, antioxidantů, barviv a nutraceutik. Každá z těchto složek může mít spoustu výzev, které omezují její přímou aplikaci v potravinářských výrobcích a nápojích. Náleží sem nízká rozpustnost, chemická degradace, krystalinita, biochemická nestabilita, špatná orální biologická dostupnost. V potravinářském průmyslu se využívají různé zpracovatelské technologie (homogenizace, srážení, míchání, působení ultrazvuku, dehydratace, zahřívání, chlazení, drcení, centrifugace a filtrace). Výběr nejvhodnějších přísad a technologických operací závisí na mnoha faktorech, jako jsou požadavky na zpracování, náklady na výrobu, vlastnosti finálního produktu, vnímání spotřebitele a trendy na trhu [50, 56].

V dnešní době roste zvýšený zájem spotřebitelů o terapeutické potraviny. Byla věnována velká pozornost vývoji nových strategií fortifikace potravin tak, aby obsahovaly biologicky aktivní a stabilní formu kurkuminu beze změny jejich sensorických atributů. Nanoemulze byly použity k začlenění hydrofobních bioaktivních sloučenin do různých potravinářských výrobků (např. mléko, sýry, jogurty a zmrzliny) [51].

Fyzikálně-chemický proces, při kterém se během zpracování vloží všechny mikrostrukturální prvky do potravin, se v literatuře označuje jako koncept „potravinové matrice“ [52].



Obrázek 7 Koloidní systémy pro zapouzdření kurkuminu [51]

2.2.1 Lipozomy

Hydrofilní a hydrofobní interakce mezi fosfolipidy a molekulami vody jsou v podstatě mechanismem pro vytvoření fosfolipidů. Lipozomy jsou sférické, umělé vezikuly, které jsou složeny z jedné či více koncentrických lamel tvořených dvouvrstvou amfipatických lipidů (především fosfolipidů). Morfologicky dělíme lipozomy dle počtu lamel na unilamelární a multilamelární, které se následně rozdělují dle velikosti. Malé unilamelární vezikuly jsou díky své velikosti výbornými nosiči pro léky, jelikož dobře pronikají do extravaskulárních prostorů. Multilamelární lipozomy jsou díky svému vysokému obsahu lipidů ideálními nosiči lipofilních látek.

Můžeme do nich inkorporovat látky s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Zásadní výhodou lipozomů je schopnost enkapsulovat řadu aktivních látek, přičemž hydrofobní látky jsou zapouzdřovány do lipidové dvojvrstvy a hydrofilní látky do vnitřního vodného prostředí. Dvojvrstvá membrána je za specifických podmínek schopna sloučení s buněčnou membránou, čímž dojde k cílenému uvolnění aktivní látky. Díky této membráně nedochází k úniku vodného objemu zevnitř lipozomu. Tyto mikroskopické částice našly mnohá uplatnění, od teoretického studia chování fosfolipidové dvouvrstvy biologické membrány až po klinické aplikace v protinádorové terapii [53, 54].

2.2.1.1 Příprava lipozomů

Lipozomy jsou nejčastěji připravovány metodou hydratace lipidového filmu. Nejdříve vzniká samovolně fosfolipidová membrána, která se posléze sbaluje do vezikul jako důsledek hydrofobních interakcí. Vhodnou fosfolipidovou kompozicí můžeme ovlivnit velikost, strukturu a stabilitu lipozomu. Postup lze shrnout do tří etap:

- ✚ Příprava lipidového filmu
- ✚ Vznik lipozomů
- ✚ Finální úprava lipozomů (velikost, struktura a stabilita).

2.2.1.2 Techniky přípravy

1. pasivní způsob:

- ✚ Mechanická disperze
- ✚ Rozpuštění v organickém rozpouštědle
- ✚ Solubilizace (detergent)

2. aktivní loading [49, 57].

Obvyklé metody přípravy lipozomů spočívají v záhřevu lipidů či lipozomové kompozice (lipid - rozpouštědlo) tak, aby se usnadnila rozpustnost lipidu. Typické způsoby přípravy lipozomů vyžadují homogenizaci, sonikaci nebo mikrofluidaci. Kompozice je během procesu homogenizace vytlačována komorou homogenizátoru při vysoké rychlosti, která generuje teplo, a vede k záhřevu směsi účinných látek. Spousta aktivních látek, sloučenin a lipidů je citlivá na oxidaci, která se zvyšuje při vysokých teplotách. Lipidy mohou být rozpuštěny při studeném procesu ve vodném rozpouštědle nebo v rozpouštědle mísitelném vodou, jako jsou alkoholy. V přítomnosti alkoholu dochází k vytvoření malých lipozomů ve velikosti cca 200-500 nm [52, 61].

Nevýhodou enkapsulace hydrofilních molekul je velmi nízká účinnost při zapouzdření, určité množství látky zůstává v externím vodném médiu nezapouzdřené.

Technologie, které vedou k vyšší účinnosti zapouzdření hydrofilních látek uvnitř lipozomů:

- ✚ Cykly zmrazování a rozmrazování
- ✚ Odpařování
- ✚ Reverzní fáze
- ✚ Dehydratace a rehydratace (vytvořených prázdných vezikul).

Opakované zmrazení a rozmrazování vezikul způsobuje narušení lipozomálních fosfolipidových dvouvrstev, jelikož během procesu zmrazení vytváří ledové krystaly, a tím dochází ke zvýšení poměru rozpuštěné látky k lipidu v lipozomech, což způsobuje vyšší účinnost. Odpařování reverzní fáze se skládá z vytvoření emulze organické fáze a vodné fáze s následným odpařením organického rozpouštědla, hydratací a tvorbou lipozomu [62].

Nejjednodušší metodou přípravy lipozomů je sonikace, která je řazena mezi mechanické techniky. Bohužel má nižší úroveň zapouzdření, což je její nevýhodou. Je zde možnost degradace fosfolipidů, zapouzdřených látek, eliminace velkých molekul a znečištění kovy ze sondy.

Disperze jsou vystaveny působení ultrazvuku v lázni nebo pomocí vhodné sondy:

- ✚ Sonikace pomocí sondy
- ✚ Sonikace v lázni.

Lipozomální kompozice mohou být nabízeny samotné nebo s příměsí pomocných látek. Patří zde farmaceuticky nebo fyziologicky přijatelné organické či anorganické nosiče vhodné pro orální, enterální nebo parenterální podání, jako je voda, alkohol, želatina, roztok soli, olej, sacharidy, estery mastných kyselin, polyvinylpyrrolidon a hydroxymethylcelulóza. Obvykle mohou být smíchány s pomocnými činidly, mezi které patří emulgátory a stabilizátory, smáčecí činidla, soli pro ovlivnění osmotického tlaku, barviva a aromatické látky, pufrý, které s kompozicemi reagují neškodným způsobem. Produkty je možné kombinovat i s jinými účinnými látkami pro snížení vzniku metabolické degradace [52, 61].

2.2.2 Nanoemulze

Nanoemulze jsou isotropní disperzní systémy dvou nemísitelných kapalin, většinou složeny z olejové fáze dispergované ve vodné fázi (označovány o/v) nebo vodné fáze dispergované v olejové fázi (označovány v/o) s přidáním emulgátoru. Pro přípravu nanoemulzí jsou nejčastěji používány emulgátory - surfaktanty, dále proteiny a lipidy.

Vzájemně tvoří kapky nebo olejové fáze, které mají nanometrickou velikost 50-500 nm.

Nanoemulze vznikají většinou ve dvou krocích, nejprve je tvořena makroemulze a poté nanoemulze. Principem vysokotlakého homogenizátoru je vytvoření vysokého tlaku pístem pumpy, která je tlačena skrz úzkou štěrbinu. Vznikem tahového a smykového tření dochází k rozbití kapek na menší kapičky. Proces se většinou opakuje, dokud není velikost částic konstantní. Obdobnou metodou je mikrofluidace, známa jako „přímá“ emulgační metoda. Dispergovaná fáze je vstříkována prostřednictvím mikrokanálků do kontinuální fáze bez preemulgačního kroku, což je výhodou oproti metodě vysokotlaké homogenizace. Mikrofluidizér má dobře měnitelnou velikost mikrokanálu, kterou je makroemulze pumpována. V ultrazvuku, kde vysokoenergetické vlny tvoří turbulence díky kavitaci, jež láme kapičky na menší částice. Proces pokračuje, dokud nemají kapky konstantní velikost. Mikrofluidizéry umožňují užší distribuci kapiček v nanoemulzi, jejich nevýhodou jsou vysoké výrobní náklady, kanály ucpané pevnými částicemi a dlouhá doba emulgace, která zapříčiní zvýšení velikosti kapiček [59].

2.3 Využití enkapsulace v potravinářském a farmaceutickém průmyslu

V posledních letech se potravinářský průmysl intenzivně zaměřuje na potraviny, které mají pozitivní vliv na lidský organismus. Tyto výrobky jsou označovány jako funkční potraviny. Obsah aktivních látek, které se ve výrobku vyskytují i v přirozené formě, ale jejich prospěšné vlastnosti jsou limitované, je podstatou funkčních potravin. Zaměřují se na maximální zachování biologické aktivity aktivních látek během procesu zpracování, skladování a transport aktivní látky do cílového místa v lidském organismu.

Funkční potraviny musí splňovat požadavky spotřebitele, jako jsou organoleptické vlastnosti a cena, v neposlední řadě účinnost výrobků musí být zdokumentována a prokázána. Tyto potraviny jsou zaměřeny především na prevenci civilizačních a kardiovaskulárních chorob (obezita, osteoporóza, vysoký cholesterol a krevní tlak, cukrovka), zlepšení fyzických a psychických výkonů, prevence rakoviny.

Zavedením technologie enkapsulace lze lépe zachovat přirozeně se vyskytující aktivní látky v potravinách nebo zlepšit celkovou kvalitu surovin, výživové vlastnosti, fyzikálně-chemické vlastnosti a bezpečnost výrobku [60].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 CÍLE PRÁCE

Prvním cílem diplomové práce bylo zpracovat literární rešerši na téma Enkapsulace kurkuminu v koloidních disperzích. Teoretická část práce je zaměřena na charakteristiku a využití kurkuminu jako aktivní substance, dále pak na popis metod enkapsulace a využití koloidních systémů v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Teoretická část slouží jako podklad pro následnou praktickou část práce.

Úkolem experimentální části bylo připravit koloidních disperzí lecitinu s kurkuminem takovým způsobem, který umožní enkapsulování kurkuminu ve formě lipozomálních micel. Dalším cílem je provedení fyzikálně-chemické charakterizace micelárních disperzí ve smyslu určení velikosti částic dispergované fáze a jejího elektrokinetického náboje. Dále budou sledovány změny těchto fyzikálních charakteristik s cílem určení jejich stability při skladování.

Budou použity následující metody fyzikálně-chemické charakterizace připravených disperzních systémů:

- ✚ Vizualní hodnocení stability emulzí.

- ✚ Určení velikosti částic dispergovaných micel metodou dynamického rozptylu světla.

- ✚ Určení elektrokinetického zeta potenciálu dispergovaných micel.

- ✚ Měření reologických vlastností pomocí rotačního viskozimetru v konfiguraci válec-válec.

- ✚ Získané výsledky experimentálních měření budou podrobeny analýze statistické významnosti jednotlivých dat metodou ANOVA.

4 MATERIÁL A METODIKA

Materiálem pro experimentální část této diplomové práce byl Kurkumin 50 g, 95 % celkový obsah kurkuminoidů, oddenek z kurkumy, výrobce Alfa Aesar, LOT 10228603. Dále byl zvolen Lecitin natural - sójový granulát 250 g, výrobce Mogador s.r.o., Extra Virgin Olive Oil 1 litr (zn. Aro - obchodní síť ČR), výrobce Compagnia Alimentare Italiana S.p.A., Blanose 1 %, Ethanol absolutní p.a. 1 litr, výrobce Ing. Petr Švec - PENTA s.r.o. a redestilovaná voda.

V rámci této práce bylo vytvořeno a zkoumáno 8 různých vzorků lipozomální disperze. Každý vzorek obsahoval různý poměr vysokomolekulárního derivátu karboxymethylcelulózy a práškového sójového lecitinu, který je vhodným nosičem pro enkapsulaci kurkuminu. Všechny vzorky obsahovaly optimální koncentraci pro tvorbu lipozomálních micel a rozdíly mezi nimi se vztahovaly pouze k přidavku roztoku 1 hm. % CMC. Látky byly rozpuštěny a homogenizovány v extra panenském olivovém oleji a ethanolu. Podle přidavku roztoku 1 hm. % CMC jsou vzorky označeny číslem 1 až 8, viz následující tabulka 2.

Tabulka 2 Složení vzorků

Vzorek	Lecitin [g]	Objem [ml]				
		Kurkumin	CMC 1 hm. %	Voda	Olej	Ethanol
1	31	1,5	3	-	69	-
2	31	1,5	5	-	69	-
3	31	1,5	1	-	69	-
4	31	1,5	0,5	-	69	-
5	31	1,5	-	-	-	69
6	31	-	-	69	-	-
7	31	-	-	69	-	-
8	-	-	1,5	100	-	-

4.1 Charakteristika materiálu

Vhodnými materiály pro enkapsulaci byly karboxymethylcelulóza (CMC) a práškový sójový lecitin. Obě látky byly rozpuštěny a homogenizovány v rostlinném oleji, aktivní látkou pro zapouzdření byl kurkumin. Kurkumin byl připravován během celé práce opakovaným způsobem, z důvodu možné interakce mezi olejem a kurkuminem či jeho degradace.

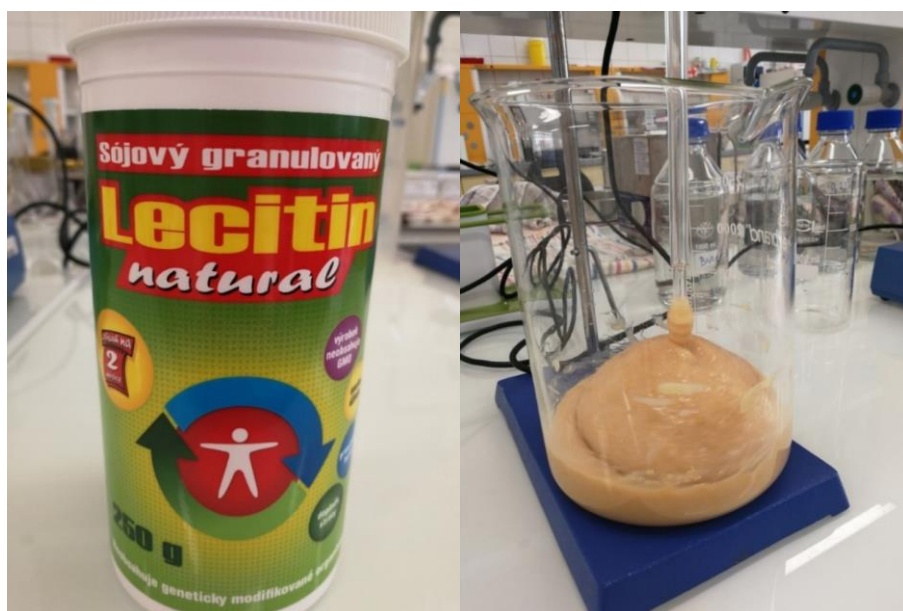


Obrázek 8 Vzorek kurkuminu

4.1.1 Sójový lecitin

Lecitin je nejvíce používaný emulgátor v potravinářském průmyslu, v současnosti se nejvíce používají lecitiny získané ze sóji, dále z mléka, slunečnice, řepky nebo rýže. Je významnou složkou pro přípravu lipozomů a hlavní složkou buněčných membrán, patří mezi fosfolipidy. Z chemického hlediska se jedná o fosfatidylcholin. V potravinách se vyskytuje především ve vaječném žloutku, sádle, másle, vnitřnostech, zelenině, obilí a rostlinných olejích. V potravinářském průmyslu se využívá jako antioxidant a emulgátor pod značkou E322, plní zde mnoho pozitivních funkcí - zabraňuje oddělení vody od oleje, při přípravě těsta ulehčuje hnětení, jako emulgátor se používá u výroby majonéz a ke snížení viskozity při výrobě čokolády.

Fosfolipidy používané v potravinářském průmyslu jsou často označovány jako lecitiny, ve skutečnosti se jedná o komplexní směs obsahující různé fosfolipidy (fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin a fosfatidylinositol) a jiné lipidy, jako jsou např. triglyceridy, steroly nebo glykolipidy. Složeny jsou ze dvou nepolárních mastných kyselin esterifikovaných na glycerolový skelet, který má polární fosfátovou skupinu s hydrofilním zbytkem připojeným cholinem, inositolem, ethanolaminem nebo serinem. Dále obsahují dva uhlovodíkové řetězce, které se skládají z 14-22 uhlíků a mají různý počet nenasycených vazeb. Nenasycený fosfolipid s jednou, dvěma nebo třemi dvojnými vazbami v uhlovodíkovém řetězci je vhodný pro enkapsulaci. Obzvláště vhodný je právě fosfatidylcholin, který obsahuje převážně cholin a kombinuje kyselinu glycerofosforečnou s dvěma mastnými kyselinami [61, 63].



Obrázek 9 Vzorek a příprava lecitinu

4.1.2 Polysacharidy na bázi celulózy

Tyto přírodní polysacharidy mají ekonomické výhody oproti syntetickým protějškům. Špatná rozpustnost polysacharidů ve vodě významně omezuje jejich aplikace. Taková omezení lze překonat různými modifikacemi. Karboxymethylcelulóza (CMC) je polosyntetický derivát celulózy mající karboxymethylové skupiny ($-\text{CH}_2\text{-COONa}$). Tyto karboxymethylové skupiny jsou navázány na některé z hydroxylových skupin na celulóze. CMC je ve vodě rozpustná a má rozsáhlé uplatnění ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu díky hy-

poalergenní povaze, viskozitě a netoxicitě. Jako slibný materiál se jeví pro farmaceutické aplikace díky vynikajícím vlastnostem, jako je rozpustnost, bezpečnost a výborná chemická stabilita. Navíc je biokompatibilní a biologicky odbouratelná. Karboxylové kyseliny přítomné v CMC v disperzích stabilizují vytvořené nanočástice. Karboxymethylcelulóza je aniontový polysacharid, jeho výroba zahrnuje zpracování celulózy vodným hydroxidem sodným a následnou reakcí s kyselinou chloroctovou. Je rozpustný ve vodě a jeho roztoky vykazují nenevtonské, pseudoplastické chování [65, 66].



Obrázek 10 Příprava roztoku CMC

4.2 Příprava vzorků

- ✚ Rozpuštění lecitinu ve vodě v definovaném koncentračním poměru a mechanická homogenizace s cílem dosažení hladké směsi disperze.
- ✚ Vytvoření roztoku kurkuminu v kombinaci s rostlinným olejem a ethanolem, a následné vložení do ultrazvukové lázně k homogenizaci.
- ✚ Vzájemné smíchání vzniklých směsí z předchozích kroků a působení ultrazvuku.
- ✚ Příprava vodného roztoku karboxymethylcelulózy.
- ✚ Příprava vzorků disperzí obsahujících směs lecitinu, kurkuminu, rostlinného oleje a roztok 1 % CMC v různém poměru.



Obrázek 11 Příprava vzorků lipozomálních disperzí

4.3 Metody fyzikálně-chemické analýzy

4.3.1 Stabilita emulzí

Stabilita emulze byla hodnocena vizuálně. Byla sledována v den přípravy vzorků, 72 a 120 hodin po přípravě v laboratoři. Ve všech případech pozorování byla emulze shledána stabilní s mírnou opalescencí a v nezměněné formě, jak je zřejmé z níže uvedených obrázků (12, 13, 14).



Obrázek 12 *Lipozomální disperze 1.den*



Obrázek 13 *Lipozomální disperze 3. den*



Obrázek 14 *Lipozomální disperze 5.den*

4.3.2 Určení velikosti částic lipozomů metodou dynamického rozptylu světla

Dynamický rozptyl světla je metoda, kterou lze stanovit velikosti i extrémně malých částic v submikronovém rozsahu, přičemž tyto částice vykazují Brownův pohyb.

U soustav s různými indexy lomu disperzní fáze a disperzního prostředí se vyskytuje rozptyl záření. V koloidních disperzích se projevuje jemným zákalem, opalescencí, jejíž příčinou jsou srovnatelné nebo menší rozměry disperzních částic s vlnovou délkou světelných paprsků. Rozptyl záření vzniká jak odrazem a lomem světla na částicích, tak i ohybem světla, roste s rostoucí velikostí koloidních částic a s klesající vlnovou délkou. Pokud se nahradí klasický zdroj světla laserem, dojde v některých směrech k vzájemnému ovlivňování rozptýleného záření, jež způsobuje zesílení intenzity záření, jde o tzv. dynamický rozptyl světla. Základem této neinvazivní techniky je měření změny intenzity rozptýleného světla z laserového zdroje okolo její průměrné hodnoty. Tyto změny souvisí s interferenčním zeslabováním a zesilováním světla rozptýleného na pohyblivých částicích disperzní fáze. Čím rychleji se částice pohybují, tím rychleji se intenzita rozptýleného světla mění. Rychlost těchto změn je tedy přímo závislá na pohybu molekul. Z výsledků měření lze získat informace o velikosti a koncentraci disperzních částic. Metoda má mnoho výhod (např. využití při analýze velikosti částic s rozměry od několika nanometrů až do 1-2 μm) a je vhodná při charakterizaci micel, lipozomů, emulzí, latexů a pigmentů [67, 68].

4.3.2.1 *Použitý přístroj a parametry měření*

Efektivní průměr lipozomálních částic byl hodnocen dynamickým rozptylem světla pomocí přístroje Zeta Plus, Brookhaven Instruments, USA. Měření byla provedena při 25 °C s indexem lomu 1,330, vlnovou délkou 658 nm a detekčním úhlem 90°. Vzorky lipozomální disperze byly zředěny v poměru 1:10 redestilovanou vodou. Měření byla provedena 5x pro každý vzorek.

4.3.3 **Určení elektrokinetického Zeta potenciálu (ζ -potenciál)**

Velikost zeta potenciálu informuje o potenciální stabilitě koloidního systému.

Pokud všechny částice v suspenzi mají velký negativní nebo pozitivní zeta potenciál, budou mít tendenci se navzájem odpuzovat. Pokud však částice mají nízké hodnoty zeta potenciálu, bude docházet k jejich shlukování.

Každá částice rozptýlená v disperzi je na svém povrchu obalena elektrickou dvojvrstvou, kde vnitřní Sternova vrstva, obsahuje ionty silně vázané a vnější vrstva obsahuje ionty vázané slaběji. Uvnitř difúzní vrstvy existuje pomyslná hranice, v níž částice s ionty tvoří stabilní jednotku. Potenciál, který existuje na této hranici, se nazývá zeta potenciál. Znaménko zeta potenciálu je opačné než znaménko iontů vnější vrstvy elektrické dvojvrstvy. Za stabilní systémy se považují ty, které mají hodnoty zeta potenciálu vyšší než +30 mV, nebo nižší než -30 mV. Toto pravidlo platí pouze pro čistou elektrostatickou stabilizaci nebo v kombinaci s povrchově aktivními látkami s nízkou molekulovou hmotností a neplatí, pokud jsou přítomny stabilizátory s vysokou molekulovou hmotností.

Zásadním faktorem, ovlivňujícím hodnotu zeta potenciálu, je pH. Můžeme říci, že v kyselém prostředí je hodnota zeta potenciálu kladná a s rostoucím pH bude klesat. Hodnota pH, kdy bude mít roztok nulový zeta potenciál, se nazývá izoelektrický bod a v tomto bodě je koloidní systém většinou nejméně stabilní, Zeta potenciál závisí i na teplotě, iontové síle a viskozitě [69].

4.3.3.1 *Použitý přístroj a parametry měření*

Zeta potenciál byl měřen pomocí přístroje Zeta Plus, Brookhaven Instruments, USA. Jednotlivé vzorky byly naředěny v poměru 1:10 s redestilovanou vodou. Teplota byla 25 °C. Měření byla převedena na hodnoty zeta potenciálu aplikací matematického modelu Smoluchowski. Zeta potenciál se měří elektroforézou v kapilární kvyetě.

4.3.4 Měření reologických vlastností

Reologické chování potravinářských materiálů se přímo odráží od jejich texturních vlastností. Pod pojmem reologické vlastnosti se skrývají vlastnosti látek mající vliv na tok látek a změnu jejich tvaru. Znalost základních reologických veličin, viskozity, meze toku a modulů pružnosti je potřebná nejen k charakterizování surovin, ale i k řešení mnoha technologických operací. Reologie je také provázána s prováděním kontroly kvality a senzorických vlastností potravin. Textura zahrnuje konstrukční prvky a způsoby, jak jsou senzorické vlastnosti potravin vnímány. Veškeré reologické i strukturální vlastnosti potravin vnímají lidské receptory. Matematickým vyjádřením tokových vlastností kapalin jsou reologické stavové rovnice, které zpravidla vyjadřují vztah mezi deformačním smykovým (tečným, vazkým) napětím τ a deformací kapaliny. Jejich grafickou podobou jsou tokové křivky [64].

4.3.4.1 Použitý přístroj a parametry měření

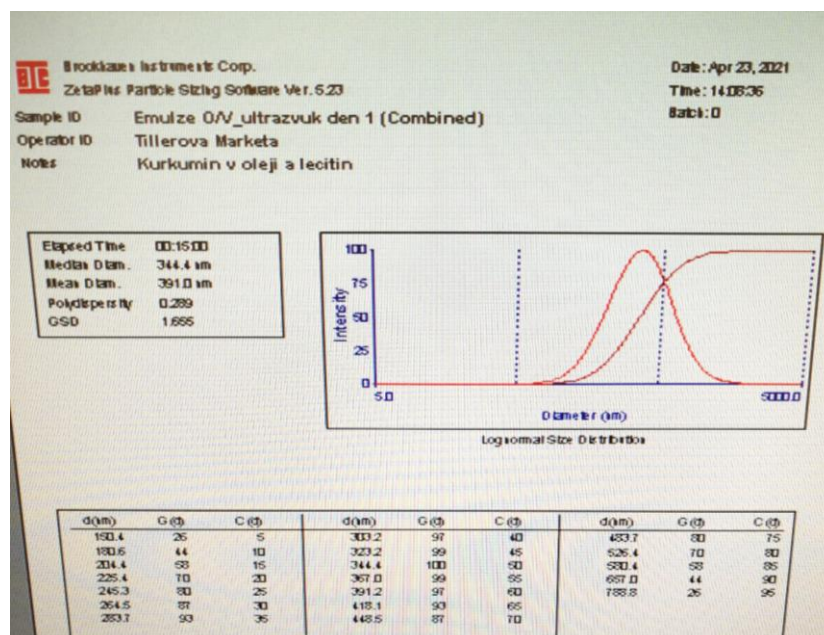
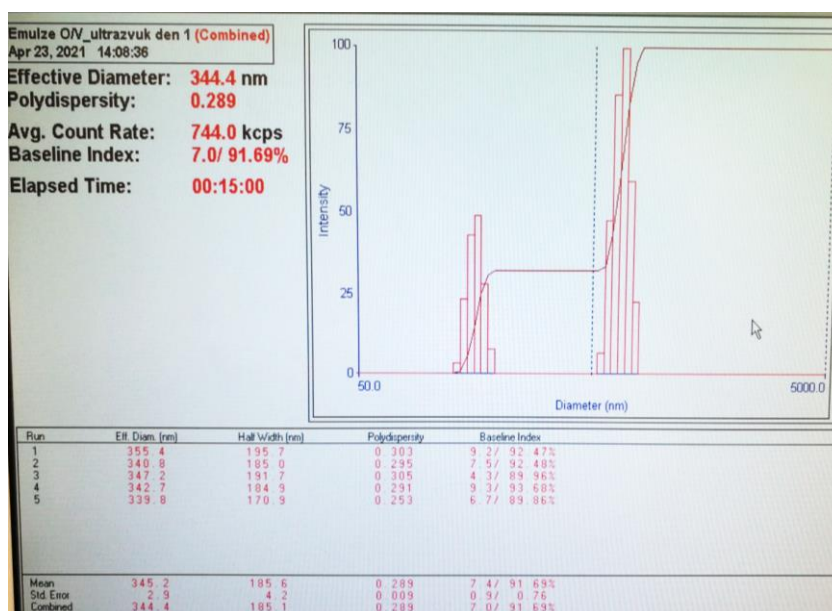
Viskozimetr Haake, Viscotester 6L/R, který byl v našem případě použit, má stupně rychlosti v rozsahu od 0,3 do 200 otáček za minutu. K měření je možno použít čtyři různá měřicí vřetena (L1 až L4), která jsou volena podle hustoty měřené látky. V našem případě probíhalo měření v konfiguraci válec-válec. Použitá vřetena i stupně otáček byly voleny podle možností detekce. Rotační viskozimetr pracuje na principu měření síly, nutné k otáčení rotačního tělesa ve tvaru válce ponořeného do kapaliny. Těleso je připevněno k hřídeli otáčející se definovanou rychlostí. U ne-Newtonských kapalin lze viskozitní charakteristiku popsat pomocí tokové křivky nebo s pomocí relativní viskozity.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Poloměr částic a Zeta potenciál

Měření velikosti částic pomocí dynamického rozptylu světla bylo provedeno pět krát pro každý z osmi vzorků skladovaných při pokojové teplotě. Výsledky byly následně statisticky zpracovány a vyhodnoceny metodou ANOVA.

Velikost částic byla stanovena dynamickým rozptylem světla (Zeta Plus, Brookhaven Instruments, USA) po zředění vzorků v poměru 1:10 redestilovanou vodou. Bylo provedeno 1 měření pro každý z osmi vzorků lipozomální disperze viz obrázek 15. Výsledky měření ostatních vzorků jsou uvedeny v tabulce 3.



Obrázek 15 Měření velikosti částic

Tabulka 3 Průměrná velikost částic d [nm] a zeta potenciál ζ [mV]

	Efektivní průměr [nm]	Frakce				Kombinovaný průměr [nm]	Polydisperzita	Zeta potenciál ζ [mV]
		1	2	3	4			
1	355.4	204.4	344.4			391	0.289	-69.87
	340.8							± 1.42
	347.2							
	342.7							
	339.8							
	344.4 $\pm 2,9$							
2a	496.3	222.7	1005.9			796.8	0.32	-69.87
	536.2							± 1.42
	552							
	540.7							
	542.4							
	529.3 ± 10							
2b	459	200	931.2			772.2	0.313	-69.87
	571.1							± 1.42
	555.7							
	556.8							
	569.8							
	539.1 $\pm 21,1$							
3	403.9	78.8	247.4	956.5		692.3	0.292	-65.67
	470.6							$\pm 3,44$
	485.1							
	462.8							
	472.6							
	465.6 $\pm 14,2$							
4	392.2	221.1	842.3			621.7	0.281	-60.89
	454.3							$\pm 3,73$
	432.7							
	436.1							
	446							
	432.3 ± 11							
5	370.7	193.2	736.2			544.2	0.28	
	376.4							
	381.1							
	382.3							
	379.2							
	377.8 $\pm 2,1$							
6	415.3	196	744			586.1	0.277	-66.94
	426.3							± 1.42
	419							
	425.5							
	431.8							
	423.6 $\pm 2,9$							
7	412.4	212.4	825.3			592.1	0.273	
	420.3							
	402.6							
	403.5							
	420.9							
	412.8 $\pm 3,9$							
8	2015.8	42.5	158.7	716.1	8283.5	5293.2	0.39	-70.13
	1411.7							± 1
	939.2							
	1626.2							
	5967.6							
	2392.1 $\pm 910,6$							

Vzorky lipozomálních disperzí byly uchovávány při pokojové teplotě. Z údajů v tabulce 3 vyplývá, že vzorky s vyšším přídatkem CMC ovlivňují velikost částic lipozomální disperze. Nejmenší velikost částic vykazoval vzorek 1 ($d = 344,4 \pm 2,9$ nm) a naopak největší částice obsahovaly disperze 2a ($d = 529,3 \pm 10$ nm) a 2b ($d = 539,1 \pm 21,1$ nm).

Po statistickém vyhodnocení dat pomocí analýzy rozptylu světla bylo zjištěno, že nejsou statisticky významné rozdíly mezi průměrnými velikostmi částic disperzí v závislosti na přidaném množství karboxymethylcelulózy, pouze vzorek samotné CMC se významně statisticky odlišoval viz příloha P I. Můžeme tedy říci, že částice jsou si velikostně podobné a jejich rozměr nezávisí na přidaném množství CMC. Hypotézy byly hodnoceny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Dále z naměřených dat vyplynulo, že vyšší přídavek karboxymethylcelulózy může ovlivnit elektrokinetický zeta potenciál a stabilitu lipozomální disperze. Statistické vyhodnocení dat potvrdilo, že nebyly shledány významné rozdíly mezi sledovanými vzorky, kromě vzorku s nejnižším přidaným množstvím CMC, ten se statisticky významně lišil viz příloha P II. Hypotézy byly hodnoceny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5.2 Reologie

Z reologických vlastností byla sledována dynamická viskozita η a smykové napětí τ . Naměřené hodnoty byly zpracovány a rozděleny do dvou grafů pro přehlednější posouzení vlivu přídatku karboxymethylcelulózy. Každý vzorek byl proměřen jednou při stoupajícím i klesajícím počtu otáček za minutu. Reologické vlastnosti lipozomálních disperzí byly měřeny pomocí přístroje Viskozimetr Haake, Viscotester 6L/R. Měření probíhalo vždy nejprve při zvyšujících se otáčkách (UP) a následně při snižujících (DOWN) se otáčkách cívky viskozimetru. K porovnání tokových i viskozitních křivek byl použit Ostwald-de Waeleho mocninový model, který definuje vztah mezi smykovým napětím a smykovou (deformační rychlostí) rovnicí:

$$\tau = k \cdot \dot{\gamma}^n$$

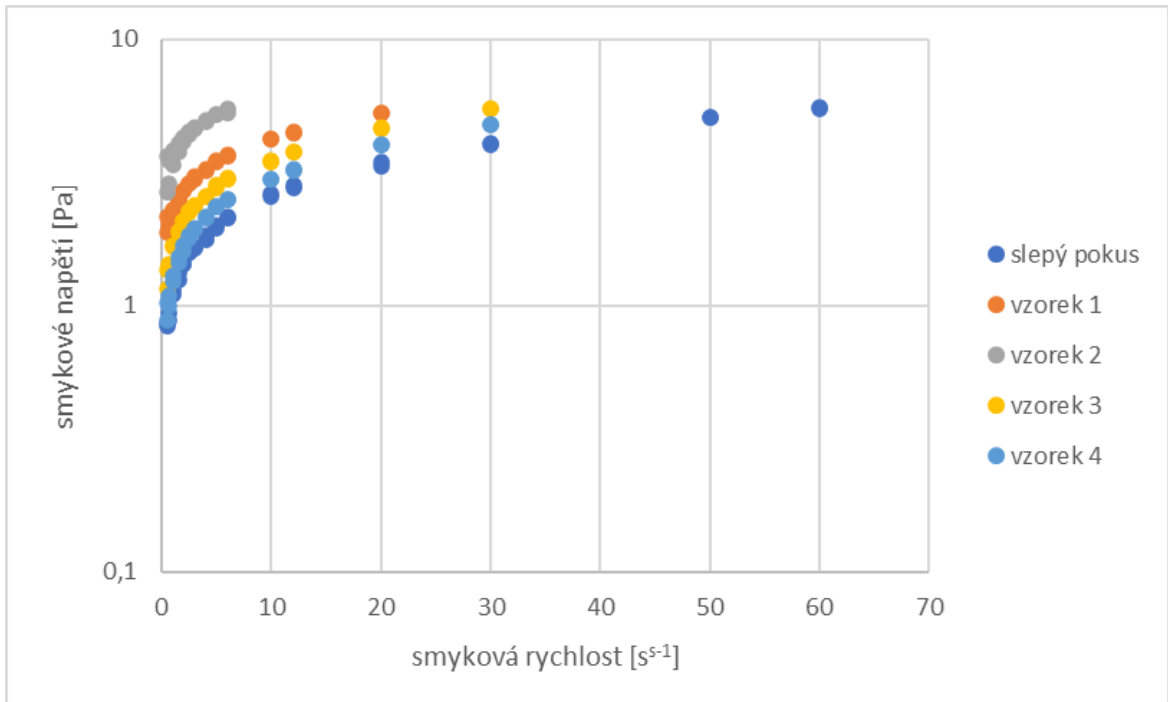
Na základě indexu toku (n) a koeficientu konzistence (k) lze určit o jaký druh kapaliny se jedná. Pokud platí $k = \eta$ a $n = 1$, uvažuje se Newtonská kapalina. Pokud platí $n \neq 1$, jedná se o ne-Newtonskou kapalinu. Dále bylo potřeba rozhodnout, o jakou ne-Newtonskou kapalinu se jedná. Pokud by bylo $n > 1$, považovali bychom látku za dilatantní. V našem případě je ovšem $n < 1$, proto je zřejmé, že se jedná o látku pseudoplastickou [64].

Tabulka 4 Parametry modelu Ostwald-de Waele u micelárních disperzí

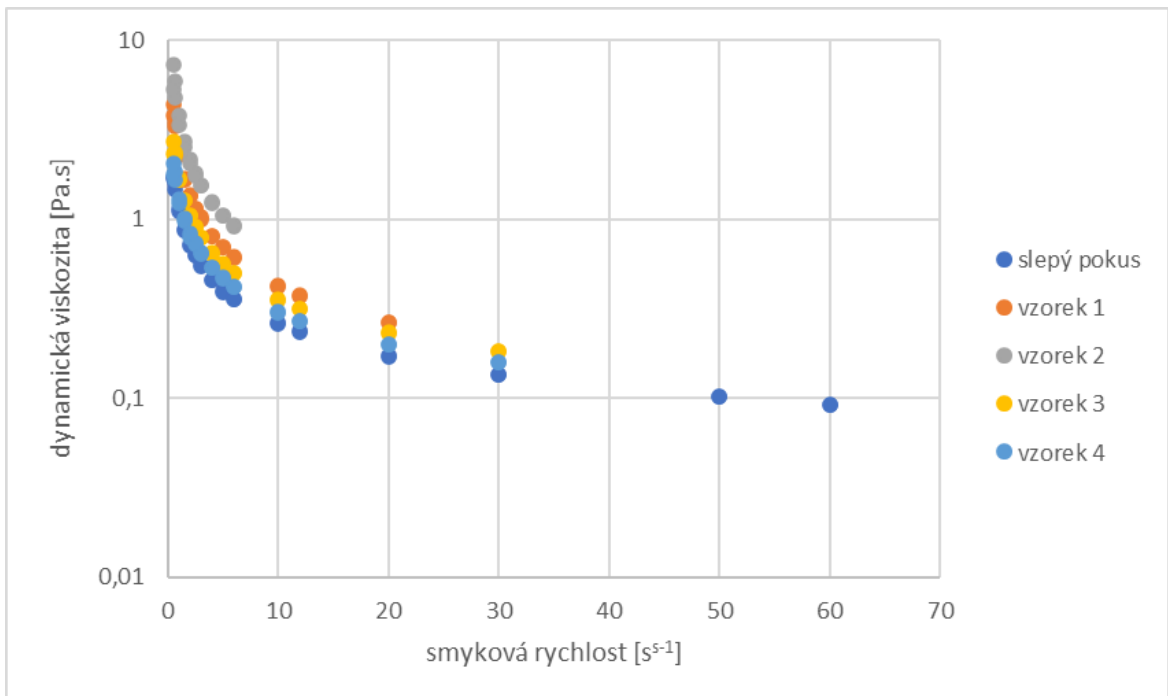
k = součinitel konzistence, n = index tokového chování, R^2 = koeficient determinace

	k [mPas]	n [-]	R^2
vzorek 1	$2,259 \pm 0,02343$	$0,2757 \pm 0,005$	0,7505
vzorek 2	$3,601 \pm 0,06638$	$0,2259 \pm 0,015$	0,6206
vzorek 3	$1,601 \pm 0,01796$	$0,3546 \pm 0,004$	0,8178
vzorek 4	$1,601 \pm 0,01796$	$0,3546 \pm 0,004$	0,8178
vzorek 5	$1,250 \pm 0,01130$	$0,3895 \pm 0,003$	0,8353

Z výsledků disperzí je patrné, že hodnoty n klesají s rostoucí koncentrací karboxymethylcelulózy. Tento jev lze připisovat tomu, že nižší hodnoty n potvrzují přítomnost asociativních reakcí mezi řetězci polymerů. Proto s nárůstem hodnoty n na hodnotu 1 by bylo chování disperze mnohem více podobné Newtonovské kapalině. Naopak s vyšším přídatkem CMC se index toku snižuje směrem k hodnotě nula, což značí vysoce pseudoplastickou disperzi, znázorněno na obrázku 16 a 17.



Obrázek 16 Závislost smykového napětí (Pa) na smykové rychlosti (s^{-1}) micelárních disperzí.



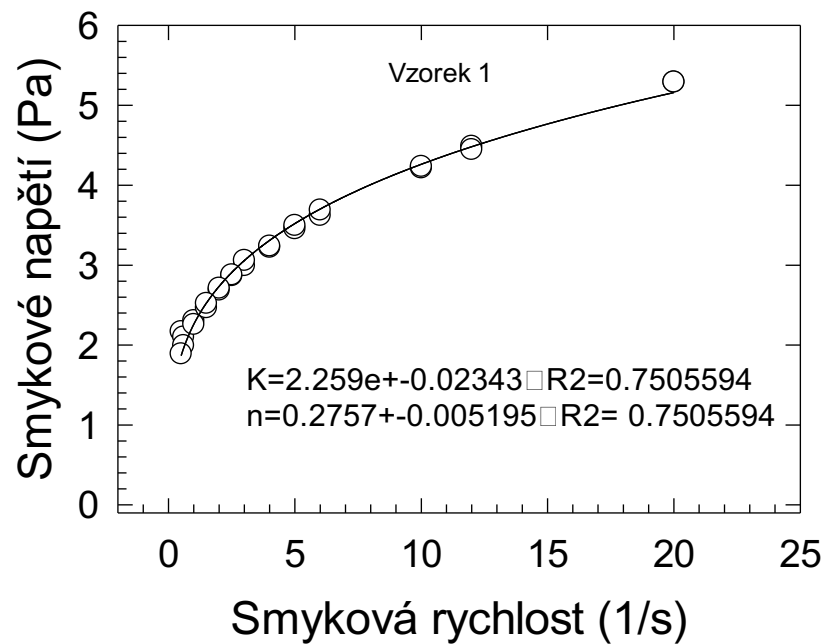
Obrázek 17 Závislost dynamické viskozity (Pa.s) na smykové rychlosti (s^{-1}) micelárních disperzí.

Tabulka 5 Naměřené hodnoty smykového napětí a zdánlivé viskozity na smykové rychlosti RPM [min^{-1}]

RPM	Vzorek 1				Vzorek 2				Vzorek 3			
	Rostoucí ot.		Klesající ot.		Rostoucí ot.		Klesající ot.		Rostoucí ot.		Klesající ot.	
	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$
0,5	0,858	1,7161	5,502	0,091603	2,166	4,3321	5,292	0,26551	3,618	7,2362	5,268	0,91803
0,6	0,876	1,46	5,088	0,1014	2,1	3,5001	4,446	0,37401	3,51	5,8502	5,232	1,044
1	1,104	1,104	4,026	0,1344	2,304	2,3041	4,236	0,42361	3,804	3,8041	4,878	1,2195
1,5	1,254	0,86003	3,3501	0,16981	2,466	1,6441	3,69	0,61502	4,062	2,7081	4,59	1,53
2	1,434	0,71702	2,778	0,23201	2,688	1,344	3,498	0,69962	4,278	2,1391	4,368	1,7473
2,5	1,572	0,62882	2,562	0,25921	2,868	1,1472	3,24	0,81003	4,482	1,7929	4,104	2,0521
3	1,668	0,55602	2,136	0,35601	2,994	0,99803	3,06	1,02	4,656	1,552	3,78	2,5201
4	1,776	0,46051	1,992	0,39961	3,222	0,80553	2,88	1,152	4,962	1,2405	3,366	3,3661
5	1,95	0,39001	1,83	0,45751	3,456	0,69242	2,712	1,356	5,232	1,0464	2,856	4,7601
6	2,16	0,35901	1,632	0,54402	3,624	0,60802	2,52	1,6801	5,484	0,90903	2,67	5,3402
10	2,622	0,26221	1,572	0,62882	4,218	0,42181	2,256					
12	2,832	0,23601	1,428	0,71402	4,488	0,37151	1,992					
20	3,456	0,17311	1,32	0,88003	5,292	0,26551	1,89					
30	4,092	0,1364	1,14	1,14								
50	5,094	0,10188	0,942	1,57								
60	5,55	0,092303	0,84	1,6801								

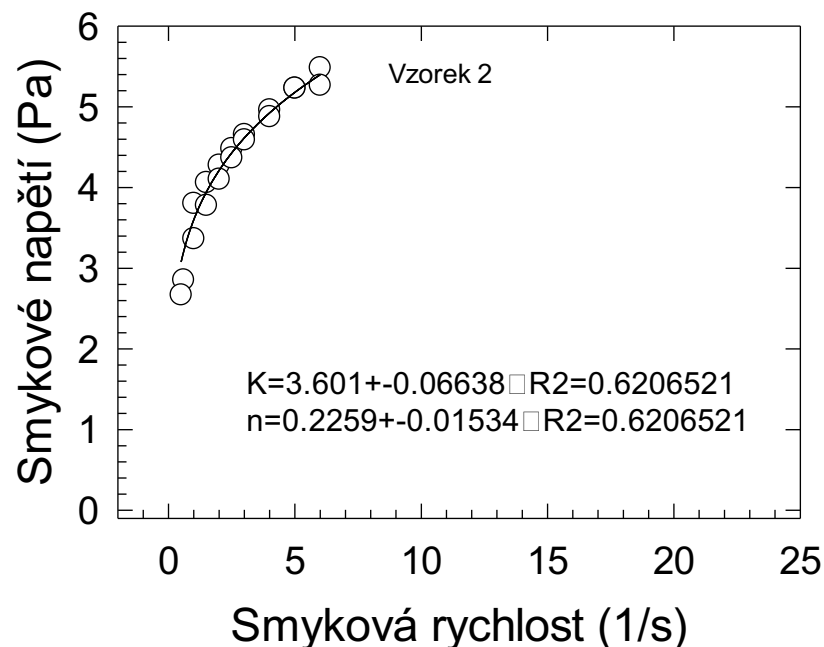
RPM	Vzorek 4				Vzorek 5			
	Rostoucí ot.		Klesající ot.		Rostoucí ot.		Klesající ot.	
	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$	$\sigma(\text{Pa})$	$\eta (\text{Pa.s})$
0,5	1,158	2,3161	5,472	0,18201	0,882	1,7641	4,758	0,159
0,6	1,368	2,2801	4,584	0,23061	0,996	1,6601	4,002	0,20071
1	1,656	1,6561	3,758	0,31401	1,236	1,236	3,234	0,26851
1,5	1,89	1,26	3,498	0,35221	1,452	0,96803	2,988	0,30181
2	2,088	1,044	2,976	0,49602	1,59	0,79502	2,514	0,41901
2,5	2,268	0,90723	2,784	0,55682	1,8	0,72002	2,364	0,47161
3	2,382	0,79402	2,562	0,64052	1,92	0,64002	2,148	0,53702
4	2,58	0,64502	2,352	0,78402	2,124	0,53102	1,95	0,65002
5	2,844	0,56882	2,238	0,89523	2,34	0,46801	1,842	0,73682
6	3,006	0,50102	2,082	1,041	2,49	0,41501	1,674	0,83703
10	3,474	0,35701	1,896	1,264	2,964	0,30121	1,524	1,016
12	3,792	0,31701	1,674	1,6741	3,228	0,27051	1,302	1,302
20	4,65	0,23161	1,422	2,3701	4,02	0,20101	1,092	1,8401
30	5,496	0,18261	1,356	2,7121	4,77	0,159	1,026	2,0521

Na obrázcích 18 až 22 jsou vykresleny jednotlivé tokové křivky sledovaných disperzí.



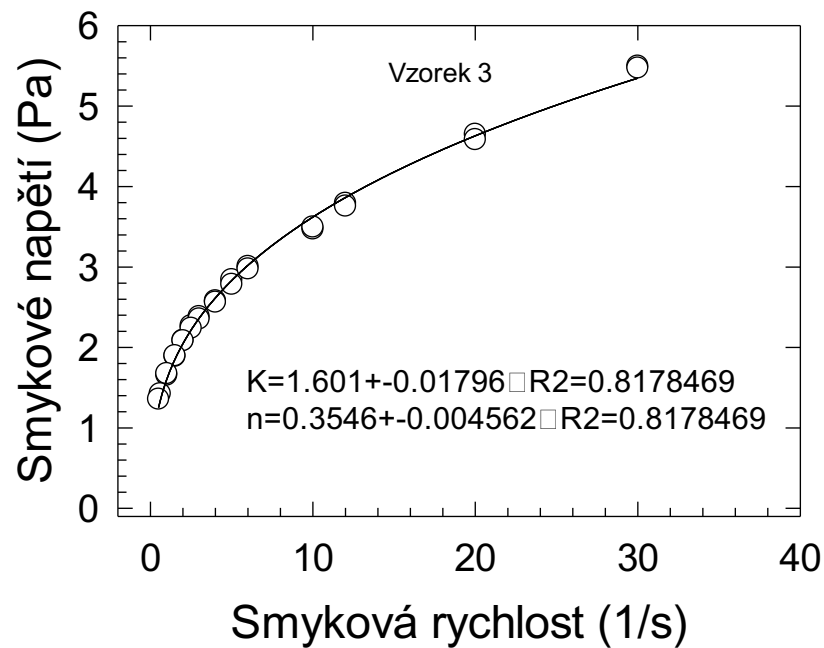
Obrázek 18 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti vzorku lecitinu ve vodě.
 Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.

Legenda: ○ experimentální data, plná čára - naitovaná závislost, R^2 - korelační koeficient.



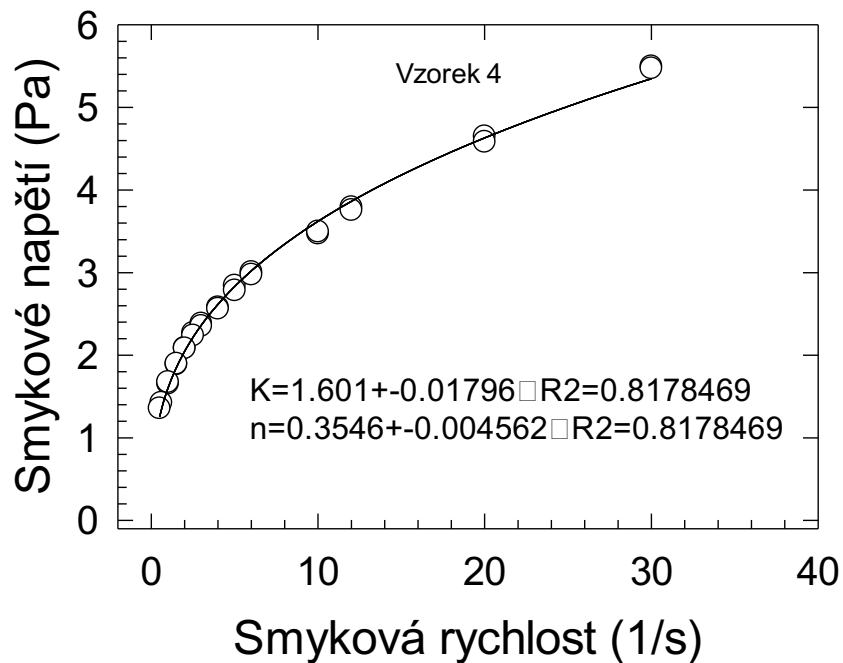
Obrázek 19 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti micelární emulze kurkuminu a lecitinu na přidavku CMC 3 ml. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.

Legenda: ○ experimentální data, plná čára - naitovaná závislost, R^2 - korelační koeficient.



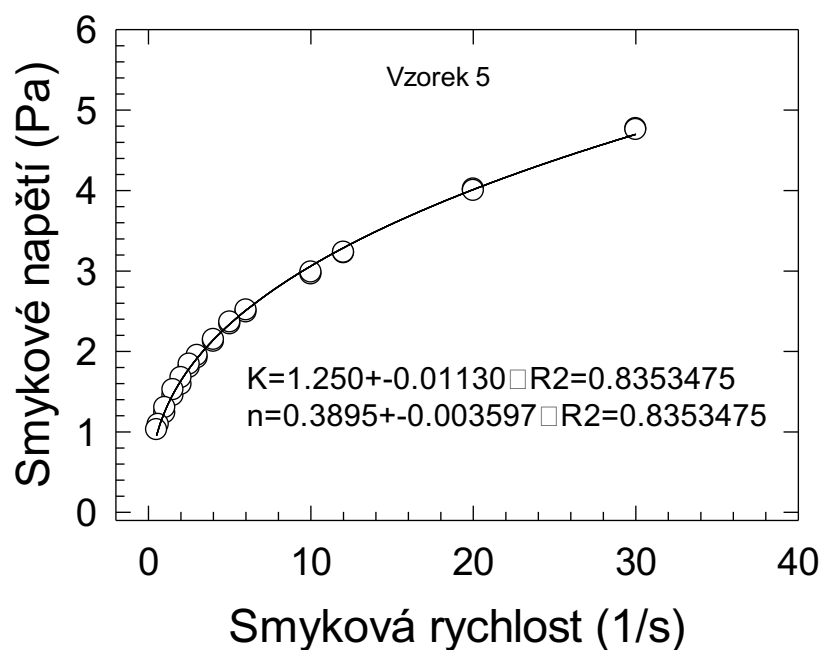
Obrázek 20 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti micelární emulze kurkuminu a lecitinu na přídavku CMC 5 ml. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.

Legenda: ○ experimentální data, plná čára - naitovaná závislost, R^2 - korelační koeficient.



Obrázek 21 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti micelární emulze kurkuminu a lecitinu na přídavku CMC 1 ml. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.

Legenda: ○ experimentální data, plná čára - naitovaná závislost, R^2 - korelační koeficient.



Obrázek 22 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti micelární emulze kurkuminu a lecitinu na přídavku CMC 0,5 ml. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.

Legenda: ○ experimentální data, plná čára - nafitovaná závislost, R^2 - korelační koeficient.

Lipozomální disperze s přídavkem 1 hm.% karboxymethylcelulózy byly použity pro zapouzdrění kurkuminu. Byla stanovena velikost, struktura a stabilita lipozomů pomocí dynamického rozptylu světla a zeta potenciálu. Dále byly zkoumány reologické vlastnosti pomocí tokových křivek. Stabilita lipozomální disperze byla hodnocena prostřednictvím změn velikostí částic v závislosti na jejich složení. Výsledky prokázaly, že přídavek karboxymethylcelulózy může ovlivnit velikost částic. Agregace lipozomů je fyzikálně-chemický mechanismus, který závisí na pH, vnějším zatížení, tepelné zátěži a přítomnosti kationtů [70].

Pro suspenze s velikostí částic menší než 1 mikrometr je obvykle pro udržení částic v disperzní fázi podstatný Brownův pohyb. Kvůli Brownovu pohybu se budou částice nepřetržitě srážet mezi sebou a následkem toho se díky Van der Waalsovým přitažlivým silám mohou shlukovat. To může vést k vytváření sekundárních vloček (částic) o mnohem větší velikosti [71].

V této práci bylo zjištěno, že systém lipozomální disperze a přídavek polymerního tenzidu CMC měl vliv na velikost a rozměr částic. Vliv přídavku CMC na výsledný zeta potenciál nebyl statisticky potvrzen.

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce byla enkapsulace kurkuminu v koloidních disperzích pomocí lecitinu a karboxymethylcelulózy, dále pozorování fyzikálně-chemických vlastností a změn vzniklé lipozomální disperze. Pomocí měření rozměru částic a elektrokinetického zeta potenciálu bylo prokázáno, že lipozomální disperze vykazuje při pokojové teplotě velmi vysokou stabilitu.

Karboxymethylcelulóza ovlivnila reologické vlastnosti lipozomálních disperzí s kurkuminem. S vyšším přídatkem tohoto polymeru došlo k navýšení viskozity i smykového napětí daného modelového vzorku. Všechny modelové vzorky lipozomálních disperzí s přídatkem karboxymethylcelulózy vykazovaly pseudoplastické chování kapalin, reologické vlastnosti lipozomálních disperzí byly měřeny při pokojové teplotě.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SCARTEZZINI, P. a E. SPERONI. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2000, 71(1), 23-43 [cit. 2020-12-28]. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00213-0. ISSN 03788741
- [2] AGGARWAL, B.B., C. SUNDARAM, N. MALANI, H. ICHIKAWA. *Molecular Targets and Therapeutical Use of Curcumin in Health and Disease*. Springer Science + Business Media, USA. 2007. ISBN 0387464018
- [3] VELÍŠEK, J. a K. CEJPEK. *Biosynthesis of food components*. Tábor: OSSIS, 2008, s. 412-415. ISBN 978-80-86659-12-1
- [4] *Scientific Opinion on the re-evaluation of curcumin (E 100) as a food additive* | Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit [online]. Dostupné z: <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/1679>
- [5] Magisetty Obulesu. *Turmeric and Curcumin for Neurodegenerative Diseases* [online]. Acharya NG Ranga Agricultural University, Tirupati, Indie, 2021 [cit. 2021-01-19]. ISBN 9780128224496
- [6] ESATBEYOGLU, T., P. HUEBBE, I.M.A. ERNST, D. CHIN, A.E. WAGNER a G. RIMBACH. Curcumin-From Molecule to Biological Function. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 2012, 51(22), 5308-5332 [cit. 2020-12-28]. DOI: 10.1002/anie.201107724. ISSN 14337851
- [7] NAIR, K.P. Prabhakaran. *The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger*. Elsevier, 2013. ISBN 978-0-12-394801-4
- [8] Kurkumovník dlouhý (*Curcuma longa*) [online] In.[cit.2021-03-17]. Dostupné z:https://www.researchgate.net/publication/328969212_Diverse_Effects_of_Different_Protein_Based_Vehicles_on_the_Stability_and_Bioavailability_of_Curcumin
- [9] *Curcumin* | Linus Pauling Institute | Oregon State University [online]. Dostupné z: <http://lpi.oregonstate.edu/mic/dietaryfactors/phytochemicals/curcumin#carcinogen-metabolism>
- [10] RAVINDRAN, P. N., K. NIRMAL BABU a K. SIVARAMAN. *Turmeric: the genus Curcuma*. Boca Raton, FL: CRC Press, c2007. ISBN 978-084-9370-342.

- [11] AUGUSTYN, A., BAUER, P. et al., Turmeric: PLANT [online]. December 3, 2018 [cit. 2021-03-17]
- [12] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Tábor: OSSIS, 1999, 304 s. ISBN 80-902-3914-5
- [13] OPLETAL, L., *Přírodní látky a jejich biologická aktivita. sv. 1. Primární metabolity a látky obsažené ve strukturovaných biologických systémech*. Karolinum, Praha 2010. ISBN 978-80-246-1884-5.
- [14] KATSUYAMA, Y., T. KITA, N. FUNA a S. HORINOUCI. Curcuminoid Biosynthesis by Two Type III Polyketide Synthases in the Herb *Curcuma longa*. *Journal of biological chemistry* [online]. 2009, 284(17), 11160-11170 [cit. 2019-12-29]. ISSN 00219258.
- [15] CLARK, M., *Handbook of textile and industrial dyeing*. Philadelphia: Woodhead Publishing Limited. 2011, ISBN 978-184-5696-962
- [16] MANOLOVA, Y., V. DENEVA, L. ANTONOV et al. The effect of the water on the curcumin tautomerism: A quantitative approach. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2014, 132, 815-820 [cit. 2021-01-09]. DOI: 10.1016/j.saa.2014.05.096. ISSN 13861425
- [17] GOEL, A., KUNNUMAKKARA, AB.; AGGARWAL, BB. Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. *Biochemical Pharmacology* [online]. 2008, 75(4), 787-809 [cit. 2021-01-21]. DOI: 10.1016/j.bcp.2007.08.016. ISSN 00062952
- [18] TØNNESEN, H.H., M. MÁSSON a T. LOFTSSON. Studies of curcumin and curcuminoids. XXVII. Cyclodextrin complexation: solubility, chemical and photochemical stability. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2002, 244(1), 127-135 [cit. 2021-01-09]. DOI: 10.1016/S0378-5173(02)00323-X. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037851730200323X?via%3Dihub>
- [19] PRIYADARSINI, K. The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent. *Molecules*. 2014, 19(12), 20091-20112. ISSN 1420-3049
- [20] SHOBA, G. et al. Influence of Piperine on the Pharmacokinetics of Curcumin in Animals and Human Volunteers. *Planta Medica*. 1998, vol. 64, no. 4, pp. (353-356)
- [21] PRASAD S, TYAGI A.K., AGGARWAL B. Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: the golden pigment from the golden spice. *Cancer Res Treat*. 2014; 46: (2-18)

- [22] STOHS S. J., BUCCI, L. R. & PREUSS, H.G. A Comparative Pharmacokinetic Assessment of a Novel Highly Bioavailable Curcumin Formulation with 95 % Curcumin: A Randomized, Double-Blind, Crossover Study, *Journal of the American College of Nutrition*, 2018, 37:1, 51-59, DOI: 10.1080/07315724.2017.1358118
- [23] ANAND P, KUNNUMAKKARA AB, NEWMAN RA, AGGARWAL BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*. 2007 (4): (807–818)
- [24] GUPTA, S.C.; PATCHVA, S.; AGGARWAL, B.B. Therapeutic Roles of Curcumin: Lessons Learned from Clinical Trials. *AAPS J*. 2013, 15, (195–218)
- [25] SAHEBKAR, A.; SERBANC, M.C.; URSONIUC, S.; BANACH, M. Effect of curcuminoids on oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Funct. Foods* 2015, 18, (898–909)
- [26] PRIVADARSINI, K.I.; MAITY, D.K.; NAIK, G.H.; KUMAR, M.S.; UNNIKRISHNAN, M.K.; SATAV, J.G.; MOHAN, H. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic. Biol. Med*. 2003, 35, (475–484)
- [27] BISWAS, S.K. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2016, 2016, 5698931
- [28] PANAHI, Y.; HOSSEINI, M.S.; KHALILI, N.; MAJEED, M.; Effects of curcumin on serum cytokine concentrations in subjects with metabolic syndrome: A post-hoc analysis of a randomized controlled trial. *Biomed. Pharmacother*. 2016, 82, (578–582)
- [29] HE Y., YUE Y., ZHENG X., ZHANG K., CHEN S., DU Z. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked? *Molecules* 20, 2015, (183–213)
- [30] SHEHZAD, ADEEB & LEE, Curcumin: Multiple molecular targets mediate multiple pharmacological actions: A review. *Drugs of the Future*. 2010, 35. 113.
- [31] RAHIMNIA A.R., PANAHI Y., ALISHIRI A., SHARAFI M., SAHEBKAR, A. Impact of supplementation with curcuminoids on systemic inflammation in patients with knee osteoarthritis: Findings from a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Drug Res*. 2015; 65: (521–525) doi: 10.1055/s-0034-1384536.
- [32] SAHEBKAR, A. Molecular mechanisms for curcumin benefits against ischemic injury. *Fertil. Steril*. 2010; 94: (75–76) doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.07.1071.

- [33] DAILY, J.W., YANG M., PARK S. Efficacy of turmeric extracts and curcumin for alleviating the symptoms of joint arthritis: A Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J. Med. Food*. 2016; 19: (717–729) doi: 10.1089/jmf.2016.3705.
- [34] PAN, H.Z., ZHOU, X.L., SUN, D.J., MENG, M., LI, X.X., SUN, C.H. Curcuminoids exert glucose-lowering effect in type 2 diabetes by decreasing serum free fatty acids: A double-blind, placebo-controlled trial. *Mol. Nutr. Food Res*. 2013; 57: (1569–1577). doi:10.1002/mnfr.201200131
- [35] MOHAMMADI, A., et al, Effects of supplementation with curcuminoids on dyslipidemia in obese patients: A randomized crossover trial. *Phytother. Res*. 2013; 27: (374–379) doi: 10.1002/ptr.4715.
- [36] PANAHI, Y., KHALILI, N., et al., A. Lipid-modifying effects of adjunctive therapy with curcuminoids-piperine combination in patients with metabolic syndrome: Results of a randomized controlled trial. *Complement. Ther. Med*. 2014; 22: (851–857) doi:10.1016/j.ctim.2014.07.006
- [37] CRU: *The Spices of Cancer Prevention* | American Institute for Cancer Research (AICR) [online]. [cit. 2021-02-22]. Dostupné z: http://www.aicr.org/cancer-researchupdate/august_21_2013/CRU_spices_cancer_prevention.html
- [38] PATEL, VAISHALI, B., MISRA, S., BHAUMIK, B., PATEL. Colorectal cancer: chemopreventive role of curcumin and resveratrol. *Nutrition And Cancer* [online]. 2010, roč. 62, č. 7, s. 958–967. ISSN 1532-7914. Dostupné z: doi:10.1080/01635581.2010.510259
- [39] HADAŠOVÁ E. Lipozomální léčivé formy. *Remedia* 2006; 16:433-437.
- [40] NEDOVIC, V, KALUSEVIC, MANOJLOVIC, LEVIC, BUGARSKI.: An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*. 2011, č. 1, s. 1815. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211601X11002665>
- [41] ZUIDAM, S.: *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. New York: Springer Science+Business Media, 2010, s. 20-21. ISBN 978-1-4419-1008-0
- [42] LEVI, S., RAC, V., MANOJLOVI, V., RAKI, V., BUGARSKI, B., FLOCK, T., KRZYCZMONIK, K. E., NEDOVI, V.: Limonene encapsulation in alginate/poly (vinyl alcohol). *Procedia Food Science*, 2011, vol. 1, pp. 1816–1820

- [43] THIES, C.: Microencapsulation: what it is and purpose. In: Vilstrup, P. (ed.). Microencapsulation of food ingredients. 1. Surrey: Leathered Publishing LFRA Lim. 2001; 1–30.
- [44] DESAI, K. G-H. and H. JIN PARK. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology* [online]. 2005, 23(7): 1361-1394. ISSN 0737-3937
- [45] BENOIT, J.-P. et al.: Biodegradable Microspheres: Advances in Production Technology. In: Benita, S. (ed.). Microencapsulation: Methods and Industrial Applications. New York: Marcel Dekker Inc. 1996; (35-72)
- [46] ÁLVAREZ, C., PANDO, D. Encapsulation Technologies Applied to Food Processing, *Food Formulation*, 2021, 10.1002 / 9781119614760, (121-145)
- [47] GOUIN, S. Microencapsulation. *Trends in Food Science*. 2004, 15(7-8): 330-347. DOI: 10.1016/j.tifs.2003.10.005.
- [48] MURRAY, R. K. *Harperova Biochemie: a 3-step strategy to cure our most common health problem*. Jinočany: Hudson Street Press, 2002, 142 s. Lange medical book. ISBN 80-731-9013-3
- [49] VOCETKOVÁ, K., A. MÍČKOVÁ, T.JAROŠÍKOVÁ, J. ROSINA, M.HANDL a E. EMLER. Lipozomy, jejich charakterizace, příprava a inkorporace do nanovlákných nosičů. Vocetková | Lékař a technika-Clinician and Technology. [online]. Do-stupné z: <https://ojs.cvut.cz/ojs/index.php/CTJ/article/view/4350/4210>
- [50] D.J. McCLEMENTS, C.E. Gumus Natural emulsifiers - Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance *Adv. Colloid Interface Sci.*, 234 2016, pp. (3-26)
- [51] QAZI, H.J., A. YE, A. ACEVEDO-FANI, H. SINGH, In vitro digestion of curcumin-nanoemulsion-enriched dairy protein matrices: Impact of the type of gel structure on the bioaccessibility of curcumin, *Food Hydrocolloids*, 2021, 106692, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106692>.
- [52] BUREŠOVÁ, R. Enkapsulace vitamínu C. Diplomová práce. FT UTB, Zlín (2018)
- [53] DÜZGÜNES, Edited by Nejat. *Liposomes*. 1st ed. San Diego, CA: Elsevier Academic Press, 2009. ISBN 978-012-3749-697.
- [54] SCHROEDER, A., KOST, J., BARENHOLZ, Y. Ultrasound, Liposomes and Drug Delivery: *Priciples for Using Ultrasound to Control the Release of Drug from Liposomes*. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2009, 162, (1-16)

- [55] BARTOVSKÁ, L. a ŠIŠKOVÁ, M. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. Vyd. 5., Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN 80-7080-579-x.
- [56] LAPČÍK, L. a RAAB, M. Nauka o materiálech II, Učební texty vysokých škol, Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2001, 115 s, ISBN 80-238-6527-7
- [57] AKBARZADEH, Abolfazl et al. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters* [online]. 2013, vol. 8, s. 102. ISSN 1556-276X.
- [58] HWANG, S. Y., H. K. KIM, J. CHOO, G.H. SEONG, T. B. D. HIEN and E.K. LEE. Effects of operating parameters on the efficiency of liposomal encapsulation of enzymes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2012, 94: 296-303. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.02.008
- [59] VLADISAVLJEVIC, G.T., I. and NAKAJIMA, M. Production of uniform droplets using membrane, microchannel and microfluidic emulsification devices. *Microfluid. Nanofluid.* 13, 2012, 151-178
- [60] DE VOS P., M. M. FAAS, M. SPASOJEVIC and J. SIKKEMA. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*. 2010, 20(4): 292-302. DOI: 10.1016/j.idairyj.2009.11.008.
- [61] LIVON LABORATORIES. Method of making liposomes, liposome compositions made by the methods, and methods of using the same. Inventor: Yuanpeng Zhang. US. WO 2012/094033 A1. 12. 07. 2012
- [62] ELOY, Josimar Oliveira, De Souza MARINA CLARO a Raquel PETRILLI. Liposomes as carriers of hydrophilic small molecule drugs: Strategies to enhance encapsulation and delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014, roč. 123, s. 345–363, ISSN 0927-7765. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.09.029
- [63] CHUNG, Cheryl et al. Formulation of food emulsions using natural emulsifiers: Utilization of quillaja saponin and soy lecithin to fabricate liquid coffee whiteners. *Journal of Food Engineering* [online]. 2017, vol. 209, s. 1-11. ISSN 0260-8774.
- [64] KADLEC, P., MELZOCH, K. a M. VOLDŘICH. *Procesy a zařízení v potravinářství a biotechnologiích*. Ostrava: Key Publishing, 2013. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-163-4.
- [65] JOSHY, K. S. et al. Core-shell nanoparticles of carboxy methyl cellulose and compritol-PEG for antiretroviral drug delivery. *Cellulose* [online]. 2017, vol. 24, no. 11, s. 4759-4771. ISSN 0969-0239.

- [66] KOUPANTISIS, T., E. PAVLIDOU a A. PARASKEVOPOULOU. Flavour encapsulation in milk proteins - CMC coacervate-type complexes. *Food Hydro-colloids* [online]. 2014, vol. 37, s. 134-142. ISSN 0268-005X.
- [67] ŠEVČÍKOVÁ, P., KAŠPÁRKOVÁ, V., KREJČÍ, J. a P. VLTAVSKÁ. Dynamický rozptyl světla v analýze koloidních systémů. *Chemické listy* [online]. 2014, vol. 108, iss. 5, s. 479-482. [cit. 2021-04-15]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/common/content-issue_5-volume_108-year_2014.html.
- [68] KVÍTEK Libor a A. PANÁČEK: *Základy koloidní chemie*, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2007
- [69] DELGADO, A. V. et al. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. *Journal of Colloid and Interface Science*[online]. 2007, vol. 309, no. 2, s. 194-224. ISSN 0021-9797.
- [70] MARSANASCO, Marina et al. Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment. *Food Research International* [online]. 2011, vol. 44, no. 9, s. 3039-3046. ISSN 0963-9969.
- [71] CHEMAGAZÍN - *Časopis pro chemicko-technologickou a laboratorní praxi* - CHEMAGAZÍN s.r.o. [online]. Copyright © [cit. 30.04.2021]. Dostupné z: http://www.chemagazin.cz/userdata/chemagazin_2010/file/CHEMAGAZIN_XXI_4_cl3.pdf

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European food safety authority)
ANS	panel pro potravinářská aditiva a nutriční zdroje přidávané do potravin (Food Additives and Nutrient Sources Added to Food)
CDS	Koloidní dodávací systémy (Colloidal delivery systems)
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
GRAS	Všeobecně považováno za bezpečné (Generally Recognized as Safe)
SOD	Superoxid dismutáza (Superoxide dismutase)
AIDS	Syndrom získané imunodeficiencie (Acquired immunodeficiency syndrome)
<i>per os</i>	orálně, podané ústy
COX-2	cyklooxygenáza
LOX	lipoxygenáza
iNOS	inducibilní syntáza oxidu dusnatého
TGF- β	transformující růstový faktor
HDL-C	lipoprotein s vysokou hustotou (high density lipoprotein)
LDL-C	lipoprotein s nízkou hustotou (low density lipoprotein)
DM 2	Diabetes mellitus 2. typu
GIT	Gastrointestinální trakt
μm	mikrometr
<i>in situ</i>	na původním místě, ve své poloze
CMC	karboxymethylcelulóza
DSC	Diferenciální skenovací kalorimetrie
LD	lipozomální disperze
V/O/V	emulze typu voda v oleji ve vodě

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Rostlina <i>Curcuma longa</i> , květ, oddenek, vzorec a prášek kurkuminu [8].....	12
Obrázek 2 Pigmenty kurkumy [9]	13
Obrázek 3 Vliv pH na zabarvení kurkuminu [17]	14
Obrázek 4 Chemická struktura molekuly kurkuminu. Znázorněna je tautomerizace mezi keto a enol formou (červeně) [18]	15
Obrázek 5 Metabolická cesta kurkuminu per os [23]	17
Obrázek 6 Protizánětlivé mechanismy kurkuminu [29].....	19
Obrázek 7 Koloidní systémy pro zapouzdření kurkuminu [51].....	28
Obrázek 8 Vzorek kurkuminu.....	36
Obrázek 9 Vzorek a příprava lecitinu.....	37
Obrázek 10 Příprava roztoku CMC.....	38
Obrázek 11 Příprava vzorků lipozomálních disperzí	39
Obrázek 12 Lipozomální disperze 1.den.....	40
Obrázek 13 Lipozomální disperze 3. den.....	40
Obrázek 14 Lipozomální disperze 5.den.....	41
Obrázek 15 Měření velikosti částic.....	44
Obrázek 16 Závislost smykového napětí (Pa) na smykové rychlosti (s^{-1}) micelárních disperzí.	48
Obrázek 17 Závislost dynamické viskozity (Pa.s) na smykové rychlosti (s^{-1}) micelárních disperzí.....	48
Obrázek 18 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti vzorku lecitinu ve vodě. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.	50
Obrázek 19 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti micelární emulze kurkuminu a lecitinu na přídatku CMC 3 ml. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.	50
Obrázek 20 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti micelární emulze kurkuminu a lecitinu na přídatku CMC 5 ml. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.	51
Obrázek 21 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti micelární emulze kurkuminu a lecitinu na přídatku CMC 1 ml. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.	51
Obrázek 22 Závislost smykového napětí na smykové rychlosti micelární emulze kurkuminu a lecitinu na přídatku CMC 0,5 ml. Vložené údaje: parametry tokové křivky dle Ostwalda-de Walleeho.....	52
Obrázek 23 Přípravné fáze a hodnocení suspenzí	67

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 <i>Metody enkapsulace</i> [44]	26
Tabulka 2 <i>Složení vzorků</i>	35
Tabulka 3 <i>Průměrná velikost částic d [nm] a zeta potenciál ζ [mV]</i>	45
Tabulka 4 <i>Parametry modelu Ostwald-de Waele u micelárních disperzí</i>	47
Tabulka 5 <i>Naměřené hodnoty smykového napětí a zdánlivé viskozity na smykové rychlosti RPM [min^{-1}]</i>	49

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: ANOVA test pro efektivní průměr částic (nm)

One Way Analysis of Variance

úterý, duben 27, 2021, 13:46:43

Data source: Data 1 in anova_zeta_velikost.JNB

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	VZOREK
Row 1	5	0	344.400	2.900	1.297	1
Row 2	5	0	529.300	10.000	4.472	2a
Row 3	5	0	539.100	21.100	9.436	2b
Row 4	5	0	465.600	14.000	6.261	3
Row 5	5	0	432.300	11.000	4.919	4
Row 6	5	0	377.800	2.100	0.939	5
Row 7	5	0	423.600	2.900	1.297	6
Row 8	5	0	412.800	3.800	1.699	7
Row 9	5	0	2392.100	910.600	407.233	8

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	8	17088412.911	2136051.614	23.159	<0.001
Residual	36	3320360.960	92232.249		
Total	44	20408773.871			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = <0.001$).

Power of performed test with $\alpha = 0.050$: 1.000

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
Row 9 vs. Row 1	2047.700	10.661	<0.001	Yes
Row 9 vs. Row 6	2014.300	10.487	<0.001	Yes
Row 9 vs. Row 8	1979.300	10.305	<0.001	Yes
Row 9 vs. Row 7	1968.500	10.249	<0.001	Yes
Row 9 vs. Row 5	1959.800	10.203	<0.001	Yes
Row 9 vs. Row 4	1926.500	10.030	<0.001	Yes
Row 9 vs. Row 2	1862.800	9.698	<0.001	Yes
Row 9 vs. Row 3	1853.000	9.647	<0.001	Yes
Row 3 vs. Row 1	194.700	1.014	1.000	No
Row 2 vs. Row 1	184.900	0.963	1.000	No
Row 3 vs. Row 6	161.300	0.840	1.000	No
Row 2 vs. Row 6	151.500	0.789	1.000	No
Row 3 vs. Row 8	126.300	0.658	1.000	No
Row 4 vs. Row 1	121.200	0.631	1.000	No
Row 2 vs. Row 8	116.500	0.607	1.000	No
Row 3 vs. Row 7	115.500	0.601	1.000	No
Row 3 vs. Row 5	106.800	0.556	1.000	No
Row 2 vs. Row 7	105.700	0.550	1.000	No
Row 2 vs. Row 5	97.000	0.505	1.000	No
Row 5 vs. Row 1	87.900	0.458	1.000	No
Row 4 vs. Row 6	87.800	0.457	1.000	No
Row 7 vs. Row 1	79.200	0.412	1.000	No
Row 3 vs. Row 4	73.500	0.383	1.000	No
Row 8 vs. Row 1	68.400	0.356	1.000	No

Row 2 vs. Row 4	63.700	0.332	1.000	No
Row 5 vs. Row 6	54.500	0.284	1.000	No
Row 4 vs. Row 8	52.800	0.275	1.000	No
Row 7 vs. Row 6	45.800	0.238	1.000	No
Row 4 vs. Row 7	42.000	0.219	1.000	No
Row 8 vs. Row 6	35.000	0.182	1.000	No
Row 6 vs. Row 1	33.400	0.174	1.000	No
Row 4 vs. Row 5	33.300	0.173	1.000	No
Row 5 vs. Row 8	19.500	0.102	1.000	No
Row 7 vs. Row 8	10.800	0.0562	1.000	No
Row 3 vs. Row 2	9.800	0.0510	0.998	No
Row 5 vs. Row 7	8.700	0.0453	0.964	No

Příloha P II: ANOVA test pro zeta potenciál částic (mV)

One Way Analysis of Variance

úterý, duben 27, 2021, 14:04:30

Data source: Data 1 in anova_zeta_velikost.JNB

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	VZOREK
Row 1	5	0	-69.870	1.420	0.635	1
Row 2	5	0	-69.870	1.420	0.635	2a
Row 3	5	0	-69.870	1.420	0.635	2b
Row 4	5	0	-65.670	3.440	1.538	3
Row 5	5	0	-60.890	3.730	1.668	4
Row 6	5	0	-66.940	1.420	0.635	6
Row 7	5	0	-70.130	1.000	0.447	8

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	6	355.220	59.203	11.905	<0.001
Residual	28	139.248	4.973		
Total	34	494.468			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = <0.001$).

Power of performed test with $\alpha = 0.050$: 1.000

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
Row 5 vs. Row 7	9.240	6.551	<0.001	Yes
Row 5 vs. Row 3	8.980	6.367	<0.001	Yes
Row 5 vs. Row 2	8.980	6.367	<0.001	Yes
Row 5 vs. Row 1	8.980	6.367	<0.001	Yes
Row 5 vs. Row 6	6.050	4.290	0.003	Yes
Row 5 vs. Row 4	4.780	3.389	0.033	Yes
Row 4 vs. Row 7	4.460	3.162	0.055	No
Row 4 vs. Row 3	4.200	2.978	0.080	No
Row 4 vs. Row 2	4.200	2.978	0.074	No
Row 4 vs. Row 1	4.200	2.978	0.069	No
Row 6 vs. Row 7	3.190	2.262	0.298	No
Row 6 vs. Row 1	2.930	2.077	0.382	No
Row 6 vs. Row 3	2.930	2.077	0.352	No
Row 6 vs. Row 2	2.930	2.077	0.320	No
Row 4 vs. Row 6	1.270	0.900	0.963	No
Row 1 vs. Row 7	0.260	0.184	1.000	No
Row 2 vs. Row 7	0.260	0.184	1.000	No
Row 3 vs. Row 7	0.260	0.184	1.000	No
Row 1 vs. Row 3	0.000	0.000	1.000	No
Row 1 vs. Row 2	0.000	0.000	1.000	No
Row 2 vs. Row 3	0.000	0.000	1.000	No

Příloha P III:



Obrázek 23 Přípravné fáze a hodnocení suspenzí